

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara yang kaya akan sumber plasma nutfah. Jeruk besar (*Citrus maxima* (Burm.) Merr) merupakan tanaman asli Indonesia. Sebagai negara asli pertumbuhan, Indonesia memiliki banyak varietas jeruk besar komersial meliputi Cikoneng, Magetan, Nambangan, Pangkajene Merah, Pasaman, dan Srinjanya (Agisimanto dan Supriyanto, 2007). Jeruk Besar Cikoneng ST merupakan plasma nutfah khas daerah Sumedang, Jawa Barat.

Perbanyakan Jeruk Besar Cikoneng ST pada umumnya dilakukan dengan cara konvensional. Menurut Janick dan Moore (1995), perbanyakan tanaman jeruk besar selama ini hanya diperbanyak dengan menggunakan biji, cangkok, dan okulasi. Bibit yang berasal dari biji atau generatif mempunyai beberapa kekurangan diantaranya, sifat tidak selalu sama dengan induknya, masa berbuahnya lebih lama, dan sifat-sifat tanaman baru diketahui setelah besar, sedangkan bibit cangkokan tidak bisa diperoleh dalam jumlah banyak dan perakaran dangkal sehingga mudah roboh untuk daerah berangin keras. Bibit okulasi memberikan keuntungan yang lebih daripada kedua cara perbanyakan di atas, namun seringkali batang atas tidak sesuai dengan batang bawah, sehingga proses pengangkutan air dan hara dari dalam tanah sering terhambat.

Teknik *in vitro* merupakan cara yang baik untuk perbanyak tanaman, perbaikan kualitas tanaman, dan biokonservasi (Nurwahyuni, 2013). Menurut Gamborg dan Shyluk (1981) serta Pierik (1987) dalam Suminar *et al.* (2007), keberhasilan kultur *in vitro* dipengaruhi oleh zat pengatur tumbuh (ZPT) tanaman, nutrisi, dan sumber eksplan yang digunakan serta lingkungan fisik kultur jaringan. Ketiga hal tersebut akan mempengaruhi proses regenerasi pada eksplan.

ZPT pada tanaman adalah senyawa organik bukan hara yang dalam jumlah sedikit dapat mendukung (*promote*), menghambat, dan merubah proses fisiologi tumbuhan (Abidin, 1995). Salah satu ZPT yang sering digunakan dalam kultur *in vitro* adalah asam 2,4-Dichlorophenoxy Acetic Acid (2,4-D). Menurut Hendarjono dan Wijayani (1994), 2,4-D merupakan jenis ZPT auksin yang bersifat stabil karena tahan dari kerusakan akibat cahaya dan pemanasan pada saat sterilisasi. Menurut Rahayu *et al.* (2003), penambahan 2,4-D pada media kultur mampu merangsang pembelahan dan pembesaran sel juga dapat memicu pembentukan dan pertumbuhan kalus. Pertumbuhan kalus yang dipicu oleh 2,4-D juga mampu meningkatkan senyawa kimia alami flavonoid.

Flavonoid merupakan zat metabolit sekunder yang menjadi ciri khas dari suatu tanaman. Fenol merupakan salah satu jenis flavonoid yang mendominasi organ tanaman jeruk. Penumpukan fenol dalam suatu proses kultur akan menyebabkan pencoklatan (*browning*) pada eksplan. *Browning* pada eksplan akan menghambat proses pertumbuhan dan menyebabkan eksplan mengalami kematian. Menurut Roostika *et al.* (2015), akumulasi fenol dapat ditekan dengan menambahkan *Polyvinyl Pyrrolidone* (PVP) pada media kultur.

Setiap eksplan memiliki kadar flavonoid yang berbeda. Penggunaan pucuk daun sebagai eksplan juga perlu dikaji kembali mengingat kemungkinan tingginya kadar flavonoid pada jaringan muda yang dapat memperbesar persentase *browning*. Meski demikian, pucuk daun merupakan jenis eksplan yang potensial. Daun memiliki fase tumbuh meliputi fase pucuk dan fase daun dewasa. Pucuk daun merupakan organ tanaman muda dengan jaringan meristem yang masih aktif membelah. Menurut Yusnita (2003) penggunaan eksplan dengan sifat meristematik dapat memicu keberhasilan kultur. Jaringan tanaman muda memiliki daya regenerasi lebih tinggi, sel yang masih aktif membelah, dan relatif bersih.

Penggunaan daun dalam kultur *in vitro* juga berhubungan dengan ketersediaan stomata. Menurut Hariyanti (2010), distribusi stomata pada daun berhubungan dengan kecepatan dan intensitas transpirasi daun. Semakin banyak pori pada daun maka akan semakin memicu proses penguapan. Distribusi stomata pada daun dipengaruhi oleh posisi daun meliputi daun bagian atas (adaksial) dan daun bagian bawah (abaksial). Penggunaan berbagai posisi penanaman daun sebagai eksplan perlu dilakukan untuk mendapatkan hasil pertumbuhan terbaik.

Posisi penanaman eksplan terbaik akan mempengaruhi hasil dari pertumbuhan kalus. Kalus merupakan kumpulan sel yang berkembang dari hasil pertumbuhan eksplan dan termasuk dalam fase embriogenesis. Menurut Blanc *et al.* (1999) fase embriogenesis menjadi teknik yang menguntungkan untuk memperbanyak spesies. Pertumbuhan kalus diawali dari tahap inisiasi dimana eksplan secara bertahap akan mengalami perubahan morfologi menjadi kumpulan sel yang aktif membelah.

Perbanyak bibit Jeruk Besar Cikoneng ST dengan teknik kultur jaringan hingga saat ini belum memiliki persentase keberhasilan yang cukup. Penyebab utama dari hal ini dimungkinkan dari kurangnya kecocokan terhadap bagian eksplan, jenis media, dan konsentrasi ZPT yang digunakan. Salah satu cara untuk menanggulangi hal tersebut, yaitu dengan melakukan perbandingan penelitian terhadap jenis jeruk lainnya.

Jeruk manis (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) merupakan jenis jeruk yang telah banyak digunakan sebagai eksplan jeruk potensial. Penelitian ini merupakan penelitian lintas spesies antara Jeruk Besar Cikoneng ST dengan Jeruk Manis. Penggunaan jeruk manis sebagai eksplan pembanding diharapkan mampu memberikan hasil untuk mengetahui efektivitas penggunaan eksplan dan posisi penanaman eksplan yang berbeda

Penelitian terhadap Jeruk Besar Cikoneng ST di Universitas Islam Negeri (UIN) Sunan Gunung Djati Bandung telah dilakukan oleh Wartika (2015) dan Maharani (2016). Menurut Maharani (2016), media MS yang dikombinasikan dengan 2,4-D 2 mg L^{-1} mampu menginduksi kalus eksplan daun Jeruk Besar Cikoneng ST asal perbanyak konvensional, namun induksi kalus tersebut masih memiliki kendala terhadap aktivitas *browning* dan pertumbuhan kalus.

Berdasarkan hal tersebut, diperlukan penelitian lanjutan terhadap jenis eksplan dengan umur yang berbeda dan berbagai posisi penanaman eksplan untuk memicu pertumbuhan kalus. Penggunaan pucuk daun dan daun dewasa serta posisi penanaman adaksial dan abaksial diharapkan mampu memicu pertumbuhan kalus terbaik pada eksplan Jeruk Besar Cikoneng ST dan Jeruk Manis.

1.2 Rumusan Masalah

- 1) Eksplan pada umur manakah yang memberikan respon tercepat terhadap pertumbuhan kalus Jeruk Besar Cikoneng ST dan Jeruk Manis secara *in vitro*.
- 2) Posisi penanaman eksplan manakah yang memberikan pengaruh terbaik terhadap pertumbuhan kalus Jeruk Besar Cikoneng ST dan Jeruk Manis secara *in vitro*.

1.3 Tujuan Penelitian

- 1) Mengetahui eksplan yang memberikan respon tercepat terhadap pertumbuhan kalus Jeruk Besar Cikoneng ST dan Jeruk Manis secara *in vitro*.
- 2) Memperoleh posisi penanaman eksplan yang memberikan pengaruh terbaik terhadap pertumbuhan kalus Jeruk Besar Cikoneng ST dan Jeruk Manis secara *in vitro*.

1.4 Kegunaan Penelitian

- 1) Mengetahui waktu tumbuh kalus tercepat dari eksplan pucuk daun dan daun dewasa sehingga dapat menambah referensi bagi para peneliti lain di tahap penelitian selanjutnya.
- 2) Memberikan informasi mengenai posisi penanaman eksplan terbaik terhadap pertumbuhan kalus Jeruk Besar Cikoneng ST dan Jeruk Manis secara *in vitro*, sehingga dapat dimanfaatkan dalam upaya perbanyakan tanaman dengan cara pengujian yang paling efektif.

1.5 Kerangka Pemikiran

Penurunan kualitas Jeruk Besar Cikoneng ST akibat letusan Gunung Galunggung dan penyakit CPVD mengharuskan diadakannya penelitian intensif untuk meningkatkan kualitas tanaman dan mencegah kepunahan spesies. Budidaya Jeruk Besar Cikoneng ST secara konvensional dianggap tidak lagi menjadi solusi perbanyakan yang tepat.

Kultur *in vitro* merupakan suatu metode perbanyakan tanaman non konvensional yang dapat diaplikasikan pada tanaman jeruk. Teknik perbanyakan tanaman jeruk secara *in vitro* telah banyak dilakukan namun, data penelitian terhadap Jeruk Besar Cikoneng ST masih terbatas. Penggunaan media, eksplan, dan kombinasi ZPT yang tepat diharapkan mampu memberikan hasil positif terhadap perbanyakan Jeruk Besar Cikoneng ST secara *in vitro*.

Pemuliaan non konvensional berfokus pada kemampuan sel dan jaringan tanaman untuk tumbuh dan berkembang menjadi tanaman lengkap. Pertumbuhan tersebut terjadi melalui regenerasi langsung dari eksplan, maupun regenerasi tidak langsung melalui kalus (Kihhundu *et al.*, 2012). Perbanyakan tanaman jeruk melalui regenerasi dilakukan dengan memilih media, ZPT dan eksplan yang tepat.

Media MS (Murashige dan Skoog) merupakan media dasar yang paling banyak digunakan dan mengandung jumlah hara organik yang layak untuk memenuhi kebutuhan banyak jenis sel tanaman (Gunawan, 1987). Menurut Rahayu *et al.* (2003), penggunaan 2,4-D yang efektif memicu proses dediferensiasi sel, menekan organogenesis, serta menjaga pertumbuhan kalus juga dapat digunakan untuk meningkatkan pertumbuhan kalus dalam kultur *in vitro*.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Nurwahyuni (2013), pertumbuhan kalus dari eksplan pucuk daun Jeruk Keprok Brastagi asal perbanyakan konvensional dengan penambahan 2,4-D $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ mampu menghasilkan kalus hampir menutupi semua permukaan eksplan. Penelitian tersebut menunjukkan bahwa penggunaan auksin jenis 2,4-D dapat memicu induksi kalus. Pemberian 2,4-D pada media kultur dengan konsentrasi yang tepat juga mampu mempercepat proses pembentukan kalus. Hal ini sesuai dengan pernyataan Sugiyarto dan Kuswandi (2014) yang menunjukkan bahwa waktu inisiasi pembentukan kalus daun binahong pada media 2,4-D 1 ppm dan 2 ppm relatif lebih cepat yaitu 3 dan 5 hari setelah inisiasi (HSI).

Pembentukan kalus pada media kultur tidak terlepas dari permasalahan *browning*. *Browning* merupakan respon eksplan yang muncul akibat tingginya aktivitas fenol. Penelitian yang dilakukan oleh George dan Sherrington (1984) menunjukkan bahwa tanaman tropika memiliki kandungan senyawa fenol yang tinggi dan akan teroksidasi ketika sel mengalami pelukaan. Aktivitas fenol mampu menghambat ekstraksi enzim dalam kultur jaringan. Penggunaan senyawa kimia untuk menekan reaksi fenolitik dapat menjadi solusi. Senyawa protein, amida, dan poliamida dianggap mampu menekan reaksi fenolitik.

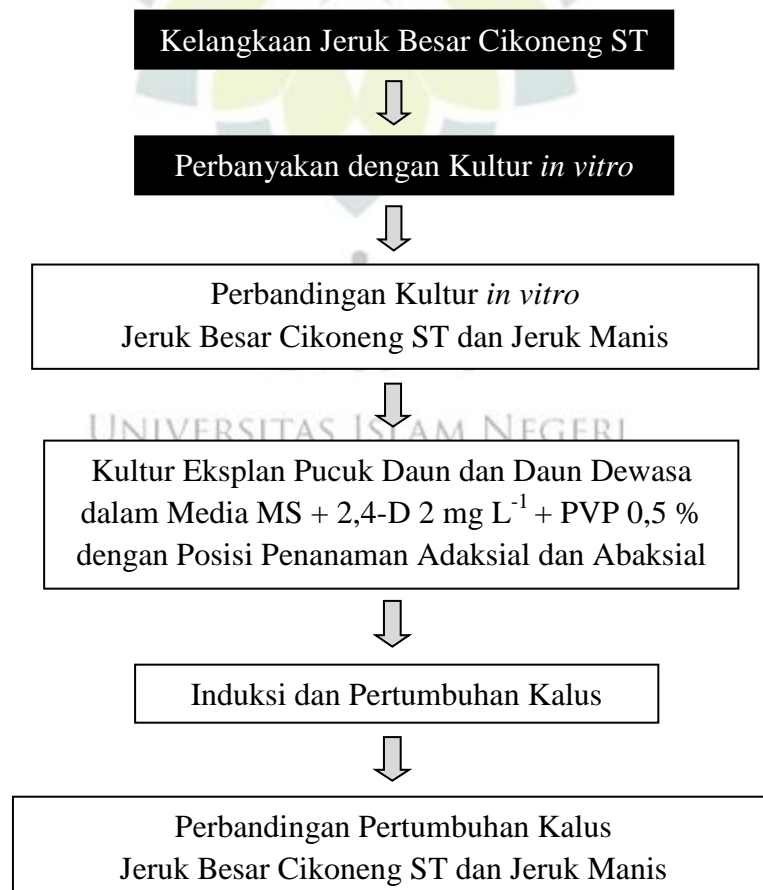
Senyawa poliamida yang umum digunakan dalam kultur *in vitro* tanaman berkayu adalah PVP. Bhatt dan Dhar (2004) menyatakan bahwa PVP mampu mengabsorpsi fenol melalui ikatan hidrogen. Konsentrasi PVP sebanyak 0,5 % diketahui mampu menghambat *browning* melalui penurunan akumulasi peroksidase pada kultur *in vitro* tanaman lasang (*Myrica esculenta*).

Tingkat fenol yang dikandung di dalam tanaman dipengaruhi oleh bagian eksplan. Penggunaan eksplan dari jaringan muda tanaman lebih sering berhasil karena sel-selnya masih aktif membelah (Wulandari *et al.*, 2004). Gunawan (1995), menyatakan bahwa, pucuk, batang muda, daun dewasa, kotiledon, dan hipokotil dapat digunakan sebagai eksplan. Hal ini sesuai dengan penelitian Nurwahyuni (2013), bahwa eksplan pucuk muda Jeruk Keprok Brastagi asal perbanyakan konvensional dapat terinduksi menjadi kalus pada minggu pertama. Penelitian Maharani (2016), juga menunjukkan bahwa eksplan pucuk daun Jeruk Besar Cikoneng ST asal perbanyakan konvensional dapat terinduksi menjadi kalus pada minggu pertama.

Penggunaan daun sebagai eksplan diketahui dapat memicu pertumbuhan *in vitro* yang baik. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Berthouly dan Etienne (1999) yang menunjukkan bahwa meskipun berbagai organ dan jaringan tanaman kopi dapat digunakan sebagai sumber eksplan untuk induksi kalus embriogenik, namun daun muda lebih efektif dibandingkan dengan jaringan somatik lainnya. Bagian tanaman meliputi daun dewasa dan pucuk daun juga dapat diujicobakan dalam kultur *in vitro* tanaman jeruk.

Menurut Gunawan (1995) kemampuan morfogenesis berhubungan dengan tempat sel yang kompeten. Pengaplikasian posisi penanaman eksplan yang berbeda meliputi posisi daun adaksial dan abaksial merupakan metode yang dapat dilakukan. Penelitian yang dilakukan oleh Suyitno (2012) menunjukkan bahwa daun abaksial memiliki jumlah stomata berbeda dengan daun adaksial. Jumlah stomata mampu menjadi indikator terhadap respon pertumbuhan kalus terbaik.

Penelitian-penelitian di atas memberikan acuan bahwa penambahan 2,4-D dan PVP, penggunaan berbagai bagian tanaman, dan posisi penanaman eksplan yang berbeda dapat memicu pertumbuhan kalus tanaman jeruk terbaik. Berdasarkan uraian tersebut, maka pada penelitian ini akan dilakukan uji pengaruh penambahan 2,4-D 2 mg L⁻¹ dan PVP 0,5 % pada media kultur, penggunaan pucuk daun dan daun dewasa sebagai bagian tanaman, dan posisi penanaman eksplan yang berbeda (abaksial dan adaksial) pada kalus Jeruk Besar Cikoneng ST dan Jeruk Manis yang ditampilkan pada bagan Kerangka Berfikir (Gambar 1).



Gambar 1 Bagan Kerangka Berfikir

1.6 Hipotesis

Berdasarkan kerangka pemikiran di atas, maka hipotesis yang dapat dikemukakan adalah:

- 1) Terdapat pengaruh dari umur eksplan yang memberikan respon tercepat terhadap pertumbuhan kalus Jeruk Besar Cikoneng ST dan Jeruk Manis secara *in vitro*.
- 2) Terdapat pengaruh dari posisi penanaman yang memberikan pengaruh terbaik terhadap pertumbuhan kalus Jeruk Besar Cikoneng ST dan Jeruk Manis secara *in vitro*.

