

Pertumbuhan *In Vitro* Biji Jeruk Siam Pontianak (*Citrus nobilis* var. *microcarpa*) dengan Penambahan Ekstrak Jagung dan NAA pada Media MS

Felia Mulia Sari¹, Siti Ifadatin², Mukarlina^{3✉}

^{1,2,3} Prodi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Tanjungpura, Indonesia

Informasi Artikel

Riwayat Artikel

Diserahkan : 16-12-2023

Direvisi : 02-01-2024

Diterima : 06-01-2024

Kata Kunci:

Biji jeruk siam Pontianak,
Ekstrak jagung, *Naphthaleine*
Acetic Acid (NAA),
Poliembrioni

Keywords :

Pontianak Siamese orange
seeds, *Corn extract*,
Naphthaleine Acetic Acid
(NAA), *Polyembryony*

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan ekstrak jagung dan NAA untuk menghasilkan pertumbuhan terbaik pada kultur *in vitro* biji jeruk siam Pontianak. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial dengan dua faktor. Faktor pertama, ekstrak jagung (J) dengan 4 taraf konsentrasi 0% (J0); 7,5% (J1); 10% (J2) dan 12,5% (J3). Faktor kedua, NAA (N) dengan 4 taraf konsentrasi 0 M (N0); 10^{-7} M (N1); 5.10^{-7} M (N2) dan 10^{-6} M (N3). Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak jagung dan NAA mampu meningkatkan perkecambahan dengan persentase 100% dan jumlah akar terbanyak yakni sebanyak 6 akar; mempercepat waktu muncul kecambah dan waktu muncul tunas yakni 9,33 dan 13,33 hari. Penambahan NAA tunggal mampu meningkatkan jumlah tunas dan jumlah daun pada tunas dari biji poliembrioni pada kultur biji jeruk siam Pontianak yakni 3,33 tunas dan 2,16 helai daun.

ABSTRACT

This research aims to determine the effect of adding corn extract and NAA to produce the best growth in vitro culture of Pontianak Siamese orange seeds. This study used completely randomized factorial design with two factors. The first factor, corn extract (J) with 4 concentration levels, 0% (J0); 7,5% (J1); 10% (J2) and 12,5% (J3). The second factor, NAA (N) with 4 concentration levels 0 M (N0); 10^{-7} M (N1); 5.10^{-7} M (N2) and 10^{-6} M (N3). The research results showed that the combination of corn extract and NAA was able to increase germination with a percentage of 100% and the highest number of roots, namely 6 roots; speed up the time for sprouts to appear and the time for shoots to appear, namely 9,33 and 13,33 days. The addition of a single NAA was able to increase the number of shoots and the number of leaves on shoots from polyembryonic seeds in the Pontianak Siamese orange seed culture, namely 3,33 shoots and 2,16 leaves.

Corresponding Author :

Mukarlina

Prodi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Tanjungpura, Indonesia
Jl. Prof. Dr. H. Hadari Nawawi, Pontianak 78124

Email: mukarlina@fmipa.untan.ac.id

PENDAHULUAN

Jeruk siam Pontianak (*Citrus nobilis* var. *microcarpa*) dikenal sebagai salah satu komoditi unggulan Kalimantan Barat. Jeruk ini pertama kali dikembangkan dari daerah Tebas dan Pemangkat, Kabupaten Sambas (Sarwono, 1994). Menurut Aryanti (2017), buah jeruk siam

Pontianak memiliki karakteristik kulit buah yang tipis, berwarna hijau kekuningan mengkilap, memiliki rasa yang manis, mengandung vitamin C, vitamin A, protein, karbohidrat, glukosa, serat, lemak, dan kandungan lainnya seperti antioksidan yang juga bermanfaat untuk kesehatan. Tanaman jeruk siam umumnya diperbanyak secara vegetatif.

Perbanyakan tanaman jeruk siam Pontianak yang dilakukan umumnya secara vegetatif konvensional yaitu dengan metode okulasi sisip, sambung pucuk, stek, dan cangkok. Metode ini terdapat banyak kekurangan yakni sulit mendapatkan bibit yang seragam dalam jumlah banyak, jumlah tanaman induk yang baik sedikit dan tidak dapat dilakukan setiap waktu (Sariningtias *et al.*, 2014). Perbanyakan tanaman dapat dilakukan secara *in vitro* melalui teknik kultur jaringan yang memiliki beberapa kelebihan diantaranya menghasilkan tanaman dalam jumlah yang lebih banyak, memiliki umur dan sifat genetik yang seragam (berasal dari embrio somatik), bebas dari penyakit, proses perbanyakannya tidak memerlukan tempat yang luas, serta dapat dilakukan kapan saja karena tidak terpengaruh dengan musim (Sandra, 2013).

Beberapa penelitian perbanyakan tanaman jeruk secara *in vitro* ada yang menggunakan tunas pucuk, daun, biji dan epikotil sebagai eksplan. Perbanyakan menggunakan biji secara *in vitro* memiliki keunggulan diantaranya menghasilkan bibit dengan sifat genetik seragam (berasal dari embrio somatik) dan bebas penyakit. Jeruk memiliki sifat poliembrioni, yaitu terdapat lebih dari satu embrio dalam satu biji. Poliembrioni dapat terjadi karena adanya pemecahan zigot, perkembangan satu atau lebih sinergid, terdapat lebih dari satu kantung embrio per nukleus, dan variasi bentuk apogami dan embriodventif (Andrini *et al.*, 2013).

Dua jenis embrio pada tanaman yakni tunas monoembrioni berasal dari embrio zigotik, sedangkan tunas poliembrioni berasal dari embrio somatik. Embrio zigotik berasal dari hasil pertemuan antara sel kelamin jantan (gamet) dan betina, sedangkan embrio somatik berasal dari sel somatik (Hapsoro dan Yunita, 2022). Proses pembentukan biji poliembrioni pada jeruk dapat dilihat pada embrio nuselar non zigotik yang muncul dari sel induk. Sel-sel embrionik nuselar akan masuk menuju endosperm dan berkembang menjadi embrio selama proses perkembangan kantung embrio (Wahyudhi, 2020).

Pertumbuhan secara *in vitro* memerlukan zat pengatur tumbuh (zpt) yang berasal dari bahan organik maupun sintetik untuk memacu proses pertumbuhan. Salah satu sumber zpt yang berasal dari bahan organik yang dapat digunakan dalam kultur *in vitro* yaitu ekstrak biji jagung. Ekstrak biji jagung mengandung senyawa auksin 1,67 ppm, giberelin 41,23 ppm, dan zeatin 53,94 ppm. Ekstrak biji jagung kaya akan zeatin yaitu zpt golongan sitokinin (Pagalla *et al.*, 2015). Penggunaan zpt pada media kultur dapat berupa kombinasi yang terdiri dari bahan organik dengan zpt sintetik. Menurut Gunawan (1992), auksin berfungsi dalam memperpanjang sel-sel tanaman dan merangsang pertumbuhan akar. Sitokinin dapat merangsang sel-sel meristem pada eksplan untuk membelah dan morfogenesis, serta auksin meningkatkan induksi dan perkembangan akar pada perkecambahan biji duku (Rana *et al.*, 2019).

Hasil penelitian Corina *et al.* (2014) pada kultur biji jeruk siam memperlihatkan bahwa perlakuan tunggal ekstrak taoge 10% berpengaruh nyata terhadap jumlah planlet poliembrioni dan menghasilkan jumlah planlet terbanyak yaitu 3,50 planlet. Menurut Hapsoro dan Yunita (2022) dalam kultur *in vitro*, embrio somatik pada tanaman membutuhkan tambahan zpt auksin dan sitokinin pada proses embriogenesis. Hasil penelitian Maida (2020), menunjukkan bahwa pemberian ekstrak jagung dapat mempercepat munculnya dan menambah jumlah akar pada pertumbuhan anggrek *Cattleya*.

Penelitian tentang pertumbuhan *in vitro* biji jeruk siam Pontianak dengan penambahan ekstrak jagung yang mengandung zeatin dan NAA belum ada. Informasi ini sangat diperlukan pada perbanyakan jeruk siam terutama untuk menghasilkan bibit unggul yang dihasilkan dari biji poliembrioni, sehingga penelitian ini perlu dilakukan. Berdasarkan hal tersebut, maka tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh penambahan ekstrak jagung dan

NAA terhadap pertumbuhan biji poliembryoni jeruk siam Pontianak secara *in vitro*.

METODE PENELITIAN

Waktu Dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan selama 5 bulan yaitu dari bulan Agustus - Desember 2022. Penelitian dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Tanjungpura Pontianak.

Rancangan Penelitian

Rancangan yang digunakan pada penelitian ini yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial menunaskan dua faktor. Faktor 1 yakni ekstrak jagung (J) dan faktor 2 adalah NAA (N). Terdapat 4 taraf konsentrasi ekstrak jagung: 0% (J0); 7,5% (J1); 10% (J2); dan 12,5% (J3). Terdapat 4 taraf konsentrasi NAA: 0 M (N0); 10^{-7} M (N1); 5.10^{-7} M (N2); dan 10^{-6} M (N3) (Widasari *et al.*, 2021). Kedua faktor dikombinasikan dan diulang sebanyak tiga kali, sehingga diperoleh 48 unit percobaan.

Persiapan dan Sterilisasi Alat

Alat-alat seperti botol kultur, cawan petri, pinset dan pisau skalpel dicuci bersih di air mengalir dan dikeringkan. Alat-alat tersebut dibungkus dengan kertas dan plastik wayang kecuali botol kultur kemudian dimasukkan ke dalam autoklaf untuk disterilisasi selama 30 menit pada suhu 121°C dan tekanan 2 atm.

Pembuatan Larutan Stok Hara

Pembuatan larutan stok hara yakni dilakukan dengan menimbang bahan-bahan kimia makronutrient, mikronutrient, dan vitamin sesuai dengan komposisi media, kemudian bahan tersebut dilarutkan dengan akuades. Larutan tersebut diaduk hingga tercampur merata dan dimasukkan ke dalam botol stok yang telah dilabeli dan disimpan dalam lemari pendingin (Widasari *et al.*, 2021).

Pembuatan Stok NAA

Larutan stok NAA yang digunakan dalam penelitian ini dibuat dalam konsentrasi 10^{-3} M sebanyak 100 ml. Tahap pertama ditimbang sebanyak 0,01862 g NAA yang dimasukkan ke dalam gelas beker 100 ml berisi akuades steril 70 ml. Larutan diaduk sambil ditetaskan sebanyak 3 tetes larutan NaOH dan ditambahkan akuades steril hingga volume 100 ml. Larutan yang telah tercampur selanjutnya dimasukkan ke dalam botol stok yang telah dilabeli dan disimpan dalam lemari pendingin. Larutan NAA selanjutnya dibuat sesuai konsentrasi perlakuan yang digunakan (Widasari *et al.*, 2021).

Pembuatan Ekstrak Jagung

Pembuatan ekstrak jagung menggunakan jagung muda dengan cara jagung dibersihkan dari kulit dan rambutnya. Jagung dicuci bersih dengan air mengalir, kemudian diambil bagian bijinya sebanyak 500 g. Biji jagung dihaluskan dengan blender serta disaring hingga diperoleh ekstrak jagung 100% (Widasari *et al.*, 2021).

Pembuatan dan Sterilisasi Media MS

Tahap pertama proses pembuatan media yaitu dengan melarutkan 30 g gula pasir ke dalam gelas beker 500 ml dan dilarutkan dengan 300 ml akuades menggunakan *magnetic stirrer* hingga larut. Larutan stok hara makronutrient, mikronutrient, dan vitamin dimasukkan ke dalam gelas beker yang berisi larutan gula. Agar-agar dimasukkan ke dalam gelas beker dan dilarutkan dengan akuades 300 ml, lalu dipanaskan hingga mendidih. Campuran larutan gula dengan stok hara, dan larutan agar-agar ditepatkan dengan akuades hingga volume 800 ml. Media selanjutnya dibagi menjadi 4 bagian sebanyak 200 ml. Media dibagi menjadi 4 bagian dengan volume masing-masing 200 ml. Media ditambahkan ekstrak jagung dan NAA sesuai perlakuan dan ditepatkan hingga volume 250 ml dengan penambahan akuades. pH larutan diukur hingga 5-6, jika pH diatas 5-6 dapat ditambahkan dengan HCl dan jika pH kurang dari 5-6 dapat ditambahkan NaOH. Media yang sudah siap dimasukkan ke dalam botol kultur

untuk selanjutnya disterilisasi menggunakan autoklaf selama 20 menit pada suhu 121°C dan tekanan 2 atm (Widasari *et al.*, 2021).

Sterilisasi Eksplan dan Penanaman

Eksplan biji diambil dari buah jeruk yang sudah matang dan dalam kondisi baik. Langkah pertama, buah jeruk dicuci bersih menggunakan sabun dibawah air mengalir selama 30 menit. Buah jeruk selanjutnya direndam dalam alkohol 70% dan dilewatkan di api bunsen sebanyak tiga kali ulangan. Bagian daging buah kemudian dibelah menggunakan skalpel dan diambil bijinya menggunakan pinset. Biji dipilih yang berukuran cukup besar dan kondisinya baik, kemudian biji dimasukkan ke dalam botol kultur. Tiap botol kultur berisi masing-masing 1 biji jeruk.

Pemeliharaan Kultur

Botol kultur yang telah ditanami eksplan biji buah jeruk ditutup rapat dan diberi label sesuai dengan konsentrasi perlakuan. Pemeliharaan kultur dilakukan selama 8 minggu, dengan dilakukan subkultur setiap 4 minggu pada media baru dengan komposisi perlakuan media yang sama.

Parameter Pengamatan

Parameter yang diamati dalam penelitian ini yaitu persentase perkecambahan, waktu muncul kecambah, waktu muncul tunas, persentase biji poliembrioni, jumlah tunas dari biji poliembrioni, jumlah daun pada tunas dari biji poliembrioni, dan jumlah akar.

Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil penelitian yaitu data persentase perkecambahan, waktu muncul kecambah, waktu muncul tunas, persentase biji poliembrioni, jumlah tunas dari biji poliembrioni, jumlah daun serta jumlah akar dihitung menggunakan nilai rata-rata dan dianalisis secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil pengamatan terhadap persentase perkecambahan biji jeruk siam Pontianak selama 28 hari menunjukkan bahwa perlakuan tunggal maupun kombinasi ekstrak jagung dan NAA menghasilkan pertumbuhan 100% untuk persentase perkecambahan (Tabel 1). Hasil ini menunjukkan dugaan bahwa interaksi antara zpt endogen dengan zpt yang terkandung dalam semua konsentrasi perlakuan ekstrak jagung dan NAA yang diberikan dapat memacu proses perkecambahan pada biji jeruk siam Pontianak. Hasil ini sesuai dengan pernyataan Tuhuteru *et al.* (2012) bahwa interaksi zpt endogen dengan zpt eksogen dalam konsentrasi dengan perimbangan yang tepat dapat memacu pertumbuhan dan meningkatkan perkembangan biji.

Tabel 1. Persentase perkecambahan (%) biji jeruk siam Pontianak dengan penambahan ekstrak jagung dan NAA pada media MS umur 28 hari.

NAA (M)	Ekstrak Jagung (%)			
	0 (J0)	7,5 (J1)	10 (J2)	12,5 (J3)
0 (N0)	100 ± 0,00	100 ± 0,00	100 ± 0,00	100 ± 0,00
10 ⁻⁷ (N1)	100 ± 0,00	100 ± 0,00	100 ± 0,00	100 ± 0,00
5.10 ⁻⁷ (N2)	100 ± 0,00	100 ± 0,00	100 ± 0,00	100 ± 0,00
10 ⁻⁶ (N3)	100 ± 0,00	100 ± 0,00	100 ± 0,00	100 ± 0,00

Waktu muncul kecambah dan waktu muncul tunas berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan 12,5% ekstrak jagung + 10⁻⁶M NAA (J3N3) merupakan perlakuan terbaik yakni 9,33 dan 13,33 hari (Tabel 2 dan Tabel 3). Perlakuan dengan penambahan ekstrak jagung dan NAA dalam konsentrasi tinggi mampu menghasilkan

pertumbuhan tercepat untuk waktu muncul kecambah dan waktu muncul tunas jeruk siam. Hasil ini menunjukkan dugaan bahwa zpt dalam ekstrak jagung 12,5% dikombinasikan dengan NAA konsentrasi 10^{-6} M bersama-sama dengan zpt endogen biji jeruk siam mampu mempercepat pembelahan dan pembesaran sel pada meristem apikal embrio biji jeruk siam. Gardner *et al.* (1991) menyatakan aktivitas zpt giberelin dalam biji dapat dipacu dengan adanya perlakuan penambahan zpt auksin dan giberelin yang tinggi, sehingga akan memperpendek masa dormansi biji. Lestari *et al.* (2011) menambahkan bahwa rasio yang tepat dalam penambahan zpt eksogen untuk dapat memacu dan meningkatkan perkembangan biji berbeda tergantung pada jenis biji yang digunakan.

Tabel 2. Rerata waktu muncul kecambah (hari) biji jeruk siam dengan penambahan ekstrak jagung dan NAA pada media MS umur 28 hari.

NAA (M)	Ekstrak Jagung (%)			
	0 (J0)	7,5 (J1)	10 (J2)	12,5 (J3)
0 (N0)	21,00 ± 7,00	25,66 ± 4,04	25,66 ± 4,04	23,33 ± 8,08
10^{-7} (N1)	25,66 ± 4,04	18,66 ± 8,08	21,00 ± 0,00	21,00 ± 7,00
5.10^{-7} (N2)	14,00 ± 7,00	21,00 ± 0,00	23,33 ± 4,04	25,66 ± 4,04
10^{-6} (N3)	18,66 ± 4,04	25,66 ± 4,04	21,00 ± 7,00	9,33 ± 4,04

Waktu muncul tunas jeruk tercepat pada pengamatan hari ke-28 diperoleh pada perlakuan 12,5% ekstrak jagung + 10^{-6} M NAA (J3N3) yaitu 13,33 hari (Tabel 3).

Tabel 3. Rerata waktu muncul tunas (hari) biji jeruk siam Pontianak dengan penambahan ekstrak jagung dan NAA pada media MS umur 28 hari.

NAA (M)	Ekstrak Jagung (%)			
	0 (J0)	7,5 (J1)	10 (J2)	12,5 (J3)
0 (N0)	24,33 ± 5,50	27,67 ± 0,57	26,33 ± 2,88	24,67 ± 5,77
10^{-7} (N1)	26,67 ± 2,30	23,33 ± 4,16	26,00 ± 2,00	24,67 ± 6,11
5.10^{-7} (N2)	20,33 ± 9,81	22,00 ± 4,00	26,00 ± 2,64	27,67 ± 0,57
10^{-6} (N3)	22,67 ± 0,57	28,00 ± 0,00	25,67 ± 4,04	13,33 ± 8,38

Perlakuan 12,5% ekstrak jagung + 10^{-6} M NAA (J3N3) memberikan perlakuan tercepat pada waktu muncul tunas (Gambar 1).



Gambar 1. Tanaman jeruk siam Pontianak pada perlakuan 12,5% ekstrak jagung + 10^{-6} M NAA (J3N3) hari ke 28: a. Tunas dari biji poliembryoni

Biji yang digunakan pada penelitian ini terdiri dari biji monoembryoni dan poliembryoni. Persentase biji poliembryoni 100% terdapat pada perlakuan 0% ekstrak jagung + 0M NAA (J0N0); 0% ekstrak jagung + 10^{-7} M NAA (J0N1); 0% ekstrak jagung + 5.10^{-7} M NAA (J0N2); 7,5% ekstrak jagung + 5.10^{-7} M NAA (J1N2); 7,5% ekstrak jagung + 10^{-6} M NAA (J1N3); 10% ekstrak jagung + 0M NAA (J2N0); 10% ekstrak jagung + 5.10^{-7} M NAA (J2N2)

dan 10% ekstrak jagung + 10^{-6} M NAA (J2N3) (Tabel 4). Biji poliembrioni menunjukkan bertambahnya jumlah tunas, sedangkan biji monoembrioni hanya memiliki satu tunas pada akhir pengamatan. Jeruk siam Pontianak yang memiliki biji poliembrioni mampu menghasilkan lebih banyak tunas yang berasal dari embrio somatik (integumen dan nuselus). Subantoro dan Prabowo (2012) menyatakan bahwa sifat poliembrioni pada jeruk disebabkan karena faktor genetik tanaman.

Tabel 4. Persentase biji poliembrioni (%) jeruk siam Pontianak dengan penambahan ekstrak jagung dan Naphthalene Acetic Acid (NAA) pada media MS umur 56 hari.

NAA (M)	Ekstrak Jagung (%)			
	0 (J0)	7,5 (J1)	10 (J2)	12,5 (J3)
0 (N0)	100 ± 0,00	66,67 ± 57,73	100 ± 0,00	33,33 ± 57,73
10^{-7} (N1)	100 ± 0,00	33,33 ± 57,73	66,67 ± 57,73	66,67 ± 57,73
5.10^{-7} (N2)	100 ± 0,00	100 ± 0,00	100 ± 0,00	66,67 ± 57,73
10^{-6} (N3)	66,67 ± 57,73	100 ± 0,00	100 ± 0,00	66,67 ± 57,73

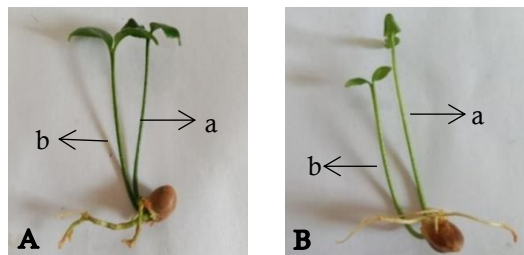
Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh menunjukkan bahwa perlakuan 0% ekstrak jagung + 10^{-7} M NAA (J0N1) merupakan perlakuan terbaik untuk jumlah tunas dari biji poliembrioni yakni 3,33 tunas pada pertumbuhan biji jeruk siam Pontianak (Tabel 5). Hasil ini menunjukkan dugaan bahwa pemberian auksin tunggal berupa zpt eksogen 10^{-7} M NAA sudah dapat berinteraksi dengan zpt endogen pada biji jeruk siam untuk menghasilkan perimbangan zpt yang sesuai untuk memacu pertumbuhan pada primordia tunas. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Corina *et al.* (2014) yang menunjukkan bahwa penambahan auksin dari bahan organik yaitu ekstrak taugé 10% secara tunggal menghasilkan jumlah tunas dari perkecambahan biji jeruk siam *in vitro* terbanyak yaitu 3,50 tunas. George dan Sherrington (1984) menyatakan bahwa pemberian auksin eksogen yang tepat dapat mengubah rasio zpt sitokinin dan auksin endogen untuk memacu pembelahan dan pemanjangan sel pada sel-sel primordia tunas dan daun. Arnita (2008) menjelaskan bahwa auksin dan sitokinin bekerja sama untuk mendorong pembelahan sel dan memengaruhi diferensiasi sel. Jedrzejczyk dan Nowaczyk (2009) menambahkan bahwa rasio yang tepat antara auksin eksogen dengan hormon endogen pada biji dapat meningkatkan jumlah embrio tambahan dalam biji.

Tabel 5. Rerata jumlah tunas dari biji poliembrioni jeruk siam Pontianak (tunas) dengan penambahan ekstrak jagung dan NAA pada media MS umur 56 hari.

NAA (M)	Ekstrak Jagung (%)			
	0 (J0)	7,5 (J1)	10 (J2)	12,5 (J3)
0 (N0)	2,00 ± 0,00	2,33 ± 2,08	2,00 ± 0,00	1,00 ± 1,73
10^{-7} (N1)	3,33 ± 1,15	1,33 ± 2,30	1,66 ± 1,52	2,00 ± 1,73
5.10^{-7} (N2)	2,00 ± 0,00	2,66 ± 0,57	2,00 ± 0,00	1,33 ± 1,15
10^{-6} (N3)	1,33 ± 1,15	2,33 ± 0,57	2,33 ± 0,57	2,00 ± 1,73

Hasil penelitian menunjukkan bahwa tunas dari biji poliembrioni ada yang tumbuh di tempat yang sama dengan tunas dari embrio zigotik (Gambar 2. A) dan ada pula yang tumbuh di tempat yang berbeda dengan tunas dari embrio zigotik (Gambar 2. B). Tunas yang muncul dari tempat yang sama dengan tunas dari embrio zigotik diduga berasal dari embrio zigotik yang memecah, sedangkan tunas yang muncul dari tempat berbeda diduga berasal dari jaringan lain dari biji. Hasil ini sesuai dengan pendapat Andriani *et al.* (2013) yang menyatakan bahwa poliembrioni dapat terjadi karena adanya pemecahan zigot atau dari jaringan integumen dan nuselus yang memiliki kemampuan regenerasi yang tinggi. Akibatnya tunas poliembrioni dapat tampak berdekatan dengan tunas dari embrio zigotik atau dapat juga keluar di tempat yang berbeda dengan tunas embrio zigotik. Menurut Wahyudhi (2020), daya regenerasi yang tinggi

dari jaringan integumen dan nuselus pada biji yang menghasilkan tunas poliembrioni, dapat dipicu oleh adanya aktivitas zpt dengan konsentrasi yang sesuai.



Gambar 2. Tunas dari biji poliembrioni jeruk siam Pontianak berumur 56 hari: A. Tunas tumbuh di tempat yang sama dengan tunas embrio zigotik; B. Tunas tumbuh di tempat yang berbeda dengan tunas embrio zigotik; a. tunas zigotik, b. tunas somatik

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh menunjukkan bahwa perlakuan 0% ekstrak jagung + 5.10^{-7} M NAA (J0N2) merupakan perlakuan terbaik untuk jumlah daun pada tunas dari biji poliembrioni yakni 2,16 helai daun (Tabel 6). Hasil ini menunjukkan dugaan bahwa perlakuan tunggal NAA dalam konsentrasi relatif rendah yang berinteraksi dengan zpt endogen pada biji jeruk siam menghasilkan perimbangan zpt yang sesuai untuk memacu pertumbuhan pada primordia daun. Salisbury dan Ross (1995) menyatakan hormon auksin yang ditambahkan secara eksogen dapat memacu kinerja hormon giberelin dalam pemanjangan ruas-ruas menyebabkan meningkatnya jumlah nodus dan jumlah daun bertambah.

Tabel 6. Rerata jumlah daun pada tunas dari biji poliembrioni tanaman jeruk siam pontianak (helai) dengan penambahan ekstrak jagung dan NAA pada media MS umur 56 hari.

NAA (M)	Ekstrak Jagung (%)			
	0 (J0)	7,5 (J1)	10 (J2)	12,5 (J3)
0 (N0)	1,83 ± 0,28	2,00 ± 2,00	2,00 ± 0,00	0,88 ± 1,53
10^{-7} (N1)	1,91 ± 0,14	0,66 ± 1,15	1,33 ± 1,15	1,33 ± 1,15
5.10^{-7} (N2)	2,16 ± 0,28	2,11 ± 0,19	1,83 ± 0,28	1,33 ± 1,15
10^{-6} (N3)	1,33 ± 1,15	2,00 ± 0,00	1,33 ± 1,15	1,33 ± 1,15

Hasil penelitian menunjukkan pertumbuhan akar terbanyak yakni 6 buah diperoleh pada perlakuan 7,5% ekstrak jagung + 10^{-6} M NAA (J1N3) dan 10% ekstrak jagung + 10^{-7} M NAA (J2N1). Perlakuan tanpa penambahan ekstrak jagung dan perlakuan ekstrak jagung 12,5% dengan semua perlakuan NAA menghasilkan jumlah akar kurang dari 5 buah (Tabel 7). Kondisi tersebut menunjukkan dugaan bahwa zpt dalam ekstrak jagung 7,5% dan 10% yang berinteraksi dengan NAA konsentrasi relatif tinggi secara eksogen mampu meningkatkan rasio auksin terhadap sitokinin sehingga dapat mencapai perimbangan yang tepat untuk memacu pertumbuhan pada primordia akar biji jeruk siam. Wattimena (1992) dan George dan Sherrington (1984) menyatakan bahwa apabila rasio auksin yang lebih tinggi dibanding sitokinin akan memacu terjadinya morfogenesis yang mengarah pada pembentukan akar.

Tabel 7. Rerata jumlah akar tanaman jeruk siam Pontianak (akar) dengan penambahan ekstrak jagung dan NAA pada media MS umur 56 hari.

NAA (M)	Ekstrak Jagung (%)			
	0 (J0)	7,5 (J1)	10 (J2)	12,5 (J3)
0 (N0)	4,00 ± 2,64	4,33 ± 1,15	3,33 ± 1,15	3,00 ± 1,00
10^{-7} (N1)	5,33 ± 1,15	2,66 ± 0,57	6,00 ± 2,64	4,33 ± 0,57
5.10^{-7} (N2)	4,00 ± 2,64	5,33 ± 2,30	3,33 ± 1,52	3,00 ± 0,00
10^{-6} (N3)	3,66 ± 1,15	6,00 ± 2,64	3,33 ± 1,52	2,66 ± 0,57

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Dapat disimpulkan bahwa penambahan kombinasi ekstrak jagung dan NAA dapat meningkatkan persentase perkecambahan dan jumlah akar, serta mempercepat waktu muncul kecambah dan waktu muncul tunas. Penambahan NAA tunggal mampu meningkatkan persentase perkecambahan, jumlah tunas dari biji poliembrioni dan jumlah daun pada kultur biji jeruk siam Pontianak. Perlakuan 12,5% ekstrak jagung + 10^{-6} M NAA (J3N3) merupakan perlakuan terbaik untuk waktu muncul kecambah dan waktu muncul tunas tercepat yakni 9,33 dan 13,33 hari. Perlakuan 0% ekstrak jagung + 10^{-7} M NAA (J0N1) menghasilkan jumlah tunas dari biji poliembrioni terbanyak yakni 3,33 tunas. Perlakuan 0% ekstrak jagung + $5 \cdot 10^{-7}$ M NAA (J0N2) adalah perlakuan terbaik untuk jumlah daun terbanyak pada tunas dari biji poliembrioni yakni 2,16 helai. Perlakuan 7,5% ekstrak jagung + 10^{-6} M NAA (J1N3) dan perlakuan 10% ekstrak jagung + 10^{-7} M NAA (J2N1) merupakan perlakuan terbaik untuk jumlah akar yakni 6 akar.

Saran

Saran untuk penelitian selanjutnya yaitu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai bahan organik lainnya yang mampu menjadi pengganti zpt sintetis untuk meningkatkan pertumbuhan biji jeruk siam Pontianak, baik biji monoembrioni maupun poliembrioni.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dwi Gusmalawati dan Zulfa Zakiah yang telah memberikan motivasi, arahan, dan masukan dalam penelitian ini.

REFERENSI

- Andrini, A., Suharsi, T. K., & Surahman, M. (2013). Studi Poliembrioni dan Penentuan Tingkat Kemasakan Fisiologis Benih Japansche Citroen Berdasarkan Warna Kulit Buah. *Jurnal Hortikultura*. 23(3), 195-202.
- Arnita, R. (2008). Pengaruh Konsentrasi Sitokinin dan Takaran Pupuk Organik Terhadap Pertumbuhan dan Hasil Pule Pandak (*Rauvolfia serpentine* (L.) Benth. Ex Kurz) [Srips]. Surakarta: Universitas Sebelas Maret.
- Aryanti, N. P., Semarajaya, C. G. A., Sukewijaya, I. M., & Rai, I. N. (2017). *Kajian Fisiko-Kimia Buah Jeruk Siam (Citrus Nobilis Lour.)* pada Perbedaan Tingkat Kematangan Selama Penyimpanan. *Jurnal Agrotrop*. 7(1), 51-59. doi: <https://doi.org/10.24843/AJoAS.2017.v07.i01.p06>
- Corina, I. P., Mukarlina, & Linda, R. (2014). Respon Pertumbuhan Kultur Biji Jeruk Siam Seed (*Citrus nobilis* var. *Microcarpa*) dengan Penambahan Ekstrak Tauge dan Benzilaminopurine (BAP). *Jurnal Protobiont*. 3(2), 120-124. doi: <http://dx.doi.org/10.26418/protobiont.v3i2.5519>
- Gardner, F. P., Pearce, R. B., & Mitchell. (1991). *Fisiologi Tanaman Budidaya*. Jakarta: UI.
- George, E. F., & Sherrington, P. D. (1984). *Plant Propagation by Tissue Culture. Handbook and Directory of Commercial Laboratories*. England: Exegenetic Limited.
- Gunawan, L. W. (1992). *Teknik Kultur Jaringan Tanaman*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan, Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas Bioteknologi. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Hapsoro, D., & Yusnita. (2022) *Embriogenesis Somatik In Vitro untuk Perbanyak Klonal dan Pemuliaan Tanaman*. Lampung: Pusaka Media.
- Jedrzejczyk, I., & Nowaczyk, P. (2009). In Vivo Polyembryony Induction in Species of *Capsicum*. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*. 51(1), 55–60.

- Lestari, E. G. (2011). Peranan Zat Pengatur Tumbuh dalam Perbanyakan Tanaman Melalui Kultur Jaringan. *AgroBiogen*. 7(1), 63-68. doi: <https://10.21082/jbio.v7n1.2011.p63-68>
- Maida, S. (2020). *Variasi Media MS (Murashige and Skoog) dengan Ekstrak Jagung Manis pada Perbanyakan Tanaman Anggrek Cattleya (Cattleya L.) secara In-Vitro* [Skripsi]. Palopo: Universitas Cokroaminoto Palopo. doi: <http://repository.uncp.ac.id/id/eprint/254>
- Pagalla, D. V., Andi, I. L., & Masniawati. (2015). Respon Pertumbuhan Propagul Pisang Ambon Hijau *Musa acuminate* Colla. pada Beberapa Konsentrasi Ekstrak Jagung Muda secara *In Vitro* [Skripsi]. Makassar: Universitas Hasanuddin.
- Rana, S. D., Dewi, R. P., Adjie, A. P., & Isda, M. N. (2019). Respon Poliembrioni dari Biji Duku (*Lansium domesticum* Corr.) yang Dibelah Tiga secara *In Vitro*. *Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*. 4(2), 63-69. doi: <https://doi.org/10.24002/biota.v4i2.2472>
- Salisbury, F. B., & Ross, C. W. (1995). *Fisiologi Tumbuhan Jilid I*. Terjemahan Diah, R. L., & Sumaryono. Bandung: ITB.
- Sandra, E. (2013). *Cara Memahami dan Menguasai Kultur Jaringan Skala Rumah Tangga*. Bogor: IPB Press.
- Sariningtias, N. W., Poerwanto, R., & Gunawan, E. (2014). Penggunaan Benzil Amino Purine (BAP) pada Okulasi Jeruk Keprok (*Citrus reticulata*). *Jurnal Hortikultura Indonesia*. 5(3), 158-167.
- Sarwono, B. (1994). *Jeruk dan Kerabatnya*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Subantoro, R., & Prabowo, R. (2012). Benih Poliembrio pada Tanmaan Kokosan dan Jeruk. *Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian*. 8(1), 86-97. doi: <http://10.31942/md.v8i1.1310>
- Tuhuteru, S. M. L., Hehanusa, M. L., & Raharjo, S. H. T. (2012). Pertumbuhan Dan Perkembangan Anggrek *Dendrobium anosmum* pada Media Kultur *In Vitro* dengan Beberapa Konsentrasi Air Kelapa. *Jurnal Agrologia*. 1(1), 1-12. doi: <https://10.30598/a.v1i1.293>
- Wahyudhi, A. (2020). Pembentukan Poliembrioni pada Biji Buah Jeruk Peras (*Citrus sinensis* L.). *Jurnal Agroscrip*. 2(1), 49-55. doi: <https://10.36423/agroscrip.v2i1.529>
- Wattimena, G. A. (1992). *Bioteknologi Tanaman*. Bogor: Dekdikbud Dirjen Pendidikan Tinggi Bioteknologi IPB.
- Widasari, R., Mukarlina, & Zakiah Z. (2021). Pertumbuhan Biji Buah Naga (*Hylocereus polyrhizus*) dengan Pemberian NAA dan Ekstrak Biji Jagung (*Zea mays*) secara *In Vitro*. *Jurnal Bios Logos*. 11(1), 47-53. doi: <https://doi.org/10.35799/jbl.11.1.2021.31340>