

Pengaruh Penambahan Ekstrak Kentang Pada Media MS Terhadap Mikropropagasi *In Vitro* Biji Tanaman Jeruk Nipis (*Citrus Aurantifolia* L.)

The Effect of Adding Potato Extract to MS Media on *In Vitro* Micropropagation of Lime (*Citrus Aurantifolia* L.) Seeds

Risna M. Isa¹, Dr. Indriati Husain^{2*}, Suyono Dude², Hasna Dama²

1. Alumni Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Negeri Gorontalo
2. Dosen Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Negeri Gorontalo
Jl. Prof. Dr. Ing. BJ Habibie, Moutong, Kab. Bone Bolango, 96554

*Correspondence author: indriati.husain@ung.ac.id

ABSTRACT

Risna M. Isa. The Effect of the Addition of Potato Extract To MS (Murashige & Skoog) Media on *In Vitro* Micropropagation of lime (*Citrus aurantifolia* L.) seeds. This research was conducted at the Tissue Culture Laboratory of Universitas Negeri Gorontalo in Bone Bolango Regency. Additionally, this research employed a Completely Randomized Design (CDR) with five treatment levels of potato extract concentrations: control (without potato extract), potato extract of 100, 200, 300 and 400 mL/liter media. The parameters observed were the number of leaves, roots, shoots, plantlet height, and contamination percentage. Besides, the data were analyzed using analysis of variance (ANOVA) and continued with a Least Significant effect on the number of leaves and plantlet height at a concentration of 100 mL/liter media at the observation of 2, 3 and 4 weeks after planting. Most importantly, the best treatment of potato extract concentration on *In Vitro* micropropagation of lime seeds was 100 mL/liter media.

Keywords: Tissue culture, MS Media, Potato Extract

ABSTRAK

Pengaruh Penambahan Ekstrak Kentang pada Media MS Terhadap Mikropropagasi *In Vitro* Biji Tanaman jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia* L.). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan ekstrak kentang pada media MS terhadap mikropropagasi *In Vitro* biji tanaman jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* L.). Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Kampus 4 Universitas Negeri Gorontalo Kabupaten Bone Bolango. Rancangan yang digunakan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 taraf perlakuan konsentrasi ekstrak kentang yaitu kontrol (tanpa ekstrak kentang), ekstrak kentang 100, 200, 300, 400 mL/liter media). Parameter yang diamati adalah jumlah daun, jumlah akar, jumlah tunas, tinggi planlet, persentase kontaminasi. Data dianalisis menggunakan analisis ragam (ANOVA), selanjutnya dilakukan uji BNT taraf 5%. Hasil Penelitian menunjukkan bahwa penambahan ekstrak kentang berpengaruh nyata pada jumlah daun dan tinggi planlet pada konsentrasi 100 mL/liter media pengamatan 2, 3 dan 4 MST. Perlakuan terbaik konsentrasi ekstrak kentang terhadap mikropropagasi biji tanaman jeruk nipis secara *in vitro* yaitu 100 mL/liter media.

Kata kunci : Kultur jaringan, Media MS, Ekstrak Kentang.

PENDAHULUAN

Jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* L.) adalah tanaman poliembrionik yang ditanam di berbagai negara dan tumbuh di daerah subtropik atau tropik. Tanaman Jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* L.) adalah tanaman buah-buahan yang berasal dari China.

Keberhasilan budidaya jeruk nipis, diawali dengan menyiapkan bibit berkualitas tinggi. Bibit yang demikian akan menghasilkan tanaman yang berkualitas tinggi dan hasil yang optimal. Usaha untuk mendapatkan bibit jeruk nipis dalam jumlah yang banyak, seragam, dalam waktu yang singkat akan sulit diperoleh. Saat ini bibit jeruk nipis masih terbatas secara konvensional yaitu dengan perbanyakannya secara stek dan menggunakan biji. Penyediaan bibit tersebut kurang efektif karena selain terbatasnya jumlah kemungkinan terserang penyakit sangat rentan.

Keberhasilan teknik kultur jaringan sangat tergantung pada ketersediaan medium dasar sebagai sumber nutrisi. MS merupakan media yang sangat luas pemakaiannya karena mengandung unsur hara makro dan mikro yang lengkap sehingga dapat digunakan untuk berbagai spesies tanaman. Untuk hasil yang maksimal perlu penambahan berbagai zat pengatur tumbuh atau bahan organik seperti ekstrak kentang yang diharapkan memperkaya kandungan hara dalam media kultur jaringan sehingga dapat mendorong pertumbuhan eksplan Al Chalik (2021).

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni sampai bulan Agustus 2022 di Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Negeri Gorontalo.

Alat Dan Bahan

Alat yang digunakan sebagai berikut: cawan petridish, blade dan scaple, botol kultur, laminar airflow, rak media, gelas ukur, cerek ukur, timbangan digital, sendok kimia, batang pengaduk, cawan timbangan, lampu bunsen, korek api, gelas kimia, erlemeyer, dan hand sprayer.

Bahan yang digunakan sebagai berikut: biji jeruk nipis, agar-agar swallow, kentang, ms, air steril, alkohol 70%, desinfektan, gula pasir, plastik, karet, kapas, spritus, tissue steril, dan kertas warp.

Prosedur Penelitian

1. Sterilisasi Peralatan
Untuk sterilisasi alat menggunakan autoklaf dengan tekanan 121°C selama 30 menit.
2. Pembuatan Media Ekstrak
Kentang dikupas lalu dicuci dengan air mengalir tiriskan dan timbang sebanyak 450 gr. Kentang dipotong dadu, kemudian tambahkan air 600 ml rebus selama 15 menit dan saring.
3. Pembuatan Media Dasar (MS)
Sediakan cerek ukur dan tuang air steril sebanyak 800 ml. Lalu timbanglah MS 4,40 g, gula pasir 30 g, agar-agar 8 g. Kemudian larutkan gula pasir, MS kedalam 800 mL air steril dan ukur pH 5,8, genapkan 1000 mL. Lalu tuang pada panci tempat memasak tambahkan agar-agar masak hingga agar-agar larut lalu tuang pada boto-botol kultur. Media disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 30 menit. Setelah itu angkat dan simpan pada laminar airflow tempat menyimpan media.
4. Sterilisasi Eksplan
Untuk sterilisasi eksplan biji jeruk menggunakan konsentrasi bayclin 50% dikocok selama 15 menit dan 20% dengan waktu 10 menit.
5. Penanaman
Sediakan terlebih dahulu alat dan bahan yang sudah disterilkan di autoklaf terlebih dahulu lalu letakkan di dalam laminar airflow. Kemudian alkohol 70% untuk perendaman alat-alat. Lampu bunsen dan bakar alat-alat tanam. Biji jeruk yang sudah steril dikupas pada cawan petri kulturyang diletakkandi depan lampu bunsen. Setelah selesai dikupas, lalu tanam satu per satu pada media di depan nyala lampu bunsen agar mikroorganisme tidak ikut masuk ke dalam. Botol media ditutup kembali dengan plastik dan diikat dengan karet dan juga ditutup dengan plastik wrap. Setelah selesai ditanam, botol kultur diletakkan pada rak media yang sudah diatur suhu ruangnya.

Analisis Data

Data yang diperoleh menggunakan dua cara yaitu:

1. Data Kualitatif
Data kualitatif adalah data yang diamati secara langsung dari objek atau gambaran

- penelitian di Laboratorium percobaan dan dijelaskan secara deskriptif.
2. Data Kuantitatif
Data kuantitatif dilakukan analisis ragam menggunakan uji F taraf 5%. Apabila F hitung lebih besar dari F tabel maka dilanjutkan dengan uji BNT.

- Tinggi planlet diukur pada 1, 2, 3 dan 4 minggu setelah tanam (MST).
5. Kontaminasi
Jumlah botol kultur yang kontaminasi dihitung pada 2 dan 4 minggu setelah tanam (MST).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Jumlah Daun

Berdasarkan hasil analisis ragam pada jumlah daun jeruk nipis (Lampiran 4), perlakuan penambahan ekstrak kentsang media memberikan pengaruh nyata pada pengamatan 2, 3 dan 4 MST. Pada 1 MST penambahan ekstrak kentang tidak menunjukkan pengaruh nyata. Nilai rata-rata jumlah daun tanaman jeruk nipis berdasarkan penambahan ekstrak kentang disajikan pada Tabel 1.

Variabel Pengamatan

1. Jumlah daun (helai)
Jumlah daun dapat dihitung pada 1, 2, 3 dan 4 minggu setelah tanam (MST).
2. Jumlah akar
Jumlah akar dihitung pada 1, 2, 3 dan 4 minggu setelah tanam (MST).
3. Jumlah tunas
Jumlah daun dapat diamati pada 1, 2, 3 dan 4 minggu setelah tanam (MST).
4. Tinggi planlet (cm)

Tabel 1. Rata-rata Jumlah Daun Tanaman Jeruk Nipis Berdasarkan Penambahan Ekstrak Kentang.

Konsentrasi Ekstrak Kentang (mL/L media)	Jumlah Daun			
	1 MST	2 MST	3 MST	4 MST
Kontrol	1,00	1,10c	1,31b	1,57b
100	1,37	1,73a	1,93a	2,00a
200	1,29	1,39b	1,73a	1,65b
300	1,00	1,00c	1,21b	1,57b
400	1,00	1,10c	1,31b	1,55b
BNT 5%	tn	0,28	0,27	0,32

Keterangan : Angka dalam kolom yang diikuti huruf berbeda menunjukkan berbeda nyata menurut uji BNT 5%. MST = Minggu Setelah Tanam.

Berdasarkan Tabel 1 diatas menunjukkan bahwa ekstrak kentang belum bereaksi dengan eksplan biji jeruk nipis dan ZPT ekstrak kentang belum diserap oleh eksplan biji tanaman jeruk secara optimal. Tabel 1 menunjukkan bahwa penambahan ekstrak kentang berpengaruh nyata pada 2, 3 dan 4 MST, dimana ekstrak kentang 100 mL/L liter media merupakan perlakuan terbaik dibanding perlakuan lainnya. Nilai rata-rata pada pengamatan jumlah daun minggu ke 2 MST 1,73 helai, pengamatan 3 MST 1,93 helai, dan minggu ke 4 MST 2,00 helai. Hal ini disebabkan ZPT yang terdapat pada ekstrak kentang 100 mL/L media menunjukkan hasil pertumbuhan biji jeruk

nipis yang maksimal yang berbeda dengan ekstrak kentang yang lebih tinggi kandungan ZPT nya.

Menurut Harlina (2004) menyatakan bahwa semakin tinggi kepekaan larutan nutrisi yang digunakan, jumlah daun yang terbentuk semakin sedikit. Pemberian konsentrasi yang berbeda, memberikan pengaruh yang lebih besar terhadap parameter jumlah daun.

Jumlah Akar

Berdasarkan hasil analisis ragam pada jumlah akar jeruk nipis (lampiran 4) perlakuan penambahan ekstrak kentang tidak memberikan pengaruh nyata pada pengamatan 1, 2, 3, dan 4 MST. Nilai rata-rata jumlah akar tanaman jeruk

nipis berdasarkan penambahan ekstrak kentang disajikan pada tabel 2.

Tabel 2. Rata-rata Jumlah Akar Tanaman Jeruk Nipis Berdasarkan Penambahan Ekstrak Kentang.

Konsentrasi Ekstrak Kentang (mL/L media)	Jumlah Akar			
	1MST	2 MST	3 MST	4 MST
Kontrol	0,75	1	1	1
100	1	1	1	1
200	1	1	1	1
300	0,5	1	1	1
400	0,5	1	1	1
BNT 5%	tn	tn	tn	tn

Perlakuan ekstrak kentang terlihat tidak memberikan pengaruh nyata terhadap penambahan jumlah akar pada pengamatan 1, 2, 3 dan 4 MST. Hal ini menunjukkan bahwa ZPT yang terdapat pada ekstrak kentang belum cukup merangsang pertumbuhan akar secara cepat. Menurut Gunawan (2007), bahwa pola perkembangan tanaman kultur jaringan dipengaruhi oleh jumlah dan perbandingan zat-zat pengatur tumbuh yang diberikan.

Jumlah Tunas

Berdasarkan hasil analisis ragam pada jumlah tunas jeruk nipis (lampiran 4), memberikan pengaruh nyata pada pengamatan 2, 3, dan 4 MST. Pada minggu ke 1 MST penambahan ekstrak kentang tidak menunjukkan pengaruh nyata. Nilai rata-rata jumlah tunas tanaman jeruk nipis berdasarkan penambahan ekstrak kentang disajikan pada tabel 3.

Tabel 3. Rata-rata Jumlah Tunas Tanaman Jeruk Nipis Berdasarkan Penambahan Ekstrak Kentang.

Konsentrasi Ekstrak Kentang (mL/L media)	Jumlah Tunas			
	1 MST	2 MST	3 MST	4 MST
Kontrol	0,25	0,5	0,75	1
100	0,5	1	1	1,25
200	0,5	0,75	1,25	1,75
300	0,5	0,75	1	1
400	0,25	0,75	1,75	1,75
BNT 5%	tn	tn	tn	tn

ZPT yang terdapat pada ekstrak kentang 100 mL/L media menunjukkan hasil pertumbuhan biji jeruk nipis yang maksimal yang berbeda dengan ekstrak kentang yang lebih tinggi kandungan ZPT nya.

Tinggi Planlet

Berdasarkan hasil analisis ragam pada tinggi planlet jeruk nipis (lampiran 4) perlakuan

penambahan ekstrak kentang memberikan pengaruh nyata pada pengamatan 2, 3 dan 4 MST. Pada minggu ke 1 MST penambahan ekstrak kentang tidak menunjukkan pengaruh nyata. Nilai rata-rata tinggi planlet tanaman jeruk nipis berdasarkan penambahan ekstrak kentang disajikan pada table 4.

Tabel 4. Rata-rata Tinggi Planlet Tanaman Jeruk Nipis Berdasarkan Penambahan Ekstrak Kentang.

Konsentrasi Ekstrak Kentang (mL/L media)	Tinggi Planlet (cm)			
	1 MST	2 MST	3 MST	4 MST
Kontrol	1,02	1,02b	1,20b	1,24b
100	1,06	1,56a	1,77a	2,58a
200	1,01	1,27b	1,42b	1,35b
300	1,00	1,05b	1,38b	0,98b
400	1,00	1,14b	1,23b	1,38b
BNT 5%	tn	0,20	0,34	0,35

Keterangan : Angka dalam kolom yang diikuti huruf berbeda menunjukkan berbeda nyata menurut uji BNT 5%. MST = Minggu Setelah Tanam.

Hal ini menunjukkan bahwa pada umur 1 MST ekstrak kentang belum menyatu dengan eksplan biji jeruk nipis yang dipindahkan dan ZPT ekstrak kentang belum bereaksi oleh eksplan biji tanaman jeruk secara optimal. Perlakuan ekstrak kentang 100 mL/L liter media memberikan nilai rata-rata yang optimum pada pengamatan tinggi planlet 1,56 cm, pengamatan 3 MST 1,77 cm, dan 4 MST 2,58 cm. Hal ini dikarenakan ZPT yang terdapat pada ekstrak kentang 100 mL/L media menunjukkan hasil pertumbuhan biji jeruk nipis yang maksimal yang berbeda dengan ekstrak kentang yang lebih tinggi kandungan ZPT nya.

Menurut Tuhuteru (2012), ZPT pada eksplan tergantung dari zat pengatur tumbuh endogen. Respon yang muncul tergantung kemampuan eksplan dalam menyerap dan menggunakan zat pengatur tumbuh. Adanya penambahan ekstrak kentang pada tanaman

memiliki respon yang berbeda-beda pada setiap pertumbuhan dan perkembangan spesies tanaman. Hasil penelitian Mulia (2018), diperoleh hasil yang sama dimana semakin tinggi jumlah ekstrak kentang yang diberikan semakin lambat pertumbuhan eksplannya.

Dalam konsentrasi yang cukup tinggi hasilnya tidak memberikan pengaruh nyata pada semua parameter pengamatan. Sehingga perlu dilakukan modifikasi terhadap komponen media MS yaitu dengan mengurangi konsentrasi ekstrak kentang dan juga sukrosa.

Kontaminasi

Persentase kontaminasi hasil pengamatan terhadap beberapa perlakuan dari 1,2, 3 dan 4 tidak ada tanaman maupun media yang terkontaminasi.

Perlakuan	Ulangan	Waktu Pengamatan (MST)			
		1 MST	2 MST	3 MST	4 MST
Kontrol	0	-	-	-	-
100 mL/L media	1	-	-	-	-
200 mL/L media	2	-	-	-	-
300 mL/L media	3	-	-	-	-
400 mL/L media	4	-	-	-	-

Hasil pengamatan persentase kontaminasi dari table 5 menunjukkan bahwa semua perlakuan tidak mengalami kontaminasi. Kontaminasi diakibatkan oleh mikroorganisme yaitu jamur dan bakteri, kontaminasi yang diakibatkan bakteri dicirikan dengan timbulnya lender pada permukaan media maupun dipermukaan eksplan, sedangkan kontaminasi yang disebabkan oleh jamur dicirikan dengan tumbuhnya miselium jamur pada permukaan media maupun eksplan dengan warna putih keabu-abuan, sehingga miselium jamur menyelimuti eksplan dan terjadi kematian pada eksplan. Sumber kontaminasi pada eksplan dapat dipengaruhi oleh tingkat sterilisasi eksplan, alat yang digunakan serta kontaminasi yang bersifat endogen atau internal. Menurut Ermayanti (1997) sumber kontaminasi yang tumbuh pada material tanaman yang dibiakkan, alat-alat yang digunakan. Proses sterilisasi dan kultur yang digunakan berhasil sehingga tidak menimbulkan penyebab kontaminasi (jamur/bakteri).

PENUTUP

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa:

1. Penambahan ekstrak kentang memberikan pengaruh nyata pada parameter pengamatan jumlah dan dan tinggi planlet pada minggu ke 2, 3 dan 4 MST.
2. Konsentrasi yang sesuai dari ekstrak kentang terhadap mikropropagasi *in vitro* biji tanaman jeruk nipis adalah 100 mL/L media.

Saran

Sebaiknya menggunakan alat-alat laboratorium yang sudah disterilkan terlebih dahulu untuk mencegah terjadinya kontaminasi serta memodifikasi media MS dengan menambahkan ZPT alami seperti ekstrak kentang dan tanaman lainnya yang mudah didapat dan juga tidak memerlukan biaya yang cukup mahal.

DAFTAR PUSTAKA

- Al Chalik F., Nopsagiarti T., Haitami A. 2021. *Uji Konsentrasi Ekstrak Kentang Terhadap Pertumbuhan Sub KULTur Pisang Roti Pada Media MS Modifikasi*. Jurnal Green Swarnadwipa, 10 (3) : 373-382.
- Gunawan, 2007. *Pengaruh Macam Komposisi dan Pemberian Buah Pisang Terhadap Pertumbuhan Planlet Anggrek Dendrobium sp. Secara In Vitro*.
- Harlina, 2004. *Pengaruh Penambahan Air Rebusan Kentang (Solanum tuberosum L.) BAP dan NAA Terhadap Induksi Tunas Jati Emas (Cordia subcordata) Secara In Vitro*.
- Mulia, Putri Indah, Tri Nopsagiarti, and Alatas. *“Respon Pertumbuhanm Eksplan Tanaman Pisang (Musa sp.) Varietas Roti dengan Penambahan Ekstrak Kentang pada Media MS.”* Green Swarnadwipa: Jurnal Pengembangan Ilmu Pertanian, 9.2 (2020).
- Ermayati, 1997. *“Deskripsi Jenis jenis Kontaminan Dari Kultur Kalus Chatharantus roseus (L.) G. Don”*. Jurnal
- Tuhuteru, 2012. *“Respon Pertumbuhan Eksplan Tanaman Pisang (Musa sp.) Varietas Roti dengan Penambahan Ekstrak Kentang pada Media MS.”* Green Swarnadwipa: Jurnal Pengembangan Ilmu Pertanian, 9.2 (2020).