

Konservasi *In Vitro* Pamelo (*Citrus maxima* (Burm.) Merr.) melalui Pertumbuhan Lambat

***In Vitro* Conservation of Pummelo (*Citrus maxima* (Burm.) Merr) Using Slow Growing Method**

Kartika Ning Tyas^{1*}, Slamet Susanto², Iswari Saraswati Dewi³, dan Nurul Khumaida²

¹Pusat Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Bogor-LIPI, Jl. Ir. H. Juanda 13, Bogor 16122, Indonesia

²Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor (Bogor Agricultural University), Jl. Meranti, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680, Indonesia

³Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber daya Genetik Pertanian Jl. Tentara Pelajar No 3A, Cimanggu, Bogor 16111, Indonesia

Diterima 5 Juni 2012/Disetujui 18 Desember 2012

ABSTRACT

Indonesia is one of the countries which have abundant germplasm of pummelo (*Citrus maxima* (Burm.) Merr.). The pummelo germplasm must be conserved to prevent its extinction due to biotic and abiotic stresses. In vitro conservation using slow growth technique can be considered as an alternative of ex-situ conservation. Two experiments were conducted to obtain suitable medium to conserve pummelo in vitro. The first experiment was conservation using modified concentration of MS and sucrose. MS medium concentrations were 1/2MS and MS, while sucrose concentrations were 0, 1, 2 and 3%. The second experiment was conservation using osmoticum and retardant in MS medium. There were six combinations of MS medium supplemented with osmoticum and retardant, i.e. MS + sucrose 3%, MS + sucrose 3% + paclobutrazol 7.5 ppm, MS + sucrose 3% + paclobutrazol 15 ppm, MS + sorbitol 2%, MS + sorbitol 2% + paclobutrazol 7.5 ppm, MS + sorbitol 2% + paclobutrazol 15 ppm. The results showed that reducing MS medium and sucrose concentration decreased leaf number and shoot length but increased root number and length. The combination of osmoticum and retardant reduced shoot length, leaf number, root number and length. Based on the planlet visual and inhibition of growth through the decrease of leaf number, shoot and root length, the best medium to preserve pummelo was MS + sorbitol 2% + paclobutrazol 7.5 ppm.

Keywords: *Citrus maxima*, osmoticum, preservation, retardant, slow growth

ABSTRAK

Indonesia merupakan salah satu negara yang kaya akan plasma nutfah pamelo (*Citrus maxima* (Burm.) Merr.). Upaya konservasi perlu dilakukan untuk mencegah kepunahan akibat cekaman biotik dan abiotik. Konservasi in vitro menggunakan teknik pertumbuhan lambat dapat menjadi suatu alternatif untuk konservasi eks situ. Dua percobaan konservasi dilakukan untuk memperoleh media konservasi in vitro pamelo yang sesuai. Percobaan pertama konservasi menggunakan konsentrasi komposisi media MS dan konsentrasi sukrosa. Konsentrasi media MS terdiri atas dua taraf, yaitu 1/2MS dan MS. Konsentrasi sukrosa terdiri dari empat taraf yaitu 0, 1, 2 dan 3%. Percobaan kedua konservasi menggunakan media dasar MS yang mengandung kombinasi osmotikum dan retardan. Terdapat enam kombinasi media konservasi yang dicobakan, yaitu MS + sukrosa 3%, MS + sukrosa 3% + paclobutrazol 7.5 ppm, MS + sukrosa 3% + paclobutrazol 15 ppm, MS + sorbitol 2%, MS + sorbitol 2% + paclobutrazol 7.5 ppm, MS + sorbitol 2% + paclobutrazol 15 ppm. Hasil percobaan pertama menunjukkan bahwa penurunan konsentrasi media MS dan sukrosa menurunkan jumlah daun dan tinggi tunas, tetapi meningkatkan jumlah dan panjang akar. Percobaan kedua menunjukkan bahwa media kombinasi osmotikum dan retardan berpengaruh terhadap tinggi tunas, jumlah daun, dan panjang akar. Berdasarkan persentase pertumbuhan relatif dan visual kultur yang lebih hijau dan vigor setelah tujuh bulan konservasi maka media terbaik untuk konservasi pamelo adalah media MS + sorbitol 2% + paclobutrazol 7.5 ppm.

Kata kunci: *Citrus maxima*, osmotikum, pertumbuhan minimal, preservasi, retardan

PENDAHULUAN

Pamelo (*Citrus maxima* (Burm.) Merr.) atau jeruk besar merupakan kekayaan plasma nutfah Indonesia. Tujuh

kultivar (Giri Matang, Bageng, Nambangan, Bali Merah, Sri Nyonya, Magetan dan Gulung) merupakan unggulan nasional, namun kultivar lainnya masih dibudidayakan secara terbatas. Kultivar tersebut antara lain 'Adas Duku', yang memiliki keunggulan daging buah berwarna merah dan naringinnya lebih rendah dibandingkan Nambangan

* Penulis untuk korespondensi. e-mail: kningtyas@gmail.com

(Rahayu *et al.*, 2012) sehingga tingkat kegetirannya lebih rendah, namun daging buahnya cepat mengering jika tidak segera dipanen setelah masak. Upaya konservasi perlu dilakukan untuk melestarikan kekayaan plasma nutfah sebagai sumber pengembangan pamelos. Tujuan utama dari konservasi adalah untuk mengoleksi dan memelihara keragaman genetik untuk menjamin ketersediaannya secara kontinu sesuai dengan kebutuhan pengguna yang berbeda-beda (Rao, 2004).

Konservasi pamelos dapat dilakukan secara *eks situ* di luar sentra produksi, baik secara *eks vitro* dengan membuat kebun koleksi pamelos dan secara *in vitro* antara lain dengan pertumbuhan lambat. Teknik pertumbuhan lambat dilakukan untuk memperpanjang periode subkultur dan untuk konservasi plasma nutfah yang menghemat area (Ahmed *et al.*, 2010), juga dapat menghemat tenaga, energi dan biaya (Ahmed dan Anjum, 2010).

Pertumbuhan lambat secara *in vitro* dapat diinduksi dengan menurunkan konsentrasi media yang dapat dilakukan antara lain dengan menurunkan konsentrasi seluruh hara pada media (Catana *et al.*, 2010), penurunan konsentrasi sukrosa untuk mengurangi sumber karbon dan energi (Javed dan Ikram, 2008), memberikan stres osmotik, dan penggunaan retardan (Gopal dan Chauhan, 2010). Regulator osmotik yang digunakan dalam konservasi *in vitro* antara lain sukrosa dan sorbitol (Javed dan Ikram, 2008) karena dapat menurunkan potensial osmotik media (Shibli *et al.*, 2006). Konsentrasi sorbitol untuk konservasi pada pamelos cv Sri Nyonya adalah 20 g L⁻¹ (Dewi *et al.*, 2010). Retardan seperti paklobutrazol dalam konservasi *in vitro* berfungsi menghambat pertumbuhan melalui penghambatan pembentukan giberelin dan sinyal transduksi giberelin serta pembentukan *tryptophan* yang merupakan prekursor auksin (Ribeiro *et al.*, 2012). Giberelin berperan pada pengembangan sel (Marga *et al.*, 2005), dan konversi dari *tryptophan* sampai *indole-3-pyruvic acid* (Ribeiro *et al.*, 2012), sehingga pemberian paklobutrazol menghambat pembesaran sel dan pemanjangan sel.

Konservasi dengan kombinasi konsentrasi media MS dan konsentrasi sukrosa atau kombinasi media yang mengandung osmotikum dan retardan belum dilakukan untuk konservasi pamelos. Percobaan ini bertujuan untuk memperoleh media yang sesuai untuk konservasi *in vitro* pamelos melalui pertumbuhan lambat.

BAHAN DAN METODE

Percobaan dilakukan di laboratorium kultur jaringan Departemen Agronomi dan Hortikultura Fakultas Pertanian IPB mulai Januari 2011 sampai dengan Mei 2012. Dua macam percobaan dilakukan untuk konservasi pamelos secara *in vitro*. Percobaan pertama adalah konservasi dengan konsentrasi komposisi media MS dan konsentrasi sukrosa. Percobaan kedua adalah konservasi dengan osmotikum dan retardan. Peralatan yang digunakan adalah peralatan standar untuk penelitian kultur jaringan.

Bahan tanaman yang digunakan adalah pucuk tunas adventif pamelos 'Adas Duku' yang memiliki empat daun tanpa akar. Dua eksplan ditanam dalam 30 mL media

sesuai perlakuan. Kultur kemudian diinkubasikan di ruang kultur pada suhu 27-29 °C dengan lama penyinaran 24 jam menggunakan lampu TL 18 Watt (237-616 lux, diukur dengan Luxtron 4 *in 1*).

Pengamatan dilakukan setelah tujuh bulan perlakuan. Peubah yang diamati meliputi tinggi tunas, pertambahan jumlah daun, jumlah dan panjang akar serta penampilan visual kultur. Percobaan dilakukan dengan rancangan sesuai perlakuan sebagai berikut:

Konservasi In Vitro Pamelos dengan Modifikasi Konsentrasi Media MS dan Konsentrasi Sukrosa

Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan faktorial dengan dua faktor, yaitu konsentrasi media MS (Murashige dan Skoog) dan konsentrasi sukrosa yang disusun secara acak lengkap. Konsentrasi media MS terdiri atas dua taraf, yaitu 1/2MS dan MS. Pada media 1/2MS, komposisi hara makro, mikro, vitamin dan myo-inositol adalah setengah dari media MS. Konsentrasi sukrosa terdiri atas empat taraf, yaitu 0, 1, 2, dan 3%, sehingga terdapat delapan kombinasi perlakuan. Setiap unit percobaan diulang tujuh kali.

Konservasi In Vitro dengan Menggunakan Osmotikum dan Retardan

Percobaan disusun secara acak lengkap dengan perlakuan media MS dengan kombinasi osmotikum dan retardan. Media tumbuh yang diuji terdiri atas enam kombinasi, yaitu MS + sukrosa 3% + paklobutrazol 0 ppm, MS + sukrosa 3% + paklobutrazol 7.5 ppm, MS + sukrosa 3% + paklobutrazol 15 ppm, MS + sorbitol 2% + paklobutrazol 0 ppm, MS + sorbitol 2% + paklobutrazol 7.5 ppm, MS + sorbitol 2% + paklobutrazol 15 ppm. Masing-masing unit percobaan diulang tiga kali.

Pemulihan dan Aklimatisasi Pamelos setelah Konservasi secara In Vitro

Setelah perlakuan konservasi selama tujuh bulan, planlet dipotong akarnya dan dikultur ke dalam media pemulihan, yaitu media MS tanpa zat pengatur tumbuh dengan penambahan sukrosa 3% (MS0). Hal ini dilakukan untuk menguji daya tumbuh kultur. Aklimatisasi dilakukan dengan menanam langsung planlet pada media campuran tanah liat : sekam : kompos = 2:1:1 (b/b/b) pada suhu lingkungan 20-25 °C, kelembaban 60-80% dan intensitas cahaya 50%. Peubah yang diamati adalah persen planlet yang membentuk daun baru pada media pemulihan dan persen tumbuh setelah aklimatisasi.

Analisis Data

Data kuantitatif dianalisis menggunakan uji F pada taraf $\alpha = 5\%$. Jika perlakuan menunjukkan pengaruh yang nyata terhadap hasil pengamatan maka dilakukan uji lanjut dengan *Duncan Multiple Range Test* pada taraf $\alpha = 5\%$. Penghambatan pertumbuhan pada masing-masing media

konservasi digambarkan dengan persentase pertumbuhan relatif, yang dihitung dengan membandingkan pertumbuhan planlet pada semua perlakuan dengan kontrol yang memiliki pertumbuhan terbaik. Media terbaik untuk konservasi pamelode dipilih berdasarkan besarnya persentase penghambatan dan visual planlet yang normal dan berwarna hijau.

HASIL DAN PEMBAHASAN

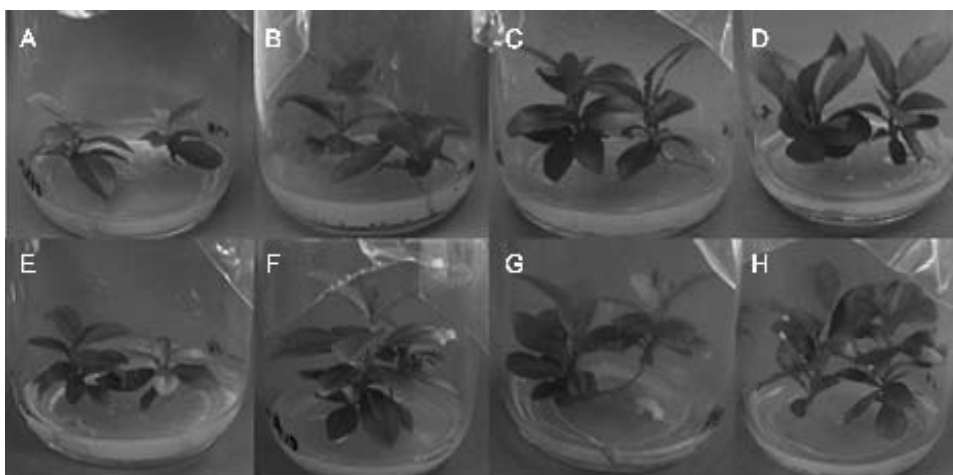
Konservasi In Vitro Pamelode dengan Modifikasi Konsentrasi Media MS dan Konsentrasi Sukrosa

Secara visual, tunas pamelode mampu tumbuh menjadi planlet pada semua media konservasi, diduga auksin endogen pada pamelode cukup tinggi karena auksin berperan dalam menginduksi pembentukan akar pada kultur (Rose *et al.*, 2006). Planlet memiliki daun, batang dan akar dengan bentuk normal. Pertumbuhan planlet yang kekurangan hara dan sukrosa terhambat dibandingkan dengan pertumbuhan planlet pada media MS + sukrosa 3% (Gambar 1).

Pertambahan jumlah daun dan jumlah akar dipengaruhi oleh interaksi antara konsentrasi media MS

dan konsentrasi sukrosa. Planlet yang kekurangan hara dan sukrosa mengalami penambahan daun yang lebih sedikit dibandingkan dengan media MS + sukrosa 3% (Tabel 1). Hal ini disebabkan karena pembentukan daun merupakan proses yang memerlukan energi, karbon dan hara. Terhambatnya pertumbuhan daun planlet akibat kekurangan hara dan sukrosa juga dijumpai pada jahe emprit (Rahmawati *et al.*, 2004). Sebaliknya pada jumlah akar, pembentukannya meningkat untuk memperluas penyerapan hara sebagai respon terhadap kekurangan hara dan energi pada media. Jumlah akar terbanyak dijumpai pada media 1/2MS + sukrosa 1% (Tabel 1).

Pertambahan tinggi tunas dan panjang akar pamelode dipengaruhi oleh konsentrasi media MS dan konsentrasi sukrosa, tetapi tidak dipengaruhi oleh interaksi antara keduanya. Tunas yang tumbuh pada media 1/2MS lebih pendek dibandingkan dengan tunas yang tumbuh pada media MS (Tabel 2) karena pengaruh jumlah hara. Sebaliknya akar pada media MS nyata lebih pendek dibandingkan pada media 1/2MS, karena kekurangan hara akan merangsang pemanjangan akar untuk memperluas daerah penyerapan hara. Adanya sukrosa dalam media tumbuh berperan sebagai



Gambar 1. Keragaan visual planlet yang berasal dari tunas adventif pamelode ‘Adas Duku’ tujuh bulan setelah konservasi dengan konsentrasi komposisi media MS dan konsentrasi sukrosa. (A) 1/2MS + sukrosa 0%; (B) 1/2MS + sukrosa 1%; (C) 1/2MS + sukrosa 2%; (D) 1/2MS + sukrosa 3%; (E) MS + sukrosa 0%; (F) MS + sukrosa 1%; (G) MS + sukrosa 2%; (H) MS + sukrosa 3%

Tabel 1. Pengaruh konsentrasi media MS dan sukrosa terhadap pertumbuhan pamelode ‘Adas Duku’ setelah tujuh bulan konservasi

Komposisi media	Konsentrasi sukrosa (%)			
	0	1	2	3
	Pertambahan jumlah daun (helai)			
1/2MS	4.1d	6.2bc	5.5cd	5.0cd
MS	5.1cd	5.4cd	7.5b	8.1a
	Jumlah akar			
1/2MS	1.3abc	1.4a	1.3ab	1.3ab
MS	1.2c	1.2c	1.3ab	1.2c

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada baris dan kolom yang sama pada tiap peubah menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT pada taraf $\alpha = 5\%$

sumber energi yang langsung dapat diserap oleh tunas untuk proses pertumbuhan dan perkembangan, pembentuk metabolit, pembentukan polimer dan regulator siklus sel dan pembelahan sel (Ruan, 2012), sehingga tunas pada media yang mengandung sukrosa 3% lebih tinggi dibandingkan dengan tunas pada media tanpa sukrosa. Demikian juga akar pada media yang mengandung sukrosa 3% dan 2% nyata lebih panjang dibandingkan dengan akar pada media tanpa sukrosa (Tabel 2).

Pertumbuhan relatif pada Tabel 3 menunjukkan bahwa terjadi penurunan jumlah daun dan panjang tunas pada semua perlakuan, sedangkan jumlah akar meningkat pada semua perlakuan media 1/2MS. Panjang akar meningkat pada media 1/2MS + sukrosa 2% dan 1/2MS + sukrosa 3% (Tabel 3). Konsentrasi media MS berpengaruh pada jumlah hara yang akan diperoleh planlet selama dalam kultur. Pengurangan hara pada media menyebabkan eksplan

tumbuh secara lambat, pembentukan daun dan panjang tunas menurun, sedang pembentukan dan pemanjangan akar meningkat sebagai sarana penyerapan hara.

Konsentrasi sukrosa berpengaruh terhadap pertumbuhan planlet karena sukrosa merupakan sumber energi dan karbon (Javed dan Ikram, 2008), dan regulator siklus sel yang berpengaruh terhadap pembelahan sel (Ruan, 2012). Tanaman yang mendapat sukrosa lebih tinggi mempunyai pertumbuhan yang lebih baik dan sebaliknya.

Berdasarkan visual kultur dan persentase pertumbuhan relatif, media terbaik untuk konservasi pamelos selama tujuh bulan adalah media MS + sukrosa 0%. Pada media ini terjadi penghambatan pembentukan daun 37%, pemanjangan tunas 75% dan pemanjangan akar 49.4% (Tabel 3). Planlet yang dikonservasi pada media tersebut tetap dapat tumbuh dengan lambat, karena planlet yang tumbuh pada media tanpa sukrosa dapat bersifat autotrof, berfotosintesis guna memenuhi kebutuhan karbon dan energinya dengan memanfaatkan CO₂ hasil respirasi (Thorpe *et al.*, 2008). CO₂ merupakan sumber karbon untuk pembentukan metabolit primer dan sekunder dalam tanaman (Kelm *et al.*, 2005)

Tabel 2. Pertambahan tinggi tunas dan panjang akar pamelos tujuh bulan setelah konservasi pada konsentrasi media MS dan sukrosa yang berbeda

Perlakuan	Pertambahan tinggi tunas (cm)	Panjang akar (cm)
Konsentrasi sukrosa (%)		
0	0.5b	7.0b
1	1.0ab	10.2ab
2	1.1ab	13.3a
3	1.6a	13.7a
Konsentrasi media		
1/2MS	0.6b	12.9a
MS	1.4a	9.2b

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom dan perlakuan yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT pada taraf $\alpha = 5\%$

Konservasi In Vitro Pamelos dengan Menggunakan Osmotikum dan Retardan

Secara visual semua tunas mampu tumbuh menjadi planlet pada media konservasi, dengan bentuk yang normal (Gambar 2). Akan tetapi, planlet yang diberi perlakuan paclobutrazol memiliki akar pendek dan diameter akar membesar, karena paclobutrazol menyebabkan penebalan lapisan korteks pada akar (Tsegaw *et al.*, 2005).

Media yang mengandung kombinasi osmotikum dan retardan berpengaruh sangat nyata terhadap penambahan jumlah daun, pemanjangan tunas dan panjang akar. Planlet yang memiliki pertumbuhan terbaik tumbuh pada media MS + sukrosa 3% + paclobutrazol 0 ppm, sedang planlet yang paling terhambat pertumbuhannya tumbuh pada media MS + sorbitol 2% + paclobutrazol 15 ppm (Tabel 4).

Hasil pengamatan pada Tabel 4 menunjukkan bahwa pertumbuhan planlet pada media yang mengandung sorbitol

Tabel 3. Persentase pertumbuhan relatif pamelos 'Adas Duku' pada konservasi dengan konsentrasi media MS dan konsentrasi sukrosa tujuh bulan setelah konservasi

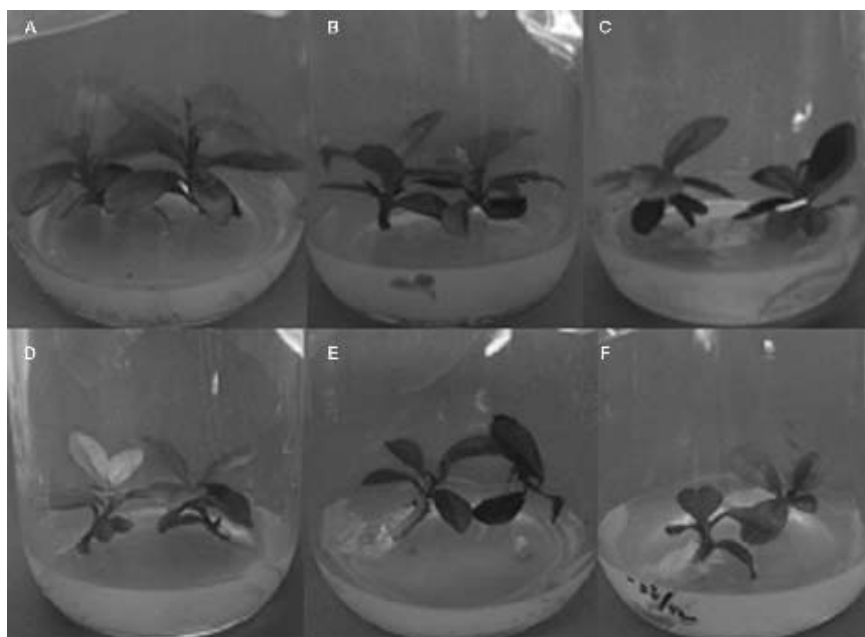
Peubah	Konsentrasi media	Konsentrasi sukrosa (%)			
		0	1	2	3
..... Pertumbuhan relatif (%)					
Panjang tunas (cm)	1/2MS	-79.2	-75.0	-66.7	-70.8
	MS	-75.0	-41.7	-41.7	0.0 (kontrol)
Pertambahan daun (helai)	1/2MS	-49.4	-23.5	-32.1	-38.3
	MS	-37.0	-33.3	-8.6	0.0 (kontrol)
Panjang akar (cm)	1/2MS	-27.2	-13.6	+55.7	+42.7
	MS	-49.4	-5.2	-19.6	0.0 (kontrol)
Jumlah akar	1/2MS	+7.1	+35.7	+21.4	+14.3
	MS	0.0	-14.3	+21.4	0.0 (kontrol)

Keterangan: Tanda (-) = pertumbuhan menurun; tanda (+) = pertumbuhan meningkat

2% lebih terhambat dibandingkan planlet yang tumbuh pada media yang mengandung sukrosa 3% pada konsentrasi paclobutrazol yang sama. Hal ini disebabkan sukrosa merupakan sumber karbon dan energi yang paling baik dan dapat dimanfaatkan semua tanaman (Javed dan Ikram, 2008). Sukrosa dalam media akan dihidrolisa oleh enzim intervasa (Montalvo-Peniche *et al.*, 2007) menjadi monosakarida selama masa kultur sehingga lebih mudah digunakan. Dengan demikian, efek osmotik sukrosa pada media akan berkurang seiring berjalannya waktu. Sorbitol tidak dapat dimanfaatkan oleh semua tanaman (Montalvo-Peniche *et al.*, 2007). Sorbitol dapat ditranslokasi secara efektif pada apel dan kerabatnya serta jagung karena dapat dikonversi menjadi glukosa oleh enzim sorbitol oksidase atau menjadi

fruktosa oleh enzim sorbitol dehidrogenase (Traore dan Guiltinan, 2006). Keberadaan kedua enzim tersebut pada tanaman pabelo diduga sangat sedikit, sehingga sorbitol yang ada dalam media tumbuh memerlukan waktu lama untuk dikonversi menjadi glukosa dan fruktosa yang dapat digunakan langsung sebagai sumber karbon dan energi. Keberadaan sorbitol yang tidak terkonversi pada media akan menyebabkan cekaman osmotik pada tanaman yang akan menginduksi pertumbuhan lambat.

Paclobutrazol dalam media konservasi berperan untuk menghambat pembentukan gibberelin (Jaleel *et al.*, 2007), sehingga planlet yang tumbuh pada media yang mengandung paclobutrazol lebih pendek dan terhambat pemanjangan akarnya. Paclobutrazol juga meningkatkan



Gambar 2. Keragaan visual planlet yang berasal dari tunas adventif pabelo 'Adas Duku' tujuh bulan setelah konservasi dengan osmotikum dan retardan. (A) MS + sukrosa 3% + paclobutrazol 0 ppm; (B) MS + sukrosa 3% + paclobutrazol 7.5 ppm; (C) MS + sukrosa 3% + paclobutrazol 15 ppm; (D) MS + sorbitol 2% + paclobutrazol 0 ppm; (E) MS + sorbitol 2% + paclobutrazol 7.5 ppm; (F) MS + sorbitol 2% + paclobutrazol 15 ppm

Tabel 4. Pengaruh perlakuan media kombinasi osmotikum dan retardan terhadap pertumbuhan pabelo 'Adas Duku' tujuh bulan setelah konservasi

Komposisi media	Pertambahan daun (helai)	Tinggi tunas (cm)	Panjang akar (cm)	Jumlah akar
Sukrosa 3%				
Paclo. 0 ppm	6.5a	1.7a	11.8a	1.0
Paclo. 7.5 ppm	6.0a	1.3ab	1.8bc	0.8
Paclo. 15 ppm	2.5bc	0.4cd	2.5bc	1.0
Sorbitol 2%				
Paclo. 0 ppm	4.0ab	0.9bc	3.8b	0.7
Paclo. 7.5 ppm	1.0cd	0.6cd	2.3bc	0.8
Paclo. 15 ppm	0.0d	0.2d	1.0c	0.5a

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT pada taraf $\alpha = 5\%$; Paclo = paclobutrazol

kandungan klorofil (Ribeiro *et al.*, 2012), sehingga tanaman yang diberi perlakuan paclobutrazol menjadi lebih hijau. Persentase pertumbuhan relatif menunjukkan bahwa terjadi penurunan jumlah daun, tinggi tunas, panjang dan jumlah akar pada semua perlakuan (Tabel 5). Planlet yang tumbuh pada media MS + sorbitol 2% + paclobutrazol 15 ppm paling terhambat pertumbuhannya, namun secara visual kultur dan persen pertumbuhan relatif maka media konservasi terbaik menggunakan osmotikum dan retardan adalah media MS + sorbitol 2% + paclobutrazol 7.5 ppm. Media tersebut dapat menghambat penambahan jumlah daun 84.8%, tinggi tunas 65.1%, panjang akar 81% dan jumlah akar 20%.

Pemulihan dan Aklimatisasi Pamelo setelah Konservasi secara In Vitro

Pemulihan pada media MS0 menunjukkan bahwa media konservasi yang digunakan tetap dapat memelihara kemampuan kultur pamelo untuk tumbuh normal. Sebagian

besar tunas yang berasal dari konservasi dengan konsentrasi komposisi media MS dan konsentrasi sukrosa dapat membentuk daun baru satu bulan setelah dipindahkan ke media pemulihan (Tabel 6), sedangkan tunas yang berasal dari konservasi dengan osmotikum dan retardan seluruhnya dapat membentuk daun baru. Hal ini didukung oleh keberhasilan aklimatisasi, dimana seluruh planlet (100%) dapat tumbuh pada media aklimatisasi (Tabel 6).

Keberhasilan aklimatisasi ditentukan oleh kondisi planlet dan media aklimatisasi. Umumnya, tanaman hasil kultur *in vitro* dicirikan dengan berkurangnya pembentukan lilin epikutikular yang menyebabkan transpirasi berlebihan saat aklimatisasi (Hazarika *et al.*, 2002). Media campuran tanah liat, sekam dan kompos mampu memelihara kelembaban media dan suplai air tanaman saat aklimatisasi. Transpirasi juga berkurang pada daun yang berasal dari perlakuan paclobutrazol, karena daun menjadi lebih tebal (Tekalign *et al.*, 2005), akibat meningkatnya lapisan lilin epikutikular dan epidermis daun (Tsegaw *et al.*, 2005).

Tabel 5. Persentase pertumbuhan relatif pamelo ‘Adas Duku’ pada konservasi dengan media osmotikum dan retardan pada tujuh bulan setelah konservasi

Komposisi media	Jumlah daun (helai)	Tinggi planlet (cm)	Panjang akar (cm)	Jumlah akar
Sukrosa 3%				
Paclo. 0 ppm	0.0 (kontrol)	0.0 (kontrol)	0.0 (kontrol)	0.0 (kontrol)
Paclo. 7.5 ppm	-7.7	-22.7	-84.6	-20.0
Paclo. 15 ppm	-62.0	-75.0	-79.0	0.0
Sorbitol 2%				
Paclo. 0 ppm	-38.0	-46.0	-68.0	-30.0
Paclo. 7.5 ppm	-84.6	-65.1	-81.0	-20.0
Paclo. 15 ppm	-100.0	-87.0	-92.0	-50.0

Keterangan: Paclo = paclobutrazol. Kontrol = MS + sukrosa 3% + paclobutrazol 0 ppm; Tanda (-) = pertumbuhan menurun

Tabel 6. Pemulihan dan aklimatisasi pamelo ‘Adas Duku’ setelah konservasi dengan konsentrasi komposisi media MS dan konsentrasi sukrosa

Peubah yang diamati	Asal konsentrasi media	Asal konsentrasi sukrosa (%)			
		0	1	2	3
% planlet membentuk daun baru setelah pemulihan 1 BSK	1/2MS	67	83	83	83
	MS	67	83	83	83
% tumbuh setelah aklimatisasi	1/2MS	100	100	100	100
	MS	100	100	100	100

Keterangan: Planlet yang digunakan enam planlet; BSK = bulan setelah kultur

KESIMPULAN

Penurunan konsentrasi media dan konsentrasi sukrosa dapat menghambat penambahan jumlah daun dan tinggi tunas, namun meningkatkan panjang dan jumlah

akar. Media perlakuan yang mengandung osmotikum dan retardan berpengaruh terhadap tinggi tunas, jumlah daun dan panjang akar. Media MS + sorbitol 2% + paclobutrazol 7.5 ppm merupakan media yang paling sesuai untuk konservasi *in vitro* pamelo berdasarkan pertumbuhan relatif, visual dan

vigor kultur serta keberhasilan pemulihan dan aklimatisasi. Pamelon yang telah dikonservasi dapat tumbuh normal kembali di media pemulihan MS0 dan dapat diaklimatisasi dengan media campuran tanah liat:sekam:kompos = 2:1:1.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kementerian Pertanian yang telah memberikan dana melalui Tim Penelitian KKP3T T.A. 2009 dan Kementerian Negara Riset dan Teknologi yang telah memberikan dana melalui Tim Penelitian Program Insentif Riset Terapan T.A. 2010.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed, M., M.A. Anjum. 2010. In vitro storage of some pear genotypes with the minimal growth technique. Turk. J. Agric. For. 34:25-32.
- Ahmed, M., M.A. Anjum, A.H. Shah, A. Hamid. 2010. In vitro preservation of Pyrus germplasm with minimal growth using different temperature regimes. Pak. J. Bot. 42:1639-1650.
- Catana, R., E.M. Mitoi, F. Helepciuc, I. Holobiuc. 2010. In vitro conservation under slow growth conditions of two rare plant species from Caryophyllaceae family. Electronic J. Biol. 6:86-91.
- Dewi, I.S., G. Jawak, I. Roostika, M. Sabda, B.S. Purwoko, W.H. Adil. 2010. Konservasi *in vitro* tanaman jeruk besar (*Citrus maxima* (Burm.) Merr.) kultivar Srinonyong menggunakan osmotikum dan retardan. J. AgroBiogen 6:84-90.
- Gopal, J., N.S. Chauhan. 2010. Slow growth *in vitro* conservation of potato germplasm at low temperature. Potato Res. 53:141-149.
- Hazarika, B.N., V.A. Parthasarathy, V. Nagaraju. 2002. Action of paclobutrazol in acclimatizing micropropagated citrus plantlets. Indian J. Agric. Res. 36:57-60.
- Jaleel, C.A., P. Manivannan, B. Sankar, A. Kishorekumar, S. Sankari, R. Panneerselvam. 2007. Paclobutrazol enhances photosynthesis and ajmalicine production in *Catharanthus roseus*. Process Biochem. 42:1566-1570.
- Javed, F., S. Ikram. 2008. Effect of sucrose induced osmotic stress on callus growth and biochemical aspect of two wheat genotypes. Pak. J. Bot. 40:1487-1495.
- Kelm, M.A., J.A. Flore, C.W. Beninger. 2005. Effect of elevated level CO₂ and leaf area removal on sorbitol, sucrose and phloridzin content in 'Gala'/Malling 9 apple leaves. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 130:326-330.
- Marga F., M. Grandbois, D.J. Cosgrove, T.I. Baskin. 2005. Cell wall extension results in the coordinate separation of parallel microfibrils, evidence from scanning electron microscopy and atomic force microscopy. Plant J. 43:181-190.
- Montalvo-Peniche, M.C., L.G. Iglesias-Andreu, J.O. Mijangos-Cortes, S.L. Nahuat-Dzib, F. Barahona-Perez, A.Canto-Flick, N. Santana-Buzzy. 2007. In vitro germplasm conservation of Habanero Pepper (*Capsicum chinense* Jacq.). HortScience 42:1247-1252.
- Rahayu, A., S. Susanto, B.S. Purwoko, I.S. Dewi. 2012. Karakter morfologi dan kimia kultivar pamelon berbiji dan tanpa biji. J. Agron. Indonesia 40:48-55.
- Rahmawati, M., S.A. Aziz, D. Dinarti, D. Sastra. 2004. Pengaruh BAP dan sukrosa terhadap perbanyakan jahe emprit. Bul. Agron. 32:37-43.
- Rao, N.K. 2004. Plant genetic resources: Advancing conservation and use through biotechnology. Afr. J. Biotechnol. 3:136-145.
- Ribeiro, D.M., W.L. Araujo, A.R. Fernie, J.H.M. Schippers, B. Mueller-Roeber. 2012. Translational and metabolome effects triggered by gibberellins during rosette growth in Arabidopsis. J. Exp. Bot. 63:2769-2786.
- Rose, R.J., X.D. Wang, K.E. Nolan, B.G. Rolfe. 2006. Root meristems in *Medicago truncatula* tissue culture arise from vascular-derived procambial-like cells in a process regulated by ethylene. J. Exp. Bot. 57:2227-2235.
- Ruan, Y. 2012. Signaling role of sucrose metabolism in development. Mol. Plant 5:763-765.
- Shibli, R.A., M.A. Shatnawi, W.S. Subaih, M.M. Ajlouni. 2006. In vitro conservation of plant genetic resources: A review. World J. Agric. Sci. 2:372-382.
- Tekalign, T., S. Hammes, J. Robbertse, 2005. Exogenous application of Paclobutrazol induced leaf stem and root anatomical modifications in potato. HortScience 40:1343-1346.
- Thorpe, T., C. Stasolla, E.C. Yeung, G.J. de Klerk, A. Roberts, E.F. George. 2008. The components of plant tissue culture media II: organic additions, osmotic and pH effects, and support systems. p. 115-174. In E.F. George, M.A. Hall, G.J. de Klerk (Eds.). Plant Propagation by Tissue Culture Vol. I The Background. Springer, Dordrecht.

Traore, A., M.J. Gultinan. 2006. Effect of carbon source and explant type on somatic embryogenesis of four cacao genotypes. HortScience 41:753-758.

Tsegaw, T., S. Hammes, J. Robbertse. 2005. Paclobutrazol-induced leaf, stem and root anatomical modification in potato. HortScience 40:1343-1346.