

**PENGEMBANGAN METODE FUSI PROTOPLAS DENGAN TINGKAT
KEBERHASILAN PEMBENTUKAN FUSAN 25% UNTUK
MEMPEROLEH TANAMAN TRIPLOID JERUK GARUT TANPA BIJI
DENGAN PRODUKTIVITAS 15 TON/HA PADA UMUR 8 TAHUN :
ISOLASI PROTOPLAS, KULTUR PROTOPLAS, DAN REGENERASI
PROTOPLAS HASIL FUSI**

(Development of Protoplast Fusion Methods with 25% Efficiency Fusan
Formation and to get Garut Tangerine Triploid Seedless with 15 ton/ha
Productivity at 8 Years Old)

A Purwito¹⁾, A Husni, M Kosmiatin²⁾

¹⁾Dep. Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian IPB

²⁾Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan
Sumber Daya Genetik Pertanian

ABSTRAK

Jeruk keprok adalah jeruk lokal unggulan Indonesia yang termasuk dalam *true species* dari genus Citrus. Jeruk ini rasanya manis dan tetapi bijinya relatif banyak (15-23 biji/buah). Perbaikan jeruk tanpa biji dapat dilakukan dengan manipulasi tingkat ploidi. Tanaman dengan tingkat ploidi yang triploid biasanya mempunyai buah yang steril (tanpa biji). Hibridisasi somatik melalui teknik fusi protoplas adalah terobosan teknik yang memungkinkan diperoleh tanaman dengan tingkatan ploidi yang meningkat. Strategi ini dilakukan pada perakitan jeruk keprok triploid karena teknik isolasi, fusi dan regenerasi protoplas jeruk keprok dengan tingkat ploidi diploid telah dikuasai. Bahan tanaman yang digunakan untuk produksi sel haploid embriogenik adalah Bahan tanaman kuncup bunga jeruk keprok diambil dari tanaman tua (\pm 20 tahun) dan tanaman okulasi dari tanaman tua (\pm 8 tahun) serta populasi sel haploid jeruk keprok Batu 55 dan keprok Garut. Populasi sel haploid disubkultur berulang setiap 4 minggu pada media *double layer*, yaitu media padat MT+pikloram+ekstrak malt dan media cair yang ditambahkan adalah dasar MT dengan zat pengatur tumbuh BA (0-3 mg/l) dan Pikloram 0-20 mg/l serta ditambahkan ekstrak malt 500 mg/l. Hasil penelitian diperoleh bahwa Eksplan kuncup bunga yang berasal dari tanaman yang lebih muda (8 tahun) lebih baik responnya dibandingkan eksplan yang berasal dari tanaman yang lebih tua (>30 tahun). Pra perlakuan dingin lebih dari 3 hari lebih respon membentuk kalus dari pada praperlakuan kurang dari 3 hari. Formulasi enzim terbaik untuk mengisolasi protoplas diploid (kalus dan daun in vitro) dan protoplas haploid (polen) adalah macerozim 0,5% dan selulase 0,5% dengan masa inkubasi enzim 16 jam (*overnight*). Konsentrasi PEG 20% memberikan jumlah fusan yang lebih banyak dibanding dengan PEG 4% baik yang biner fusi, homo fusi, dan multi fusi. Regenerasi pembentukan dinding sel fusan, pembelahan sel, dan pembentukan suspensi sel terbaik diperoleh dari formulasi media MW+EM 500 mg/l+2.4 D 0.1 mg/l+BA 3 mg/l.

Kata kunci : Citrus reticulata, tanpa biji, triploid, fusi, protoplas haploid, protoplas diploid.

ABSTRACT

Tangerine is a citrus seed Indonesia and including a true species of the genus Citrus. This orange tastes sweet but relatively many seeds fruit seed (15-23 seeds/fruit). Seedless citrus improvement can be done by manipulating the level ploidy. Plants with triploid ploidy level usually have sterile fruit (seedless). Somatic hybridization by fusion technique is a breakthrough technique that allows the plant generated by an increased level ploidy. The strategy chosen to assemble the triploid tangerine because the technique

of protoplast isolation, fusion and regeneration of tangerine with diploid level has been mastered ploidy. The plant material used for the production of embryogenic haploid cell is a tangerine flower buds were taken from older plants (± 20 years) and grafting plants from old plants (± 8 years) and the haploid cell population tangerine of Batu 55 and Garut and the haploid cell population of BA 55 and Garut tangerine. Haploid cell population repeatedly subcultured every 4 weeks in a double layer media: solid media MT + picloram + malt extract and liquid media, and liquid medium that added is the basic of the MT with growth regulators BA (0-3 mg / l) and Picloram 0-20 mg / l and add malt extract 500 mg/l. The plant material used for the production of diploid callus is a population of diploid cells induced from embryonic nucellar tangerine. Callus induction conducted on MS medium MW + vitamin + BA 3 mg / l malt extract + 500mg / l. The population of cells/callus that formed were subcultured every 4 weeks on MS or MW medium + vitamin + malt extract 500mg / l. Flower bud explants derived from young plants (8 years) responded better than explants from older plants (> 30 years). Pre cold treatment for more than 3 days on the response forming callus from pretreatment less than 3 days. The best enzyme formulations for the isolation of protoplasts from diploid (callus and leaves in vitro) and protoplast Haploid (pollen) is macerozim 0.5% and 0.5% cellulase enzyme with incubation period of 16 hours (overnight). With the concentration of PEG of 20% gives fusan amounted to more than 4% PEG two binary fusion, fusion homo, and multi-fusion. Regeneration of cell wall formation and cell suspension fusan best media formulations obtained from MW+EM 500 mg / l 2.4 D 0.1 mg / l+BA 3 mg / l.

Keywords : Citrus reticulata, seedless, triploid, fusion, haploid protoplasts, diploid protoplasts

PENDAHULUAN

Jeruk keprok adalah salah satu jeruk lokal unggulan Indonesia yang termasuk dalam *true species* dari genus Citrus. Jeruk ini rasanya cukup manis dan hampir mendekati kategori tipe jeruk yang sesuai dengan kebutuhan pasar dunia untuk konsumsi dalam keadaan segar. Akan tetapi jeruk tersebut masih mempunyai biji yang relatif banyak, berkisar antara 15-23 biji per buah sehingga kalah bersaing dengan jeruk produk negara lain. Hal ini terbukti dengan maraknya buah impor jeruk di pasar lokal mulai dari kaki lima, toko dan supermarket yang menekan produk jeruk lokal sehingga menjadi terpuruk. Hal ini mengakibatkan kerugian bagi petani jeruk di Indonesia. Keadaan ini diperparah dengan mulai diberlakukannya ASEAN FTA/AFTA yang disusul dengan ASEAN-China FTA sehingga pasar sesama ASEAN termasuk Indonesia semakin terbuka bagi produk-produk pertanian dari negara-negara produsen jeruk (China, Amerika Serikat, Australia, dan Pakistan) yang tingkat pertumbuhannya sangat pesat dan mempunyai harga yang relatif lebih murah (Hutabarat dan Setyanto, 2007).