

**LAPORAN PENELITIAN  
PENELITIAN PENELITI MUDA (LITMUD) UNPAD**

**MULTIPLIKASI *IN VITRO*  
JERUK KEPROK GARUT (*Citrus nobilis* var. *chrysocarpha*)  
UNTUK PERBANYAKAN BIBIT BEBAS PENYAKIT  
SECARA MASSAL**

Oleh :

**Erni Suminar, S.P.  
Denny Sobardini, Dra.,MS.  
Murgayanti, S.P., M.P.**

**Dibiayai oleh Dana DIPA Universitas Padjadjaran  
Tahun Anggaran 2007  
Berdasarkan SPK No. 260/J06.14/LP/PL/2007  
Tanggal 3 April 2007**

**LEMBAGA PENELITIAN  
UNIVERSITAS PADJADJARAN**



**FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS PADJADJARAN  
NOPEMBER 2007**

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

Jeruk keprok Garut dikategorikan jeruk keprok terbaik di Indonesia. Jeruk ini disebut keprok Paseh. Tantangan berat dalam berusahatani jeruk, khususnya jeruk keprok adalah serangan penyakit *Citrus Phloem Vein Degeneration* (CPVD) yang menghancurkan pertanaman jeruk di berbagai daerah di Indonesia (Rukmana dan oesman, 2003).

Untuk mengatasi penyakit CVPD, saat ini telah banyak dihaislkan bibit jeruk bebas CVPD melalui pengembangan teknologi “shoot-tip-grafting” atau *micrografting* di laboratorium, kemudian dikembangkan di lapangan melalui Blok Fondasi dan Blok Penggandaan Mata Tempel (BPMT). Teknologi produksi bibit unggul tanaman jeruk keprok harus selalu menggunakan pohon induk unggul dan pembiakan secara vegetatif, seperti okulasi, enten, susuan dan cangkok. Perbanyakan tanaman jeruk pada skala komersial umumnya dilakukan cara okulasi dimana batang bawah dipilih dari benih yang emmpunyai kecocokan (kompatibilitas) sambung yang baik, sedangkan batang atas dipilih dari varietas unggul, pohon yang bermutu tinggi, sehat dan pertumbuhannya bagus (Soelarso, 1996).

Pengembangan agroindustri jeruk diawali dengan pembibitan, sebab keberhasilan pengusahaan tanaman jeruk terutama yang berskala usaha industri sangat ditentukan oleh ketersediaan bibit bermutu baik dalam jumlah yang mencukupi. Bibit jeruk yang bermutu baik adalah bibit yang bebas penyakit

(sehat), mirip induknya (*true to type*), harganya terjangkau dan tahap penangkaran telah dilakukan dengan benar dan tepat melalui program sertifikasi bibit. Bibit jeruk bebas penyakit adalah bibit yang bebas dari patogen sistemik yaitu : *Citrus Vein Phloem Degeneration (CVPD)*, *Citrus Tristeza Virus (CTV)*, *Woody Gall (Vein enation)*, *Exocortis*, *Xyloporosis*, *Psorosis*, dan *Tatter leaf*.

Populasi jeruk garut hingga akhir tahun 2004 lalu berjumlah 249.461 pohon di lahan seluas 699.92 hektar, namun dari jumlah tersebut jenis jeruk keprok garut hanya mencapai 113.678 pohon (33%) sementara sisanya berupa jeruk keprok siem dan jenis lainnya mencapai 235.783 (67%) (Rachmat, 2005 dalam Permana, 2006)

Masa kejayaan jeruk garut pada tahun 1987, dengan jumlah populasi saat itu mencapai 1.300.000 pohon dengan luas areal seluas 2.600 hektar. Pada tahun 1992 mengalami penurunan populasi dan hanya berjumlah 52.000 pohon dengan produksi sekitar 520 ton per tahun, dan pada tahun 2005 populasinya bertambah mencapai 381.850 pohon dengan luas areal 763.70 ha (Permana, 2006).

Pemerintah Kabupaten Garut merencanakan penanaman jeruk garut hingga tahun 2010 mencapai 2600 hektar. Untuk menunjang kegiatan ini diperlukan bibit bebas penyakit dalam jumlah besar pada waktu bersamaan .

Perbanyakan secara konvensional sudah dilakukan diantaranya dengan dicangkok, namun tanaman hasil cangkok kurang kuat karena tidak memiliki akar tunggang, selain itu tanaman yang dihasilkan satu dahan hanya dapat menghasilkan satu tanaman baru. Metode lainnya yaitu dengan cara okulasi dimana pohon bagian bawah diambil dari jenis jeruk sitrun, sementara bagian

atasnya pohon jeruk garut, hasil yang diperoleh perakaran cukup kuat karena memiliki akar tunggang, namun jumlah yang dihasilkan masih relatif sedikit (Wawan, 2003).

Untuk tujuan komersial dibutuhkan bibit yang sehat dalam jumlah besar dan homogen yang ternyata sulit diperoleh melalui perbanyakan konvensional. Teknik kultur jaringan dapat dimanfaatkan dalam membantu usaha konservasi dan perbanyakan tanaman klonal secara kultur jaringan dapat diupayakan untuk meningkatkan populasi tanaman. Pada jeruk-jerukan konservasi plasma nutfah *in vitro* diusulkan oleh Marin & Duran-Vila (1991), melalui siklus perbanyakan tunas dari eksplan buku batang pengakaran dan pemanjangan tunas. Dengan metoda ini subkultur bisa diperpanjang sampai 12 bulan.

Berdasarkan uraian tersebut di atas, maka perlu diadakan untuk penelitian sebagai langkah awal penyediaan bibit bebas penyakit dalam jumlah yang banyak dan dalam waktu relatif singkat.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

Pada prinsipnya metode kultur jaringan merupakan cara untuk memperbanyak protoplas atau sel atau organ dalam media tumbuh aseptik (yang mengandung formula buatan) dengan lingkungan yang terkendali (Thorpe, 1981; Bhojwani dan Razdan 1983). Gunawan (1988) menyatakan bahwa dasar pemikiran penggunaan metode kultur jaringan adalah dalam pembuktian teori totipotensi sel. Totipotensi sel adalah kemampuan sel untuk tumbuh dan berkembang menjadi individu yang sempurna jika ditempatkan dalam lingkungan yang sesuai dan terkendali (Murashige, 1974). Arah pertumbuhan dan perkembangan suatu sel sangat dipengaruhi oleh lingkungan tumbuhnya, zat pendorong pertumbuhan yang ditambahkan, serta dipengaruhi oleh media tumbuhnya. Ketepatan pemilihan dan penggunaan media kultur sangat menentukan keberhasilan penggunaan teknik kultur jaringan.

Menurut Gamborg dan Shyluk (1981) serta Pierik (1987) keberhasilan kultur jaringan dipengaruhi oleh zat pengatur tumbuh tanaman, nutrisi, dan sumber eksplan yang digunakan serta lingkungan fisik kultur jaringan tersebut.

Penelitian-penelitian kultur *in vitro* yang dilakukan terhadap tanaman jeruk telah banyak dilakukan oleh para ahli, karena ternyata banyak permasalahan-permasalahan yang dijumpai pada tanaman jeruk serta diharapkan dapat dipecahkan melalui teknik kultur *in vitro*. Para ahli tersebut telah banyak melakukan percobaan untuk berbagai tujuan, dan melalui bermacam-macam perlakuan seperti eksplan, media, fitohormon dan lain-lain. Tujuan penelitian

kultur *in vitro* tanaman jeruk yang penting diantaranya adalah pertunasan dan perakaran.

Griblat (1972) menggunakan potongan kotiledon yang berasal dari kultur *in vitro* sebagai eksplan. Media dasar yang digunakan adalah media MS. Inisiasi tunas aksimum (melalui pembentukan kalus terlebih dahulu) diperoleh dengan penambahan BA 0.1 sampai 1.0 mg L<sup>-1</sup> dengan kombinasi 0.1 mg L<sup>-1</sup> NAA, namun persentase tunas yang muncul adalah paling kecil. Sementara itu kalus lebih sedikit muncul pada penambahan 10 mg L<sup>-1</sup> BA dan 1.0 mg L<sup>-1</sup> NAA, tetapi persentase inisiasi tunasnya maksimum.

Barlas dan Skene (1982) juga menggunakan media MS sebagai media dasar. Dengan menggunakan eksplan *in vitro*, baik dari bagian juvenil maupun mature node menstimuli perbanyakan tunas dengan pemakaian BA sebanyak 10 μM (2.2 mg L<sup>-1</sup>), tanpa melalui pembentukan kalus terlebih dahulu. Peneliti lain yang menggunakan media MS sebagai media dasar dan epikotil kultur *in vitro* sebagai eksplan adalah Edriss dan Burger (1984). Pembentukan tunas terjadi langsung dari potongan epikotil pada pemakaian 0.5 mg L<sup>-1</sup> BA + 0.1 mg L<sup>-1</sup> NAA. Eksplan berupa potongan akar akan menghasilkan pembentukan tunas pada penambahan 10 mg L<sup>-1</sup> BA + 1.0 mg L<sup>-1</sup> NAA. Eksplan berupa potongan akar akan menghasilkan pembentukan tunas pada penambahan 10 mg L<sup>-1</sup> BA + 1.0 mg L<sup>-1</sup> NAA, sedangkan pada pemakaian 0.1 – 10 mg L<sup>-1</sup> BA + 10 mg L<sup>-1</sup> NAA akan diperoleh pembentukan kalus 100%.

### **BAB III**

#### **TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN**

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk penggunaan sitokinin BAP, Kinetin dan NAA dalam medium B5 untuk multiplikasi tunas jeruk keprok garut dalam rangka penyediaan bibit bebas penyakit dalam jumlah besar.

Hasil penelitian ini sangat bermanfaat untuk membantu program pemerintah Garut yang mencanangkan penanaman jeruk garut jeruk keprok garut (*Citrus nobilis var. chrysocarpha*) secara massal dengan sumber bibit yang benar-benar bebas dari penyakit.

## **BAB IV**

### **METODE PENELITIAN**

#### **1. Tempat dan Waktu**

Percobaan akan dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Teknologi Benih Fakultas Pertanian Universitas Padjadjaran selama 8 bulan.

#### **2. Bahan dan Alat**

Bahan yang digunakan, yaitu ~~se~~yawa kimia penyusun media B5 (Gamborg) yang diberi tambahan (mg/l) : thiamine HCl 0.4; nicotinic acid 0.5; pyridoxin HCl 0.5; glycine 2; sukrosa 30.000; agar 8.000; NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 170.

Eksplan berasal dari benih dan tanaman induk di lapangan yang ditanam dalam media induksi yaitu media MS tanpa penambahan zat pengatur tumbuh baik sitokinin maupun NAA.

Alat-alat yang digunakan adalah botol kultur, *petridish*, pinset, *scalpel*, labu ukur, erlenmeyer, digital pH meter, *hot plate*, *magnetic stirrer*, *autoclave*, *laminar air flow cabinet* .

#### **3. Rancangan Percobaan**

Metode yang digunakan pada percobaan tahap II, adalah metode percobaan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap.



Media Pertumbuhan Tunas, terdiri dari 12 kombinasi perlakuan yang diulang 3 kali dan setiap ulangan terdiri dari 3 unit percobaan dengan kombinasi sebagai berikut :

A	:	0.5	mg L <sup>-1</sup>	BAP	+	0.5	mg L <sup>-1</sup>	Kinetin	+	0.5	mg L <sup>-1</sup>	NAA
B	:	0.5	mg L <sup>-1</sup>	BAP	+	0.5	mg L <sup>-1</sup>	Kinetin	+	1.0	mg L <sup>-1</sup>	NAA
C	:	0.5	mg L <sup>-1</sup>	BAP	+	1.0	mg L <sup>-1</sup>	Kinetin	+	0.5	mg L <sup>-1</sup>	NAA
D	:	0.5	mg L <sup>-1</sup>	BAP	+	1.0	mg L <sup>-1</sup>	Kinetin	+	1.0	mg L <sup>-1</sup>	NAA
E	:	1.0	mg L <sup>-1</sup>	BAP	+	0.5	mg L <sup>-1</sup>	Kinetin	+	0.5	mg L <sup>-1</sup>	NAA
F	:	1.0	mg L <sup>-1</sup>	BAP	+	0.5	mg L <sup>-1</sup>	Kinetin	+	1.0	mg L <sup>-1</sup>	NAA
G	:	1.0	mg L <sup>-1</sup>	BAP	+	1.0	mg L <sup>-1</sup>	Kinetin	+	0.5	mg L <sup>-1</sup>	NAA
H	:	1.0	mg L <sup>-1</sup>	BAP	+	1.0	mg L <sup>-1</sup>	Kinetin	+	1.0	mg L <sup>-1</sup>	NAA
I	:	2.0	mg L <sup>-1</sup>	BAP	+	0.5	mg L <sup>-1</sup>	Kinetin	+	0.5	mg L <sup>-1</sup>	NAA
J	:	2.0	mg L <sup>-1</sup>	BAP	+	0.5	mg L <sup>-1</sup>	Kinetin	+	1.0	mg L <sup>-1</sup>	NAA
K	:	2.0	mg L <sup>-1</sup>	BAP	+	1.0	mg L <sup>-1</sup>	Kinetin	+	0.5	mg L <sup>-1</sup>	NAA
L	:	2.0	mg L <sup>-1</sup>	BAP	+	1.0	mg L <sup>-1</sup>	Kinetin	+	1.0	mg L <sup>-1</sup>	NAA

Data yang diperoleh dianalisis secara statistik dengan uji F dan berbeda nyata dilanjutkan dengan Uji DNMRT

#### **4. Pelaksanaan Percobaan**

##### **a. Sterilisasi Alat dan Ruang Kultur**

Ruang kultur dibersihkan dan dsterilisasi selama 24 jam dengan menggunakan formalin. Alat-alat yang akan digunakan untuk pembuatan larutan stok media seperti gelas piala, erlenmeyer, dan labu ukur, dcuci dengan menggunakan deterjen dan dibilas dengan akuades steril. Hal yang sama juga dilakukan terhadap botol kultur, cawan petri dan alat-alat tanam. Selanjutnya alat-alat tersebut dsterilisasi dengan menggunakan autoklaf pada tekanan 15 psi dan temperatur 121°C selama 60 menit.

**b. Pembuatan Media**

Pembuatan media dilakukan dengan mengencerkan larutan stok nutrisi dan vitamin sesuai dengan perlakuan. Media ditetapkan pH nya menjadi 5.8. Selanjutnya media dimasak dengan menggunakan *hot plate* dan diaduk dengan *magnetic stirrer* sampai larutan terlihat jernih. Setelah itu media dituang dalam botol kultur sebanyak 10 ml dan kemudian mulut botol ditutup dengan menggunakan *aluminium foil* dan disterilisasi pada tekanan 15 *psi* dan temperatur 121°C selama 20 menit.

**c. Sterilisasi Eksplan dan Penanaman dalam Media Induksi**

Persiapan eksplan pucuk yang berasal dari lapangan mula-mula dicuci dengan menggunakan deterjen sampai berbusa, kemudian dibilas dengan air sampai bersih. Eksplan dimasukkan kedalam larutan  $HgCl_2$  selama 7 menit, kemudian larutan *clorox* 15% selama 7 menit, larutan *clorox* 10% selama 7 menit, dan larutan *clorox* 5% selama 7 menit. Selanjutnya eksplan dibilas dengan akuades steril sampai bersih sebanyak 4-5 kali, selanjutnya pucuk-pucuk tersebut ditanam dalam media MS0.

Sedangkan eksplan benih jeruk dikupas kulitnya kerasnya dengan menggunakan pinset kemudian benih yang telah dikupas tersebut direndam dalam alkohol 70% selama 15 menit, lalu bilas dengan air steril. Setelah itu benih direndam dalam larutan *klorox* 20% selama 7 menit, kemudian dibilas dengan air steril. Benih kemudian direndam lagi dalam larutan *klorox* 10% selama 7 menit, lalu bilas dengan air steril sebanyak tiga kali. Benih kemudian dikecambahkan

dalam botol kultur yang telah berisi media MS tanpa perlakuan zat pengatur tumbuh.

#### **d. Subkultur**

Bahan tanam berupa meristem diambil dari bagian pucuk yang telah diperoleh dari media Tahap I (Media Induksi) kemudian ditanam kedalam media Tahap II, yaitu media B5 dengan berbagai macam perlakuan kombinasi auksin dan sitokinin yang bertujuan untuk multiplikasi tunas *in vitro*.

Adapun komposisi media yang digunakan dalam Percobaan Tahap II, adalah media dasar B5 dengan penambahan sitokinin yang terdiri dari BAP (0.5; 1; 2 mg L<sup>-1</sup>) dan Kinetin (0.5; 1 mg L<sup>-1</sup>), serta auksin jenis NAA (0.5; 1 mg L<sup>-1</sup>). Dari seluruh perlakuan ada 12 kombinasi, dan diberi suplemen sukrose 30 g L<sup>-1</sup>, agar 8 g L<sup>-1</sup>.

#### **e. Media Perakaran**

Kultur yang telah diperoleh dari Media Tahap II, kemudian disubkultur kembali ke Media III dengan tujuan agar tunas-tunas yang dihasilkan memiliki sistem perakaran yang kuat. Media III (Media Perakaran), adalah media MS dengan penambahan 0.25 mg/L BAP, 0.5 mg/L NAA dan 1 mg/L IBA.

### **4. Pengamatan**

Pengamatan yang dilakukan terhadap jumlah tunas (buah), tinggi tunas (mm), jumlah daun (buah), dan jumlah akar (buah).

## **BAB V**

### **HASIL PEMBAHASAN**

#### **Media Tahap I**

Tahap I ini merupakan tahap induksi yang bertujuan untuk memperoleh bahan tanam yang steril. Eksplan yang digunakan adalah meristem dari pucuk yang berasal dari tanaman dewasa dan pucuk yang berasal dari buah jeruk yang diperoleh dari petani di Garut. Dari hasil percobaan tahap ini, ternyata eksplan pucuk yang berasal dari lapangan memiliki kemampuan hidup yang sangat rendah, hal ini disebabkan oleh umur tanaman induk yang sudah dewasa dan tingkat kontaminasi yang relatif lebih tinggi. Lain halnya dengan benih yang berasal dari buah jeruk, memiliki kemampuan untuk hidup yang tinggi, organogenesis terjadi pada saat kultur berumur lima hari dalam media induksi yaitu media MS tanpa penambahan zat pengatur tumbuh baik auksin maupun sitokinin. Wattimena (1983), organogenesis adalah proses pembentukan organ-organ dari sel meristematik yang berasal dari jaringan eksplan atau kalus, dan ini sangat dipengaruhi oleh eksplan, jenis/umur tanaman, media tumbuh, serta zat pengatur tumbuh.

Pada tahap ini meskipun telah berulang kali dicoba, eksplan yang berasal dari lapangan mengalami kematian dan kontaminasi rata-rata mencapai 85%, yang disebabkan oleh jamur dan bakteri. Kontaminasi merupakan salah satu faktor pembatas dalam keberhasilan kultur jaringan yang dapat terjadi setiap saat dalam masa kultur. Kontaminasi biasanya disebabkan oleh cendawan atau bakteri yang berasal dari beberapa penyebab, antara lain: sterilisasi media yang kurang

sempurna, lingkungan kerja dan pelaksanaan yang kurang steril, faktor eksplan, botol kultur atau alat tanam yang kurang steril, ruang kultur yang kotor (spora di udara), kecerobohan dalam pelaksanaan serta serangga atau hewan kecil lain yang berhasil masuk ke dalam botol kultur setelah diletakkan di ruang kultur (Gunawan, 1992).

Kematian fisiologis pada eksplan umumnya terjadi pada minggu pertama hingga minggu ke -8 yang ditandai dengan terhentinya untuk sementara pertumbuhan eksplan kemudian eksplan berubah warna menjadi coklat, sehingga percobaan ke tahap selanjutnya tidak dapat dilakukan. Problem utama yang berkaitan dengan proses pertumbuhan adalah bila eksplan yang ditanam mengalami mati fisiologis. Mati fisiologis biasa disebabkan oleh bahan yang tidak meristematik, tindakan sterilisasi yang berlebihan, media yang tidak cocok atau lingkungan yang tidak mendukung (Santoso dan Nursandi, 2003).

Mati fisiologis dapat juga disebabkan oleh faktor endogen yaitu pengaruh enzim peroksidase dan oksidase yang dapat mengkatalisis terjadinya oksidasi senyawa fenol pada bagian jaringan tanaman yang terluka akibat kegiatan pengambilan eksplan pada saat penanaman. Teroksidasinya senyawa fenol dapat mengakibatkan terjadinya pencoklatan, menyebabkan rendahnya kemampuan eksplan menyerap nutrisi yang tersedia dalam media, menghambat pertumbuhan bahkan dapat menimbulkan kematian eksplan. Hal ini sesuai dengan ungkapan Widiastoety dan Santi (1977) bahwa enzim peroksidase dan oksidase dapat mengkatalis senyawa fenol pada jaringan tanaman yang terluka yang mengakibatkan terganggunya pengambilan nutrisi pada media.

Eksplan benih mulai tumbuh setelah 5 Hari Setelah Tanam (HST) dalam media MS0, kemudian meristem diisolasi pada umur 6 MST dalam MS0 untuk dilanjutkan ke tahap percobaan berikutnya untuk multiplikasi tunas. Pengamatan hingga umur 9 Minggu Setelah Tanam (MST), menunjukkan bahwa eksplan meristem yang ditanam pada MS dengan penambahan zat pengatur tumbuh hanya mampu membentuk tunas tunggal dengan jumlah daun dan akar yang bervariasi.

### **Media Tahap II**

Pucuk yang sehat dan kuat (berasal dari eksplan benih jeruk) yang diambil dari media Tahap I (media perkecambahan) pada umur 2 MST, kemudian diisolasi meristemnya dari bagian ujung, selanjutnya dikulturkan kedalam media Tahap II yaitu media multiplikasi, dan dilakukan pengamatan pada umur 3, 6 dan 9 MST.

Eksplan meristem pada media Tahap II mulai menunjukkan respon pada minggu pertama yang ditandai dengan terjadinya pembengkakan pada bagian dasar eksplan, selanjutnya diikuti dengan pembentukan kalus nodular kecil berwarna keputihan. Kalus merupakan suatu kumpulan sel amorphus yang terjadi dari sel-sel jaringan yang membelah diri secara terus menerus. Dalam kultur *in vitro*, kalus dapat dihasilkan dari potongan organ yang telah steril di dalam media yang mengandung auksin dan kadang-kadang sitokinin. Bila eksplan yang digunakan mengandung kambium maka kalus dapat terbentuk tanpa perlakuan zat tumbuh (Gunawan, 1992). Sedangkan warna kalus yang berwarna putih dan kuning kemungkinan disebabkan oleh zat pengatur tumbuh auksin karena menurut George dan Sherrington (1984) penggunaan auksin dapat menghambat

pembentukan klorofil, sedangkan kalus yang berwarna hijau kemungkinan dipengaruhi oleh sitokinin (BAP) yang dapat memacu pembentukan klorofil,

### **Jumlah Tunas**

Dari hasil pengamatan secara visual, ternyata pertumbuhan eksplan meristem asal pucuk dalam media tahap II (tahap multiplikasi) hanya mengarah ke pembentukan akar dan daun sedangkan jumlah tunas yang dihasilkan hingga pengamatan terakhir pada minggu ke-9 ternyata masih berupa tunas tunggal (tidak terjadi multiplikasi), meskipun sitokinin yang diberikan cukup tinggi. Hal ini diduga bahwa hanya beberapa sel yang bersifat totipoten dan tidak berarti bahwa semua sel memiliki sifat tersebut.

Dalam kultur jaringan, banyak sel ditemukan tidak membentuk embrio/tunas yang disebabkan oleh gagalnya sel dalam menjalani proses differensiasi. Differensiasi sel merupakan tahap akhir setelah pembelahan dan pembesaran sel yang mencirikan perkembangan morfogenesis tanaman. Morfogenesis eksplan tergantung kepada keseimbangan auksin dan sitokinin di dalam media dan interaksi antara zat pengatur tumbuh endogen pada tanaman dan zat pengatur tumbuh eksogen yang diserap dari media tumbuh (Wattimena, 1992).

Sifat antagonis dari sitokinin terhadap auksin dalam inisiasi dan perbanyakan akar, maka perbandingan konsentrasi auksin dan sitokinin perlu diperhatikan. Tunas akan terbentuk apabila mengandung sitokinin yang tinggi dan auksin rendah, sedangkan akar akan terbentuk apabila perbandingan zat-zat tersebut di dalam media adalah sebaliknya.

### Jumlah Daun

Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan G menghasilkan jumlah daun yang relatif lebih tinggi (3.0 buah) daripada perlakuan lainnya pada 3 MST, namun tidak berbeda nyata dengan perlakuan A, E, F, G, H, I dan berbeda nyata dengan perlakuan B, D, K dan L. Jumlah daun terus mengalami peningkatan sampai minggu ke-6 pada media G (3.8 buah), sedangkan pada media yang lainnya jumlah daun masih tetap.

**Tabel 1. Rata-rata jumlah daun**

No.	Kode	Perlakuan	Rata-rata Jumlah Daun		
			Minggu ke-		
			3	6	9
1.	A	0.5 mg L <sup>-1</sup> BAP+0.5 mg L <sup>-1</sup> Kin+0.5 mg L <sup>-1</sup> NAA	2.00 a	2.40 ab	2.40 a
2.	B	0.5 mg L <sup>-1</sup> BAP+0.5 mg L <sup>-1</sup> Kin+1.0 mg L <sup>-1</sup> L NAA	1.60 c	2.00 ab	2.40 a
3.	C	0.5 mg L <sup>-1</sup> BAP+1.0 mg L <sup>-1</sup> Kin+0.5 mg L <sup>-1</sup> NAA	2.00 bc	2.40 ab	2.40 a
4.	D	0.5 mg L <sup>-1</sup> BAP+1.0 mg L <sup>-1</sup> Kin+1.0 mg L <sup>-1</sup> NAA	1.60 c	2.00 ab	2.20 a
5.	E	1.0 mg L <sup>-1</sup> BAP+0.5 mg L <sup>-1</sup> Kin+0.5 mg L <sup>-1</sup> NAA	2.60 ab	2.40 ab	2.80 a
6.	F	1.0 mg L <sup>-1</sup> BAP+0.5 mg L <sup>-1</sup> Kin+1.0 mg L <sup>-1</sup> NAA	2.60 ab	2.60 ab	2.80 a
7.	G	1.0 mg L <sup>-1</sup> BAP+1.0 mg L <sup>-1</sup> Kin+0.5 mg L <sup>-1</sup> NAA	3.00 a	3.80 a	3.80 a
8.	H	1.0 mg L <sup>-1</sup> BAP+1.0 mg L <sup>-1</sup> Kin+1.0 mg L <sup>-1</sup> NAA	2.20 abc	2.20 ab	2.60 a
9.	I	2.0 mg L <sup>-1</sup> BAP+0.5 mg L <sup>-1</sup> Kin+0.5 mg L <sup>-1</sup> NAA	2.40 abc	2.40 ab	2.20 a
10.	J	2.0 mg L <sup>-1</sup> BAP+0.5 mg L <sup>-1</sup> Kin+1.0 mg L <sup>-1</sup> NAA	2.00 abc	2.20 ab	2.20 a
11.	K	2.0 mg L <sup>-1</sup> BAP+1.0 mg L <sup>-1</sup> Kin+0.5 mg L <sup>-1</sup> NAA	2.00 bc	2.00 ab	2.20 a
12.	L	2.0 mg L <sup>-1</sup> BAP+1.0 mg L <sup>-1</sup> Kin+1.0 mg L <sup>-1</sup> NAA	2.00 bc	2.00 ab	2.20 a

Ket : Angka rata-rata yang diikuti huruf sama dalam kolom yang sama, tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT taraf 5%

Hasil penelitian Hasegawa (1980), didapat bahwa sitokinin sangat penting untuk pembentukan dan multiplikasi tunas pada kultur pucuk. BA merupakan sitokinin yang paling efektif pada konsentrasi 1.0, 3.0, dan 10.00 mg L<sup>-1</sup>, sedangkan kinetin sebenarnya tidak berpengaruh terhadap proliferasi tunas

Pada minggu ke-9 semua perlakuan tidak mengalami penambahan jumlah daun. Kapasitas morfogenesis umumnya menurun sesuai dengan lamanya jaringan



di kulturkan tetapi beberapa kulur kalus dapat bertahan dalam jangka waktu panjang (George & Sherrington, 1984). Penurunan jumlah daun ini kemungkinan disebabkan oleh pemberian BAP dan Kinetin yang terlalu tinggi (George dan Sherrington (1984) menyatakan bahwa konsentrasi sitokinin yang tinggi dapat menurunkan dominansi apikal.

### Jumlah Akar

Berdasarkan hasil sidik ragam, perlakuan pemberian sitokinin jenis BAP dan Kinetin serta auksin jenis NAA pada minggu ke-3, menghasilkan jumlah akar yang tidak berbeda nyata antara perlakuan satu dengan yang lainnya.

**Tabel 3. Rata-rata Jumlah Akar**

No.	Kode	Perlakuan	Rata-rata Jumlah Akar		
			Minggu ke-		
			3	6	9
1.	A	0.5 mg L <sup>-1</sup> BAP+0.5 mg L <sup>-1</sup> Kin+0.5 mg L <sup>-1</sup> NAA	0.60 a	1.00 ab	1.00 bc
2.	B	0.5 mg L <sup>-1</sup> BAP+0.5 mg L <sup>-1</sup> Kin+1.0 mg L <sup>-1</sup> L NAA	0.80 a	2.20 ab	2.80 ab
3.	C	0.5 mg L <sup>-1</sup> BAP+1.0 mg L <sup>-1</sup> Kin+0.5 mg L <sup>-1</sup> NAA	0.00 a	1.40 ab	1.40 bc
4.	D	0.5 mg L <sup>-1</sup> BAP+1.0 mg L <sup>-1</sup> Kin+1.0 mg L <sup>-1</sup> NAA	0.20 a	0.80 b	2.00 ab
5.	E	1.0 mg L <sup>-1</sup> BAP+0.5 mg L <sup>-1</sup> Kin+0.5 mg L <sup>-1</sup> NAA	0.40 a	1.20 ab	1.20 bc
6.	F	1.0 mg L <sup>-1</sup> BAP+0.5 mg L <sup>-1</sup> Kin+1.0 mg L <sup>-1</sup> NAA	0.80 a	1.60 ab	3.20 a
7.	G	1.0 mg L <sup>-1</sup> BAP+1.0 mg L <sup>-1</sup> Kin+0.5 mg L <sup>-1</sup> NAA	0.00 a	0.60 b	0.20 c
8.	H	1.0 mg L <sup>-1</sup> BAP+1.0 mg L <sup>-1</sup> Kin+1.0 mg L <sup>-1</sup> NAA	0.80 a	2.40 a	2.60 ab
9.	I	2.0 mg L <sup>-1</sup> BAP+0.5 mg L <sup>-1</sup> Kin+0.5 mg L <sup>-1</sup> NAA	0.80 a	1.00 ab	1.20 bc
10.	J	2.0 mg L <sup>-1</sup> BAP+0.5 mg L <sup>-1</sup> Kin+1.0 mg L <sup>-1</sup> NAA	0.40 a	2.00 ab	2.80 ab
11.	K	2.0 mg L <sup>-1</sup> BAP+1.0 mg L <sup>-1</sup> Kin+0.5 mg L <sup>-1</sup> NAA	0.00 a	0.80 b	1.00 bc
12.	L	2.0 mg L <sup>-1</sup> BAP+1.0 mg L <sup>-1</sup> Kin+1.0 mg L <sup>-1</sup> NAA	0.20 a	1.60 ab	2.40 ab

Ket : Angka rata-rata yang diikuti huruf sama dalam kolom yang sama, tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT taraf 5%

Pada minggu ke-9, perlakuan F menghasilkan jumlah akar yang relatif lebih tinggi (3.2 buah) daripada yang lainnya dan tampak tidak berbeda nyata dengan jumlah akar pada perlakuan B, D, H, J dan L (> 2 buah). Terdapat kecenderungan meningkatnya jumlah akar dengan semakin tingginya konsentrasi

NAA. Kitto dan Yong (1981) menyatakan bahwa NAA menginduksi akar lebih baik dibandingkan dengan auksin lainnya. Hal ini disebabkan karena NAA mempunyai kemampuan translokasi lambat, persistensi yang tinggi serta aktifitas rendah untuk menjaga selang antara induksi perakaran dan keracunan (Wattimena, 1990b).

Salisbury dan Ross (1992) serta Wattimena (1987) menyatakan bahwa auksin yang diberikan secara eksogen dapat mendorong pertumbuhan pada konsentrasi rendah sebaliknya pada konsentrasi tinggi dapat menghambat pertumbuhan. Tanaman mempunyai mekanisme untuk mengendalikan jumlah auksin yang tersedia. Jika konsentrasi auksin melampaui ambang kebutuhan tanaman, maka senyawa tersebut akan membentuk konyugasi dengan senyawa organik lainnya atau dioksidasi oleh molekul  $O_2$  dibantu oleh enzim IAA oksidase sehingga melepaskan gugus karboksilnya. Mekanisme ini menyebabkan konsentrasi auksin yang tinggi tidak menimbulkan penghambatan bagi terhadap pertumbuhan tanaman. Tidak demikian halnya dengan auksin sintetik mempunyai persistensi yang tinggi, tidak dapat membentuk konyugasi dan tidak dapat didegradasi oleh enzim IAA oksidase sehingga konsentrasinya yang tinggi dapat menghambat pertumbuhan dan perkembangan tanaman.

### **Panjang Akar**

Berdasarkan analisis sidik ragam menunjukkan bahwa rata-rata panjang akar tertinggi diperoleh pada perlakuan E (5.2 cm), dan tidak berbeda nyata dengan perlakuan A, H, I, K dan L (> 3 cm).

**Tabel 3. Rata-rata panjang akar pada 9 MST**

No.	Kode	Perlakuan	Panjang Akar (cm)
1.	A	0.5 mg L <sup>-1</sup> BAP+0.5 mg L <sup>-1</sup> Kin+0.5 mg L <sup>-1</sup> NAA	3.50 ab
2.	B	0.5 mg L <sup>-1</sup> BAP+0.5 mg L <sup>-1</sup> Kin+1.0 mg L <sup>-1</sup> NAA	2.40 b
3.	C	0.5 mg L <sup>-1</sup> BAP+1.0 mg L <sup>-1</sup> Kin+0.5 mg L <sup>-1</sup> NAA	2.80 b
4.	D	0.5 mg L <sup>-1</sup> BAP+1.0 mg L <sup>-1</sup> Kin+1.0 mg L <sup>-1</sup> NAA	2.40 b
5.	E	1.0 mg L <sup>-1</sup> BAP+0.5 mg L <sup>-1</sup> Kin+0.5 mg L <sup>-1</sup> NAA	5.20 a
6.	F	1.0 mg L <sup>-1</sup> BAP+0.5 mg L <sup>-1</sup> Kin+1.0 mg L <sup>-1</sup> NAA	2.30 b
7.	G	1.0 mg L <sup>-1</sup> BAP+1.0 mg L <sup>-1</sup> Kin+0.5 mg L <sup>-1</sup> NAA	0.00 c
8.	H	1.0 mg L <sup>-1</sup> BAP+1.0 mg L <sup>-1</sup> Kin+1.0 mg L <sup>-1</sup> NAA	3.10 ab
9.	I	2.0 mg L <sup>-1</sup> BAP+0.5 mg L <sup>-1</sup> Kin+0.5 mg L <sup>-1</sup> NAA	3.20 ab
10.	J	2.0 mg L <sup>-1</sup> BAP+0.5 mg L <sup>-1</sup> Kin+1.0 mg L <sup>-1</sup> NAA	1.60 c
11.	K	2.0 mg L <sup>-1</sup> BAP+1.0 mg L <sup>-1</sup> Kin+0.5 mg L <sup>-1</sup> NAA	3.50 ab
12.	L	2.0 mg L <sup>-1</sup> BAP+1.0 mg L <sup>-1</sup> Kin+1.0 mg L <sup>-1</sup> NAA	3.10 ab

Ket : Angka rata-rata yang diikuti huruf sama dalam kolom yang sama, tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT taraf 5%

Perlakuan pemberian auksin yang rendah yaitu 0.5 mg L<sup>-1</sup> NAA pada media kultur sudah mencukupi untuk merangsang perpanjangan akar, hal ini kemungkinan di dalam jaringan tanaman juga terdapat auksin alami jenis IAA yang sangat terkait dengan pembelahan sel dan diferensiasi sel. Kandungan perubahan kandungan IAA endogenous juga sangat dipengaruhi oleh aplikasi eksogenus auksin dan sitokinin pada kultur jaringan dengan perlakuan hormon. (Davies, 1995).

Di dalam perbanyakan *in vitro*, peranan auksin adalah merangsang pembentukan kalus, perpanjangan sel, pembesaran jaringan dan pembentukan akar. Sedangkan pengaruh sitokinin dalam perbanyakan *in vitro* adalah merangsang pembelahan sel dan multiplikasi tunas (George dan Sherrington, 1984).

## BAB VI

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 4.1. Kesimpulan

1. Rata-rata jumlah daun tertinggi (3.80 buah) diperoleh pada media G (1.0 mg L<sup>-1</sup> BAP +1.0 mg L<sup>-1</sup> Kin+0.5 mg L<sup>-1</sup> NAA)
2. Rata-rata jumlah akar tertinggi (3.20 buah) diperoleh pada media F (1.0 mg L<sup>-1</sup> BAP + 0.5 mg L<sup>-1</sup> Kin+1.0 mg L<sup>-1</sup> NAA).
3. Rata-rata akar terpanjang diperoleh pada media E (1.0 mg/L BAP+0.5 mg/L Kin+0.5 mg/L NAA).

#### 4.2. Saran

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dengan penggunaan eksplan meristem dari pucuk jeruk keprok Garut pada beberapa media perlakuan kombinasi sitokinin jenis BAP dan Kinetin serta NAA pada berbagai konsentrasi yang dicobakan, ternyata rata-rata jumlah tunas yang dihasilkan masih relatif sedikit dan memakan waktu cukup lama untuk pertumbuhannya, hal ini dapat dilihat dari kemampuan eksplan tersebut hanya menghasilkan tunas tunggal. Oleh karena itu, penelitian **masih dilanjutkan** dengan penggunaan hanya satu jenis sitokinin yang dikombinasikan dengan NAA agar diperoleh konsentrasi yang tepat untuk multiplikasi tunas.

## DAFTAR PUSTAKA

- Bhojwani, S.S. and M.K. Razdan 1986. Plant tissue culture : theory and practice. Elsevier. Amsterdam-Oxford-New York-Tokyo.
- Barlass, M. And K.G.M. Skene. 1981. In vitro plantlet formation from Citrus species and hybrid. HortScience 17(1982): 333-341.
- Davies, K.M. and E.S. Kathy. 1997. Flower colour. P. 187-231. In Geneve, R.L., J.E. Preece and S.A. Merkle (Eds.). Biotechnology of ornamental plant. CAB. International Wallingford. London.
- Edriss, M.H. and D.W. Burger. 1984. In vitro propagation of *Troyer citrange* from epicotyl segments. HortScience. 23 (1984): 159-162.
- Gamborg, O.L. and J.P. Shyluk. 1981. Nutrition, media and characteristic of plant cell and tissue culture. In Thorpe, T.A. (ed) Plant tissue culture : Methods and application in agriculture. Academic Press. Inc. New York.
- George, E.F. and P.D. Sherrington. 1984. Plant propagation; by tissue culture. Exegetics. Ltd. England.
- Grinblat, U. 1972. Differentiation of Citrus stem in vitro. J. Amer. Hortic. Sci. 97 (5) : 599-603.
- Hasegawa PM., 1980. Factors affecting shoot and root initiation from cultured rose shoot tip. J Am Soc Hort Sci 105(2) : 216 – 220.
- Hassaanein, A.M. and Azooz, M.M. 2003. Propagation of *Citrus reticulata* via in vitro seed germination and shoot cuttings. Biologia Plantarum Vol. 47, Number 2, September 2003, pp. 173177. from : <http://www.ingentaconnect.com/content/klu/biop/2003/0000047/00000002/05265064>
- Kitto, S.L. and M.J. Young. 1981. In vitro propagation of Carrizo citrage. Hort. Science 16(3) : 305-306.
- Gunawan, L.V. 1988. Teknik kultur jaringan. Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman. Pusat Antar Universitas. Bioteknologi. Institut Pertanian Bogor.
- \_\_\_\_\_ 1992. Teknik kultur jaringan. Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman. Pusat Antar Universitas. Bioteknologi. Institut Pertanian Bogor.

- M. Hernowo. 2003. Jeruk garut : Cerita yang Hendak Dirangkai Kembali. Sumber : Kompas 2003.
- Permana, Aam. 2006. Populasi jeruk Garut Menurun. Sumber : [http://garut\\_co\\_id.mht](http://garut_co_id.mht)
- Pierik, R.L.M. 1987. In vitro culture of higher plants. Martinus Nijhoof of Publishers. Neteherland.
- Rukmana, R., Yuyun Yuniarsih Qesman. 2003. Usahatani jeruk keprok. CV. Aneka Ilmu, Anggota IKAPI. Semarang.
- Salisbury, FB., Ross CW. 1985. Plant Physiology. Third Edition. Wadsworth Publishing Company. Belmont. California.
- Santoso, U. dan F. Nursandi. 2003. Kultur Jaringan Tanaman. UMM Press. Malang hal 91-181
- Soelarso, R.B. 1996. Budidaya Jeruk Bebas Penyakit. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.
- Thorpe, T.A. 1981. Plant tissue culture. Methods and application in agriculture. Acad. Press. New York.
- Wattimena, G.A. 1990b. Penggunaan pengatur tumbuh-tumbuhan pada perbanyakan propagula tanaman dalam Prospek dan masalah penggunaan zat pengatur tumbuh pada budidaya tanaman. Seminar Nasional Agrokimia. Himpunan Mahasiswa Agronomi. Fakultas Pertanian, Universitas Padjadjaran. Jatinangor.
- \_\_\_\_\_. 1983. Pembiakan mikro. Jurusan Agronomi. Fakultas Pertanian. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- \_\_\_\_\_. 1987. Diktat zat pengatur tumbuh tanaman PAU Bioteknologi IPB. Dir.Jend. Pendidikan Tinggi. Dept. Pendidikan dan Kebudayaan. Bogor.
- \_\_\_\_\_. 1992. Bioteknologi Tanaman. Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman. Pusat Antar Universitas. Institut Pertanian Bogor. IPB Press Bogor. 309 hl..
- Widiastoety, D. dan santi, A. 1997. Pembibitan dan Budidaya Anggrek. Dalam Anonim. Anngrek, Buku Komoditas No. 3. Balai Penelitian Tanaman Hias. Jakarta. Hal 14-28.

Witjaksono.1992. Kultur jaringan Jeruk Jepara. Prosiding Seminar Hasil Litbang SDH. 6 Mei 1992.

**Lampiran 1. Komposisi media MURASHIGE & SKOOG**

SYMBOL	ZAT	AMOUNT/L
A	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1650 mg
B	KNO <sub>3</sub>	1900 mg
C	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	6.2 mg
	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	170 mg
	KI	0,83 mg
	Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	0,25 mg
	CoCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	0,025 mg
D	CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	440 mg
	MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	370 mg
	MnSO <sub>4</sub> .4H <sub>2</sub> O	22.3 mg
E	ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	8.6 mg
	CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	0.025 mg
F	FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	27.8 mg
	Na <sub>2</sub> EDTA	37.3 mg
G	Edamin (Casein hydrolysat)	1 mg
	Glycine	2 mg
	Myoinositol	100 mg
	Nicotinic acid	0,5 mg
	Pyridoxin HCl	0,5 mg
	Thyamin HCl	0,1 mg

Sumber : Pierik (1987)

**Lampiran 2. Komposisi media B5 (Gamborg)**

SYMBOL	ZAT	AMOUNT/L
A	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	134 mg
B	KNO <sub>3</sub>	2500 mg
	NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> O	150 mg
C	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	3.0 mg
	KI	0,75 mg
	Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	0,25 mg
	CoCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	0,025 mg
D	CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	150 mg
	MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	250 mg
	MnSO <sub>4</sub> .4H <sub>2</sub> O	13.2 mg
E	ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	2.0 mg
	CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	0.025 mg
F	FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	27.6 mg
	Na <sub>2</sub> EDTA	37.3 mg
G	Myoinositol	100 mg
	Nicotinic acid	1,0 mg
	Pyridoxin HCl	1,0 mg
	Thyamin HCl	10,0 mg

Sumber : Pierik (1987)



### Lampiran 3. Kombinasi Media Perlakuan

Kode Media	Perlakuan
A	: 0.5 mg/L BAP + 0.5 mg/L Kinetin + 0.5 mg/L NAA
B	: 0.5 mg/L BAP + 0.5 mg/L Kinetin + 1.0 mg/L NAA
C	: 0.5 mg/L BAP + 1.0 mg/L Kinetin + 0.5 mg/L NAA
D	: 0.5 mg/L BAP + 1.0 mg/L Kinetin + 1.0 mg/L NAA
E	: 1.0 mg/L BAP + 0.5 mg/L Kinetin + 0.5 mg/L NAA
F	: 1.0 mg/L BAP + 0.5 mg/L Kinetin + 1.0 mg/L NAA
G	: 1.0 mg/L BAP + 1.0 mg/L Kinetin + 0.5 mg/L NAA
H	: 1.0 mg/L BAP + 1.0 mg/L Kinetin + 1.0 mg/L NAA
I	: 2.0 mg/L BAP + 0.5 mg/L Kinetin + 0.5 mg/L NAA
J	: 2.0 mg/L BAP + 0.5 mg/L Kinetin + 1.0 mg/L NAA
K	: 2.0 mg/L BAP + 1.0 mg/L Kinetin + 0.5 mg/L NAA
L	: 2.0 mg/L BAP + 1.0 mg/L Kinetin + 1.0 mg/L NAA

### Lampiran 3. Personalia Penelitian

#### 1 Ketua Peneliti

- a. Nama Lengkap dan gelar : Erni Suminar, S.P.
- c. Golongan pangkat dan NIP : III-a/Penata Muda/132 302 986
- d. Jabatan Fungsional : Asisten Ahli
- e. Jabatan Struktural :
- f. Fakultas/Program Studi : Pertanian/ Agronomi  
Perguruan Tinggi : Universitas Padjadjaran  
Bidang Keahlian : Teknologi Benih  
Waktu untuk penelitian ini : 14 jam/ minggu
- g. Pusat Penelitian :

#### 2 Anggota Peneliti

- 2.1. Nama/NIP/Pangkat : Denny Sobardini S., Dra.,M.P./131 634 098/Lektor
- 2.2. Nama/NIP/Pangkat : Murgayanti, S.P., M.P./132 130 052/ Penata Muda
- 3. Tenaga Laboran/Teknisi : Mainah  
: Nur Budi Ariyanto, Am.d.  
:
- 4. Tenaga Lapangan/Pencacah :
- 5. Tenaga Administrasi : Sulastri

**Lampiran 4. Pertumbuhan Kultur pada Umur 9 MST**

**Gambar 1. Bibit mini jeruk keprok garut yang sudah berakar**

**Gambar 2. Bibit mini jeruk keprok garut yang belum berakar**

**Gambar 3. Kalus yang terbentuk di sekitar pangkal batang**