

PENYIMPANAN TANAMAN JERUK (*Japansche citroen*) SECARA *IN VITRO* DENGAN TEKNIK ENKAPSULASI

Rani Wulan Suci¹⁾

¹⁾Anggota Peneliti Muda Utama, Kelompok Peneliti Muda
Universitas Negeri Jakarta

Email : raniwulansuci190@gmail.com

ABSTRAK

Enkapsulasi adalah teknik pembungkusan eksplan yang dapat berupa embrio somatik, meristem atau tunas pucuk dengan suatu pembungkus khusus sehingga eksplan tidak mudah rusak selama masa penyimpanan. Enkapsulasi dilakukan pada tunas buku jeruk (*Citrus x limonia* cv. Japansche Citroen). Jeruk ini memiliki karakter unggul berupa tahan kering dan organ batang yang kokoh. Tanaman ini juga lebih cepat pertumbuhannya dibandingkan jeruk RL dan Volkameriana (Budiarti *et al.*, 2013). Tujuan penelitian ini adalah mendapatkan kombinasi media untuk teknik enkapsulasi yang mampu menyimpan eksplan satu buku tunas jeruk JC. Metode yang digunakan adalah eksperimen. Ada 3 tahapan percobaan yang dilakukan. Tahapan pertama adalah percobaan pendahuluan. Hasilnya menunjukkan jika penambahan hormon giberelin pada media perkecambahan menyebabkan perkecambahan lebih cepat. Regenerasi tunas lebih baik pada media MS+VMW+Kin 0.3 mgL⁻¹, pembentukan kapsul menggunakan alginat tipe kepadatan tinggi dan menggunakan zat osmoregulator manitol. Percobaan kedua adalah enkapsulasi pada manitol. Hasilnya adalah kombinasi antara media alginat (Ma) — media inkubasi (Mi) MS+VMW Manitol 3% — ½ (MS+VMW) Manitol 3% dan MS+VMW Manitol 4% — ½ (MS+VMW) Manitol 4% dapat menyimpan eksplan tetap hijau selama 5 bulan. Percobaan ketiga adalah regenerasi eksplan hasil enkapsulasi dan penyimpanan. Hasil menunjukkan tidak terdapat perbedaan nilai regenerasi antara eksplan hasil enkapsulasi dan penyimpanan dengan eksplan kontrol.

Kata Kunci: Enkapsulasi, Osmoregulator, Penyimpanan In Vitro, Regenerasi

ABSTRACT

Encapsulation is a technique that can wrap eksplan somatic embryo, meristem or shoot buds with a special wrapping so eksplan not easily damaged during the storage period. Encapsulation is done on citrus book shoots (Citrus x limonia cv Japansche Citroen). This orange has a superior character of dry resistance and a sturdy stem organ. This plant is also faster growth than oranges RL and Volkameriana (Budiarti et al., 2013). The purpose of this research is to get a combination of media for the encapsulation technique that is able to store the explanation of one book of JC orange buds. The method used is experiment. There are 3 stages of experiments performed. The first stage is a preliminary experiment. The results show if the addition of gibberellin hormone in germination media causes faster germination. Better shoot regeneration on MS + VMW + Kin 0.3 mgL⁻¹ medium, capsule formation using high density alginate

type and using mannitol osmoregulator substance. The second experiment was encapsulation on mannitol. The result is a combination of Alginate media (Ma) -media incubation (Mi) MS + VMW Manitol 3% -1/2 (MS + VMW) Manitol 3% and MS + VMW Manitol 4% -1/2 (MS + VMW) Manitol 4% eksplan remain green for 5 months. The third experiment is the regeneration of explosive encapsulation and storage. The result showed no difference of regeneration value between eksplan encapsulation and storage with eksplan control.

Keywords: *Encapsulation, Osmoregulator, In Vitro Storage, Regeneration*

PENDAHULUAN

Jeruk merupakan komoditas dagang yang memiliki nilai ekonomi di semua tempat. Buah jeruk mempunyai prospek yang baik untuk dikembangkan dan merupakan salah satu buah unggulan nasional karena banyak dikonsumsi sebagai sumber nutrisi (terutama vitamin C) oleh penduduk baik dalam negeri maupun luar negeri. Produksi buah jeruk di Indonesia selalu mengalami penurunan karena faktor penurunan luas lahan dan sulitnya mendapatkan indukan yang unggul. Data menyatakan luas lahan dan produksi buah jeruk dari tahun 2012 ke tahun 2013 mengalami penurunan sebesar 1.722 Ha dan 42.963 ton (Pusdatin, 2015).

Budidaya tanaman jeruk untuk mendapat indukan yang produktif adalah dengan menyambung atau menempel jenis jeruk yang memiliki tajuk lebat sebagai batang atas (*scion*) dengan jenis jeruk yang memiliki batang bawah (*rootstock*) yang kokoh. Salah satu jenis jeruk sering digunakan di Indonesia adalah Jeruk JC (Japansche Citroen). Tanaman jeruk JC memiliki keunggulan berupa tahan kering, organ batang yang kokoh tebal serta susunan perakaran serabut yang luas dan kuat. Jayanti *et al.*, (2015), menyatakan batang bawah JC memiliki kompatibilitas dengan tingkat keberhasilan tempelan sebesar 100% pada kultivar jeruk Citrumello (jeruk besar cikoneng). Banyaknya

keunggulan jeruk JC juga sebanding dengan kendalanya. Kendala pada tanaman ini adalah masa penyimpanan benih, tingginya tingkat poliembrio biji dan rasa buah yang asam. Rasa asam pada buah jeruk JC merupakan kendala karena kultivar ini dianggap tidak menguntungkan secara ekonomi (Towill, 1992). Sementara itu jeruk ini merupakan sumber plasma nutfah yang perlu di konservasi. Benih jeruk JC dalam bentuk buah hanya dapat di simpan selama 7 hari dan indukan tidak bisa di simpan dalam bentuk biji, karena biji bersifat rekalsitran. Alternatif pemecahan masalah pada tanaman tersebut adalah konservasi dengan teknik kultur jaringan atau kultur *in vitro* (Suryowinoto, 1996).

Terdapat tiga teknik konservasi *in vitro* yaitu penyimpanan pada media tumbuh atau subkultur berulang, penyimpanan secara kriopreservasi dan penyimpanan secara pertumbuhan minimal (Mariska *et al.*, 1996; Leunufna, 2004). Pada teknik penyimpanan secara pertumbuhan minimal memiliki keunggulan yaitu tidak memerlukan subkultur yang frekuentif sehingga mengurangi tingkat kontaminasi dan biaya yang relatif murah serta dapat menyimpan eksplan dalam jangka waktu menengah (<1 tahun) (Roostika, 2009). Salah satu modifikasi teknik ini adalah enkapsulasi.

Enkapsulasi adalah proses pelapisan bahan biakan (eksplan) dengan media alginat. Penelitian ini melakukan enkapsulasi pada eksplan satu buku tunas jeruk JC. Hasil enkapsulasi disimpan di media cair atau media inkubasi untuk mempertahankan kelembaban kapsul. Media enkapsulasi dan media inkubasi ditambahkan manitol sebagai zat osmotikum. Hal ini dilakukan untuk menjaga stabilitas tekanan osmotik sel sehingga sel tetap viabel dan dapat tumbuh ketika dikulturkan kembali (Suryowinoto, 1989). Belum adanya penelitian enkapsulasi pada jeruk JC dan untuk mengatasi kendala-kendala pada jeruk JC, menjadikan penelitian ini perlu dilakukan dan dikembangkan sehingga, tujuan umum penelitian adalah mengetahui komposisi media yang tepat agar eksplan hasil enkapsulasi memiliki masa simpan yang maksimal, dan kualitas eksplan yang baik. Kualitas eksplan yang baik ditandai dengan lengkapnya regenerasi mencapai tahap planlet.

METODE PENELITIAN

Metode yang digunakan adalah eksperimen dengan Rancangan Acak Lengkap pola faktorial. Terdapat 3 percobaan pada penelitian ini, yaitu :

Percobaan pendahuluan

Terdiri dari 4 tahapan :

- A. Perkecambahan biji JC (Japansche Citroen) secara *in vitro* : terdapat satu faktor yaitu konsentrasi hormon Giberelin : 1 mgL⁻¹, 3 mgL⁻¹ dan 5mgL⁻¹.
- B. Optimasi media regenerasi tunas buku jeruk JC. terdapat dua faktor yaitu media dasar MS + MT, jenis hormon Kin, 2iP, BAP 0.3 mgL⁻¹
- C. Pengaruh jenis alginat terhadap bentuk kapsul.
- D. Pengaruh penambahan jenis dan

konsentrasi zat osmoregulator pada media enkapsulasi

Percobaan 1. Enkapsulasi eksplan satu buku tunas jeruk JC (Japansche Citroen) dengan penambahan manitol

Percobaan teknik enkapsulasi dilakukan untuk mengetahui formulasi antara media alginat dan media inkubasi yang dapat menyimpan eksplan selama 5 bulan. Percobaan ini terdiri dari 2 faktor dan setiap faktor terdiri dari 2 taraf. Faktor tersebut yaitu : Media Alginat (1) Konsentrasi manitol : 3 % dan 4%; (2) media dasar : ½ (MS + VMW) dan MS + VMW Media Inkubasi (1) Konsentrasi manitol: 3 % dan 4% (2) media dasar : ½ (MS + VMW) dan MS + VMW. Parameter yang diamati pada percobaan adalah kualitas eksplan. Kualitas ini dibagi jadi tiga yaitu jumlah eksplan berwarna hijau, coklat, menembus kapsul, eksplan tumbuh dan waktu awal eksplan menembus kapsul.

*Percobaan 2. Regenerasi tanaman jeruk JC setelah penyimpanan *in vitro**

Regenerasi tanaman dilakukan untuk melihat pengaruh penyimpanan terhadap daya regenerasi tanaman. Sebelum regenerasi pada media padat dilakukan percobaan optimasi media dasar (MS+VMW dan MT) dengan menambahkan zat pengatur tumbuh sitokinin (Kinetin, 2iP dan BAP) pada konsentrasi 0.3 mg/L. Optimasi media regenerasi diamati selama tiga bulan. Setelah dilakukan percobaan optimasi media, maka dilakukan regenerasi dengan membuka kapsul. Eksplan lalu ditanam di media regenerasi. Parameter yang diamati adalah pertumbuhan eksplan yang meliputi waktu inisiasi terbentuknya tunas, jumlah daun tunas, waktu inisiasi akar, jumlah akar dan panjang akar.

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Percobaan pendahuluan

1. Perkecambahan biji JC (Japansche Citroen) secara *in vitro* : Media MS + VMW Giberelin 1, 3 dan 5mgL⁻¹

Perkecambahan dilakukan secara *in vitro* untuk mendapat tunas-tunas steril yang akan digunakan bagian buku atau nodus untuk sumber eksplan percobaan berikutnya. Penambahan hormon giberelin pada media dikarenakan dapat memicu pematangan masa dormansi biji dan menyebabkan perkecambahan lebih cepat. Berdasarkan hasil yang diperoleh pada tabel 5, diketahui bahwa efek penambahan hormon giberelin pada parameter waktu inisiasi akar, inisiasi tunas, panjang akar dan tinggi akar tidak berbeda nyata, tetapi penambahan hormon giberelin dengan konsentrasi 3 mgL⁻¹ merupakan perlakuan yang lebih memaksimalkan perkecambahan dibanding perlakuan lainnya.

Tabel 1. Hasil pengamatan perkecambahan jeruk JC secara *in vitro* pada media dasar MS + VMW dan ditambahkan hormon Giberelin.

Perlakuan	Rerata			
	Inisiasi akar (Hari)	Inisiasi tunas (Hari)	Tinggi tunas (Cm)	Panjang akar (Cm)
GA 1 mg/L	5.11 ^a ±0.539	17.89 ^a ±0.633	4.31 ^a ±0.386	4.28 ^a ±0.630
GA 3 mg/L	4.11 ^a ±0.351	15.78 ^a ±0.618	6.12 ^b ±0.344	5.98 ^b ±0.328
GA 5 mg/L	4.78 ^a ±0.760	16.22 ^{ab} ±0.618	5.02 ^{ab} ±0.538	5.22 ^{ab} ±0.549

Hasil pengamatan pada parameter inisiasi tunas (15.78^a ± 0.618), tinggi tunas (6.12^b ± 0.344) dan panjang akar (5.98^b ± 0.328) juga menunjukkan jika nilai yang tertinggi pada media dengan penambahan hormon giberelin 3 mgL⁻¹. Hal ini dikarenakan waktu inisiasi akar yang lebih dahulu dan jumlah akar yang lebih banyak, sehingga hara terserap dengan lebih cepat ke seluruh

bagian tanaman. Samanhudi, (2010) menyatakan akar merupakan organ vegetatif utama yang memasok air, mineral, dan bahan yang penting lainnya untuk pertumbuhan dan perkembangan tanaman, sehingga semakin cepat munculnya akar maka semakin cepat pula nutrisi diserap oleh tanaman.

2. Optimasi media regenerasi tunas buku jeruk JC

Optimasi media regenerasi dilakukan pada 3 jenis sitokinin (2iP, BAP dan Kinetin) dan 2 media dasar (MT dan MS+VMW). Berdasarkan hasil pengamatan terlihat jika tunas lebih dahulu muncul dibandingkan akar. Eksplan hasil beberapa kombinasi media bahkan tidak menghasilkan akar sehingga memiliki nilai 0. Berdasarkan hasil pengamatan diketahui jika media MS+VMW+Kin 0.3 mgL⁻¹ merupakan media yang optimum karena mampu menghasilkan nilai tinggi terbesar pada parameter tinggi tunas (4.05^a ±0.166), panjang akar (2.63^a ±0.263), dan nilai waktu inisiasi akar (32.25^b ±3.028) dan inisiasi tunas (6.25^a ±0.861) tercepat serta menstimulasi pertumbuhan tanaman menjadi planlet (Tabel 2), sehingga media ini digunakan untuk regenerasi satu buku tunas pada percobaan berikutnya.

Tabel 2. Regenerasi eksplan buku satu tunas jeruk JC setelah 12 MST

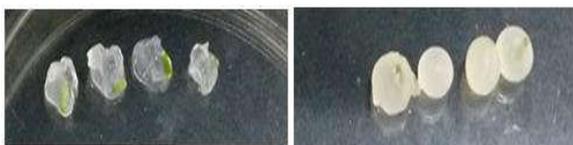
Perlakuan	Parameter Pengamatan			
	Inisiasi akar (Hari)	Inisiasi tunas (Hari)	Tinggi tunas (Cm)	Panjang akar (cm)
MS+VMW + Kin 0.3 mgL ⁻¹	32.25 ^b ± 3.028	6.25 ^a ± 0.861	4.05 ^a ± 0.166	2.63 ^a ± 0.263
MS+VMW + 2ip 0.3 mgL ⁻¹	41.25± 1.508	7.88 ^a ± 1.355	2.79± 0.114	2.13± 0.295
MS+VMW + BAP 0.3 mgL ⁻¹	0± 0.000	8.25± 1.048	2.66± 0.110	0± 0.000
MT + Kin 0.3 mgL ⁻¹	0± 0.000	15.38± 2.692	1.89± 0.063	0± 0.000
MT + 2ip 0.3 mgL ⁻¹	0± 0.000	15.75± 2.852	2.19± 0.091	0± 0.000
MT + BAP 0.3 mgL ⁻¹	0± 0.000	15.00± 0.462	3.53± 0.161	0± 0.000

Kedua media dasar ini memiliki kandungan dan komposisi hara makro

dan mikro yang sama, tetapi jumlah vitaminnya berbeda. Vitamin berperan dalam proses pertumbuhan sebagai katalisator dalam proses metabolisme. Media dasar MS+VMW memiliki kandungan vitamin dengan penambahan Biotin (Vitamin H). Biotin bekerja sebagai kofaktor enzim karboksilase. Enzim karboksilase meliputi asetil Co-A yang membantu sintesis asam lemak, propionil Co-A karboksilase untuk metabolisme asam amino (Hildebrand *et al.*, 2005). Penelitian pada kultur jeruk keprok (*Citrus nobilis*) menunjukkan biotin secara signifikan mempengaruhi koenzim bagi piruvat karboksilase, salah satu jenis enzim yang berperan dalam metabolisme energi (Aini, 2012).

3. Pengaruh jenis alginat terhadap bentuk kapsul

Berdasarkan hasil diketahui penambahan 3% (30 gL^{-1}) alginat pada media menghasilkan 100% kapsul bulat pada media alginat kepadatan tinggi (*high viscosity*) dan 0% kapsul bulat pada media alginat kepadatan rendah (*low viscosity*) tidak dapat menghasilkan kapsul bulat (Gambar 16). Bentuk bulat terjadi karena molekul natrium pada alginat digantikan dengan kalsium saat perendaman pada kalsium klorida sehingga membentuk sol kalsium alginat.



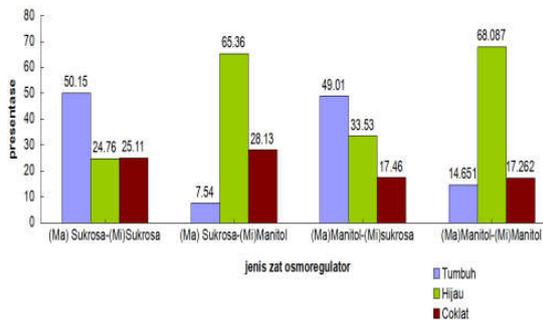
(a) Skoring 0 (b) Skoring 1
Gambar 16. Kategori skoring bentuk kapsul alginat. (a) Skoring 0, kapsul tidak bulat sempurna (b) Skoring 1, kapsul bulat sempurna

Prakash *et al.*, (2004), menyatakan bahwa perbandingan yang bervariasi

dari ketiga segmen residu asam pada alginat menyebabkan perbedaan sifat produk yang dihasilkan. Alginat dengan kandungan asam guluronat tinggi akan mempunyai struktur yang kaku (*rigid*) serta mempunyai porositas yang besar, sedangkan yang mengandung asam manuronat tinggi mempunyai struktur yang kenyal (Morris *et al.*, 1978).

4. Pengaruh penambahan jenis dan konsentrasi zat osmoregulator pada media enkapsulasi

Hasil pengamatan pada eksplan terlihat jika presentase eksplan tetap hijau terbesar ada pada kombinasi (Ma)Manitol-(Mi)Manitol dan (Ma) Sukrosa-(Mi)Manitol dengan nilai 68.08 dan 65.36. Presentase eksplan hijau terkecil pada (Ma)sukrosa-(Mi)Sukrosa dengan nilai 24.76. Pemberian manitol dengan beberapa konsentrasi yang berbeda pada media menyebabkan terjadinya cekaman osmotik yang berbeda pula. Menurut Hendaryono dan Wijayani (1994), cekaman osmotik dapat menyebabkan potensial osmotik medium rendah sehingga sel sedikit mendapatkan air. Manitol dapat berfungsi sebagai sumber karbon dan regulator osmotik. Sebagai sumber karbon, manitol dapat mendukung pertumbuhan kultur, namun sebagai regulator osmotik, manitol dapat meningkatkan osmolaritas media atau potensial osmotik media sehingga nutrisi yang mengalir ke dalam jaringan tanaman berjalan lambat. Lambatnya aliran nutrisi tersebut dapat menyebabkan penghambatan terhadap pertumbuhan kultur (Roostika *et al.*, 2008).



Gambar 2. Rerata kondisi eksplan pada berbagai kombinasi zat osmoregulator

B. Enkapsulasi eksplan satu buku tunas jeruk JC (Japansche Citroen) dengan penambahan manitol

Berdasarkan hasil skoring pada tabel 7 diketahui ada dua perlakuan enkapsulasi yang dapat menyimpan eksplan selama 5 bulan tanpa merubah kondisi eksplan (eksplan tetap hijau). Perlakuan pertama adalah Manitol 3% (Ma) – ½ Manitol 3% (Mi) dan perlakuan kedua adalah Manitol 4% (Ma) – ½ Manitol 4% (Mi). Kedua perlakuan ini memiliki rerata nilai skoring ($1.00^a \pm 0.000$) yang artinya kondisi semua eksplan yang ada dalam perlakuan adalah hijau. Eksplan tidak mengalami pertumbuhan dan tetap hijau mungkin dikarenakan media masih menyediakan hara dan air untuk eksplan tapi tidak cukup untuk pertumbuhan. Aslani (1996), menyatakan bahwa alginat merupakan hidrogel yang mengandung 85 % air. Air tersebut rentan terhadap distorsi yang terkait dengan imbibisi (penyerapan air) atau dengan sineresis (penguapan air). Tendensi perkembangan eksplan setelah 5 bulan masa penyimpanan adalah mengalami penurunan. Hal ini dikarenakan semakin lama eksplan hasil penyimpanan dan enkapsulasi semakin

banyak mengalami pecoklatan atau klorosis

Tabel 3. Skoring kualitas kapsul setelah masa penyimpanan selama 5 bulan

Media Alginat (Ma)	Media inkubasi (Mi)	manitol 3%		manitol 4%	
		MS + VMW	½ (MS + VMW)	MS + MW	½ (MS + VMW)
Manitol 3%	MS + VMW	$0.58^{ab} \pm 0.188$	$1.00^a \pm 0.000$	$0.58^{ab} \pm 0.149$	$0.58^{ab} \pm 0.149$
	½ (MS + VMW)	$0.50^b \pm 0.131$	$0.58^{ab} \pm 0.149$	$0.67^{ab} \pm 0.142$	$0.42^b \pm 0.149$
Manitol 4%	MS + VMW	$0.42^b \pm 0.140$	$0.42^b \pm 0.149$	$0.58^{ab} \pm 0.149$	$1.00^a \pm 0.000$
	½ (MS + VMW)	$0.50^b \pm 0.151$	$0.50^b \pm 0.151$	$0.42^b \pm 0.149$	$0.58^{ab} \pm 0.149$

C. Regenerasi eksplan hasil enkapsulasi dan penyimpanan

Berdasarkan pengamatan diketahui bahwa eksplan yang dienkapsulasi pada media alginat (Ma) ½ M3% dan ½ M4% tidak mengalami regenerasi. Hal ini dikarenakan saat disubkultur eksplan telah mengalami pencoklatan. Roostika (2004) juga melaporkan bahwa pencoklatan jaringan sangat menurunkan regenerasi secara in vitro dari kultur melalui jalur organogenesis pada beberapa tanaman berkayu.

Regenerasi terjadi pada eksplan yang dibungkus media alginat (Ma) M3% dan M4%. Pengamatan terhadap parameter waktu inisiasi tunas eksplan hasil enkapsulasi dan penyimpanan berbeda secara sangat signifikan dengan eksplan kontrol. eksplan hasil enkapsulasi dan penyimpanan membutuhkan waktu lebih dari 30 hari untuk inisiasi, sedangkan eksplan kontrol hanya membutuhkan waktu rerata 6.25 hari. Waktu inisiasi akar eksplan hasil enkapsulasi membutuhkan waktu lebih dari 50 hari, eksplan kontrol hanya membutuhkan waktu rerata 35.83 hari. Perbedaan waktu inisiasi eksplan terjadi karena penyesuaian metabolisme karbohidrat. Perlakuan enkapsulasi dan penyimpanan menggunakan manitol

sebagai sumber karbohidrat sedangkan pada media regenerasi sumber karbohidratnya adalah sukrosa. Peristiwa ini dikenal dengan nama efek residu. Penelitian pada tanaman porwoceng (*Pimpinella pruatjan*)

menunjukkan bahwa pemberian osmoregulator yang cukup tinggi, membuat pertumbuhan menjadi abnormal (Roostika et al., 2009).

Tabel 4. Regenerasi buku tunas jeruk JC hasil enkapsulasi pada usia tiga bulan

PERLAKUAN			RERATA						
Media Algat (Ma)	Media Inkubasi (Mi)	Jumlah eksplan (N)	Inisiasi tunas ±SE	Inisiasi akar ±SE	jumlah daun ±SE	panjang akar ±SE	tinggi tunas ±SE	jumlah tunas ±SE	jumlah akar ±SE
M3%	M3%	7	32.67 ^a ±0.494	51.33 ^a ± 0.421	8.00 ^{bc} ±0.365	4.87 ^a ±0.176	3.73 ^a ±0.145	2.33 ^c ±0.210	1.33 ^b ±0.210
	½ M3%	12	32.83 ^a ±0.600	51.83 ^a ± 0.167	9.67 ^a ±0.210	4.88 ^a ±0.130	3.90 ^a ±0.126	3.50 ^{ab} ±0.341	2.67 ^a ±0.210
	M4%	7	32.33 ^a ±0.614	47.33 ^b ± 1.476	8.67 ^{ab} ±0.333	4.90 ^a ±0.131	3.93 ^a ±0.049	3.50 ^{ab} ±0.341	1.67 ^b ±0.210
	½M4%	7	33.17 ^a ±0.477	51.33 ^a ± 0.421	8.33 ^{bc} ±0.210	4.83 ^a ±0.105	3.97 ^a ±0.117	3.33 ^b ±0.210	1.67 ^b ±0.210
M4%	M3%	5	33.00 ^a ±0.632	45.83 ^b ± 0.307	7.50 ^{cd} ±0.223	4.88 ^a ±0.130	3.85 ^a ±0.143	3.67 ^{ab} ±0.210	1.50 ^b ±0.223
	½ M3%	5	33.00 ^a ±0.632	51.33 ^a ± 0.494	8.00 ^{bc} ±0.516	4.68 ^a ±0.252	3.90 ^a ±0.063	3.50 ^{ab} ±0.341	1.33 ^b ±0.210
	M4%	7	32.00 ^a ±0.516	51.33 ^a ± 0.494	7.17 ^d ±0.609	4.55 ^a ±0.138	3.88 ^a ±0.079	3.67 ^{ab} ±0.210	1.33 ^b ±0.210
	½M4%	12	31.67 ^a ±0.494	51.00 ^a ± 0.365	9.67 ^a ±0.333	4.58 ^a ±0.153	3.97 ^a ±0.033	3.83 ^{ab} ±0.166	2.50 ^a ±0.223
Kontrol		8	6.25 ^b ±0.861	35.83 ^c ± 1.759	9.48 ^a ±0.296	4.6 ^a ±0.263	4.05 ^a ±0.166	4.12 ^a ±0.001	2.62 ^a ±0.000

setelah masa penyimpanan

KESIMPULAN

Kombinasi media M3% (Ma) — ½ Manitol 3% (Mi) dan Manitol 4% (Ma)—½ Manitol 4% (Mi) dapat menyimpan eksplan tanaman jeruk Japansche Citroen (JC) selama lima bulan dengan skoring kualitas 1.00^a± 0.000 yang artinya kondisi eksplan semua hijau.

Media pertumbuhan yang cocok untuk regenerasi potongan buku jeruk JC adalah MS+VMW+Kin 0.3 mgL⁻¹. Tidak terdapat perbedaan nyata nilai regenerasi eksplan hasil enkapsulasi dan penyimpanan terhadap eksplan kontrol. Eksplan hasil enkapsulasi dan penyimpanan menjadi normal setelah 12 MST masa pertumbuhan

DAFTAR PUSTAKA

Aini, O., K. Quesenberry, M. Gallo, 2012. Photoperiod affects in vitro flowering in wild peanut *Arachis paraguariensis*. American Journal of Plant Sciences. 3(5): 567- 571.

Aslani P dan Ross AK. 1996. *Diffusion in alginate gel. Effec of cross linking with calcium or zinc ions in diffusion acetamnophem*, controed release 42: 75-82.

Budiarti D, Setyohadi, Sumarno. 2013. *Uji efektivitas ekstrak etanol kulit buah jeruk purut (Citrus hystrix D.C.) sebagai antibakteri terhadap Streptococcus mutans secara in vitro*. hlm 1 — 8.

Hildebrdan, D.F. YU, C.K. McCracken dan S.S. Rao. 2005. *Fatty acid manipulation In Plant Lipids: Biology, Utilisation dan Mamipulation*. (D.J. Murphy (Ed) Blackwell Publishing.

Jayanti, D. A. M, Agus S, Moch. Roviq, dan Moch. Dawam M. 2015. *Kompatibilitas Tujuh Varietas Calon Interstock Tanaman Jeruk pada Batang Bawah Japansche*

- [Citroen \(JC\)](#). *Jurnal Produksi Tanaman*. 5 (5).
- Leunufna, S. 2004. Improvement of the in vitro maintenance dan cryopreservation of yams (*Dioscorea* spp.). Martin Luther Universitat Halle-Wittenberg. Berlin. 1. 20 p. [Dissertation].
- Mariska, I., Suwarno, dan Djoko S. Damardjati. 1996. Pengembangan konservasi in vitro sebagai salah satu bentuk pelestarian plasma nutfah di dalam bank gen. Seminar Penyusunan Konsep Pelestarian Ex Situ Plasma Nutfah Pertanian. f, 18 Desember 1996. Bogor : Balitbio.
- Pusdatin [Pusat data dan sistem informasi pertanian]. 2015. Outlook jeruk, komodias pertanian subsektor hortikultura jeruk. Jakarta: Direktorat Jenderal Hortikultura. ISSN 1907-1507. Hlm 78.
- Roostika I., Purnamaningsih R., dan Darwati. 2009. in vitro preservation of Pruatjan (*Pimpinella pruatjan* Molck.) using dilution paclobutrazo. *AgroBiogen*. 15(2): 84 – 90.
- Suryowinoto, M. 1989. Fusi protoplas. Yogyakarta : PAU Bioteknologi, Universitas Gadjah Mada. hlm.3-301, 03-260.
- Suryowinoto, M. 2000. Petunjuk laboratorium, pemuliaan tanaman secarain vitro. Yogyakarta : PAU Universitas Gadjah Mada. hlm. 213-234, 269-294.
- Suryowinoto, M. 1996. Prospek kultur jaringan dalam per-kembangan pertanian modern. Yogyakarta : Universitas Gadjah Mada. hlm. 2-1.
- Towill, L.E. dan R.L. Jarret. 1992. Cryopreservation of sweet potato (*Ipomoea batatas* [L.] Lam.) shoot by vitrification. *Plant Cell Rep*. 11:175-178.