

STUDI KARAKTER MORFOLOGI DAUN DAN IDENTIFIKASI PLOIDI TANAMAN F1 JERUK HASIL FUSI PROTOPLAS JERUK SIAM MADU DENGAN MANDARIN SATSUMA

STUDY OF LEAF CHARACTER AND PLOIDY IDENTIFICATION OF F1 RESULTED FROM PROTOPLAST FUSION "SIAM MADU AND SATSUMA MAN`DARIN"

Lailil Fitra Annisa¹⁾, Chaireni Martasari²⁾ Lita Soetopo, Sri Lestari Purnamaningsih¹⁾

¹⁾Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya
Jl. Veteran, Malang 65145 Jawa Timur, Indonesia

²⁾Balai Penelitian Tanaman Jeruk dan Buah Sub tropik
Jl. Raya Tlekung No.1 Junrejo Kota Batu 65301, Indonesia

^{*)}E-mail : laililfitra14@gmail.com

ABSTRAK

Jeruk merupakan tanaman hortikultura yang banyak dibudidayakan di Indonesia. Salah satu jenis jeruk lokal yang potensial untuk dikembangkan ialah Siam Madu. Siam Madu memiliki kulit yang tipis sekitar 2 mm, permukaannya halus dan licin, serta memiliki rasa yang manis, bentuk daun memanjang. Jumlah biji pada jeruk Siam Madu cukup tinggi antara 10-15 biji per buah (Sukarmin, 2008). Untuk memperoleh jumlah biji yang sedikit pada jeruk Siam Madu, dibutuhkan teknologi pemindahan sifat tanpa biji (*seedless*) dari Mandarin Satsuma yang memiliki sifat male steril. Salah satunya dengan fusi protoplas. Fusi protoplas ialah penggabungan dua atau lebih protoplas yang bersentuhan dan melekat satu sama lain. (Mollers *et al.*, 1992). Dari fusi protoplas tersebut, dapat diketahui tipe ploidi dan karakter-karakter daun tanaman hasil fusi. Sel dari jaringan daun muda digunakan untuk fusi protoplas. Tanaman hasil fusi protoplas menimbulkan manipulasi ploidi yaitu allopoliploid. Allopoliploid ialah keadaan dimana yang terlibat ialah set-set kromosom non-homolog (Elord *et al.*, 2002). Pengamatan ploidi dilakukan menggunakan alat flowcitometry. Penelitian dilaksanakan pada bulan April sampai dengan bulan September 2013. Tempat di Balai Penelitian Tanaman Jeruk dan Buah Subtropik (BALITJESTRO). Karakterisasi pada jeruk dilakukan pada

tanaman jeruk yang telah berumur tiga tahun.

Pada hasil pengamatan, terdapat kelompok yang memiliki karakter daun kombinasi kedua tetuanya dan dapat diketahui bahwa FS14 dan FS69 memiliki ploidi tetraploid. Sedangkan pada FS31 termasuk diploid.

Kata kunci : Jeruk Siam Madu, Satsuma Mandarin, Fusi Protoplas, Ploidi

ABSTRACT

Citrus is horticulture plant widely cultivated in Indonesia. One of the potential local citrus to develop is siam Madu. Siam Madu has a thin skin about 2 mm, the surface smooth and slippery, having a sweet taste, and a lengthwise leaf shape. The number of seeds on Siam Madu is about 10-15 seeds per piece (Sukarmin, 2008). To obtain a minimum seeds on Siam Madu, needed transfer technology of seedless by Mandarin Satsuma which have male steril characteristic. One of them is using protoplast fusion. Protoplast fusion is the merger of two or more protoplas that touch and attached each other (Mollers *et al.*, 1992). From the protoplast fusion, it can be seen type of the ploidy and characters of leaves as fusion result. Cells from young leaf used for protoplast fusion. Protoplast fusion had resulted plants which inflict polidy manipulation called Allopolyploid. Allopolyploid is condition where involved

sets of non-homolog chromosomes (Elord *et al.*, 2002). Ploidy observed using flowcytometry tools. Research was conducted from April to September 2013 in Balai Penelitian Tanaman Jeruk dan Buah Subtropik (BALITJESTRO). Characterization of citrus carried on citrus plants that has been three years old. On the results, there are groups that have combination character leaves from two parental and it can be seen that FS14 and FS69 having ploidy tetraploid. While in FS31 including diploid.

Keyword : Siam Madu, Satsuma Mandarin, Protoplast Fusion, Ploidy

PENDAHULUAN

Jeruk merupakan tanaman hortikultura yang banyak dibudidayakan di Indonesia. Potensi pengembangan usaha tani jeruk dapat memberikan keuntungan maksimal bagi petani karena jeruk memiliki nilai ekonomis tinggi serta kaya manfaat diantaranya dapat meningkatkan kekebalan tubuh, mencegah tubuh dari serangan penyakit flu. Salah satu jenis jeruk lokal yang potensial untuk dikembangkan ialah Siam Madu. Siam Madu memiliki kulit yang tipis sekitar 2 mm, permukaannya halus dan licin, serta memiliki rasa yang manis, bentuk daun memanjang. Namun kendala pengembangan jeruk Siam Madu ialah jumlah biji pada jeruk Siam Madu cukup tinggi antara 10-15 biji per buah (Sukarmin, 2008).

Untuk memperoleh jumlah biji yang sedikit pada jeruk Siam Madu, dibutuhkan teknologi pemindahan sifat tanpa biji (seedless) dari Mandarin Satsuma yang memiliki sifat male steril. Fusi protoplas merupakan teknik penggabungan inti dan atau sitoplasma antara dua genotipe yang berbeda secara *in vitro* untuk mendapatkan hibrida dengan sifat-sifat yang diinginkan. Fusi protoplas memberi peluang produksi hibrida interspesifik maupun intergenerik yang secara konvensional melalui persilangan seksual tidak bisa berlangsung. Dari fusi protoplas tersebut, dapat diketahui tipe ploidi dan karakter-karakter daun tanaman hasil fusi. Sel dari jaringan daun muda digunakan untuk fusi protoplas.

Tanaman hasil fusi protoplas menimbulkan manipulasi ploidi yaitu allopoliploid. Allopoliploid ialah keadaan dimana yang terlibat ialah set-set kromosom non-homolog (Elord *et al.*, 2002).

Kondisi sitogenetik tanaman hasil fusi protoplas jeruk Siam Madu dengan Mandarin Satsuma belum diketahui sehingga perlu adanya pengamatan perubahan sitologi sebagai indikasi keberhasilan pemuliaan. Pengamatan sitologi dilakukan pada tingkat ploidi yang dimiliki oleh setiap individu tanaman melalui flowcytometry. Data yang didapatkan berupa histogram.

Tujuan penelitian ini untuk mengetahui karakter morfologi fisik daun tanaman hasil fusi (fusan) dan untuk mengidentifikasi ploidi yang ada dalam tanaman fusan. Hipotesis yang diajukan ialah terdapat morfologi daun yang berbeda dari induknya dan terdapat tipe ploidi yang berbeda pada tanaman fusan dengan tetuanya.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan pada bulan April sampai dengan bulan September 2013. Tempat di Balai Penelitian Tanaman Jeruk dan Buah Subtropik (BALITJESTRO). Karakterisasi pada jeruk dilakukan pada tanaman jeruk yang telah berumur tiga tahun. Peralatan yang digunakan yaitu penggaris, timbangan analitik, cawan petri, pipet, gelas ukur dan flowcytometer (alat untuk menganalisis ploidi). Secara kimia dapat diinduksi menggunakan larutan garam tertentu (NaNO_3 , NaCl , KNO_3 , dan KCl), PEG (Poli Etilen Glikol) sebagai bahan penginduksi terjadinya fusi protoplas (Grosser and Gmitter, 1990). Bahan yang digunakan ialah 46 fusan dan induk jeruk Siam Madu serta Satsuma Mandarin, daun muda, buffer ekstraksi (Tris-MgCl₂ buffer), larutan pewarna 4,6-Diamidino-2-phenylindol (DAPI). Kegiatan pelaksanaan penelitian meliputi karakterisasi dan identifikasi ploidi. Karakterisasi dilakukan dengan mengamati karakter kualitatif dan kuantitatif daun.

Karakter kualitatif pada daun ialah warna daun, tipe daun, sayap daun, bentuk

sayap, tepi daun dan bentuk anak tulang daun. Pengamatan karakter kuantitatif ialah panjang daun, lebar daun. Hasil analisa data kualitatif menggunakan sistem skoring dalam bentuk biner dan hasilnya berupa dendogram yang dibuat dengan software NTSYS 2.1. Hasil analisa flowcitometry berupa histogram yang menunjukkan adanya perubahan sel atau tingkat ploidi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakter Kuantitatif Daun Jeruk Hasil Fusi Protoplas

Pada gambar 1 pengamatan kuantitatif daun, parameter yang diamati ialah panjang dan lebar daun. Panjang daun pada asesi berkisar antara 3.03cm - 6.53cm. sedangkan yang terpanjang ialah FS 56 (6.53 cm). Untuk lebar daun berkisar antara nilai 1.6cm – 3.48cm. Sedangkan untuk Siam Madu memiliki panjang 7 cm dan lebar 3.5 cm. sedangkan untuk Satsuma Mandarin memiliki 9.2 cm dan lebar daun 4.3 cm. Pada tanaman fusan, memiliki nilai yang lebih rendah dari tetuanya (Satsuma Mandarin). Secara umum hasil karakter daun tanaman fusan memiliki ukuran panjang dan lebar yang beragam.

Analisis Karakter Kualitatif Daun Jeruk Hasil Fusi Protoplas

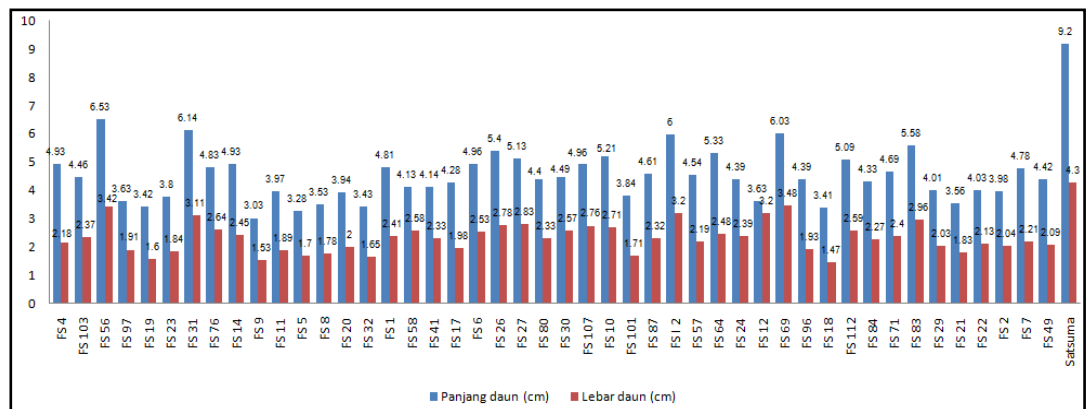
Pengamatan karakter kualitatif menggunakan dendogram dengan system Clustering. Hal ini bertujuan untuk mempermudah melihat hubungan

kekerabatan tanaman fusan dengan parentalnya. Selanjutnya karakter yang telah di clusterkan tersebut dianalisa dengan menggunakan program Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System (NTSYS 2.1). Hasil dari clustering tersebut ditampilkan dalam bentuk dendogram. Dendogram untuk 46 tanaman fusan dengan karakter daun dilihat pada gambar 2.

Berdasarkan hasil analisis dendogram, pengamatan karakter daun tidak memiliki banyak variasi. Pada dendogram karakter daun (gambar 2) terdiri dari 2 cluster. Cluster tersebut terdiri dari cluster A dan B. Anggota cluster dapat dilihat pada tabel 1. Cluster A memiliki jarak koefisien kemiripan 0,75. Sedangkan cluster B memiliki jarak koefisien kemiripan 0,74. Pada dendogram karakter daun terdiri dari 2 cluster. Cluster tersebut terdiri dari cluster A dan B. Cluster A memiliki jarak koefisien kemiripan 0.75. Sedangkan cluster B memiliki jarak koefisien kemiripan 0.74. Pada umumnya karakter daun tanaman fusan lebih mirip seperti Siam Madu.

Pada hasil pengamatan karakter morfologi daun, dapat digolongkan dalam kelompok yang identik dengan Siam Madu dan kombinasi antara Siam Madu dengan Satsuma Mandarin. Karakter tersebut tersaji dalam tabel

Menurut Husni (2010), kebanyakan varietas jeruk Siam memiliki bentuk dan ukuran daun yang bisa di bedakan dari jenis jeruk lainnya.

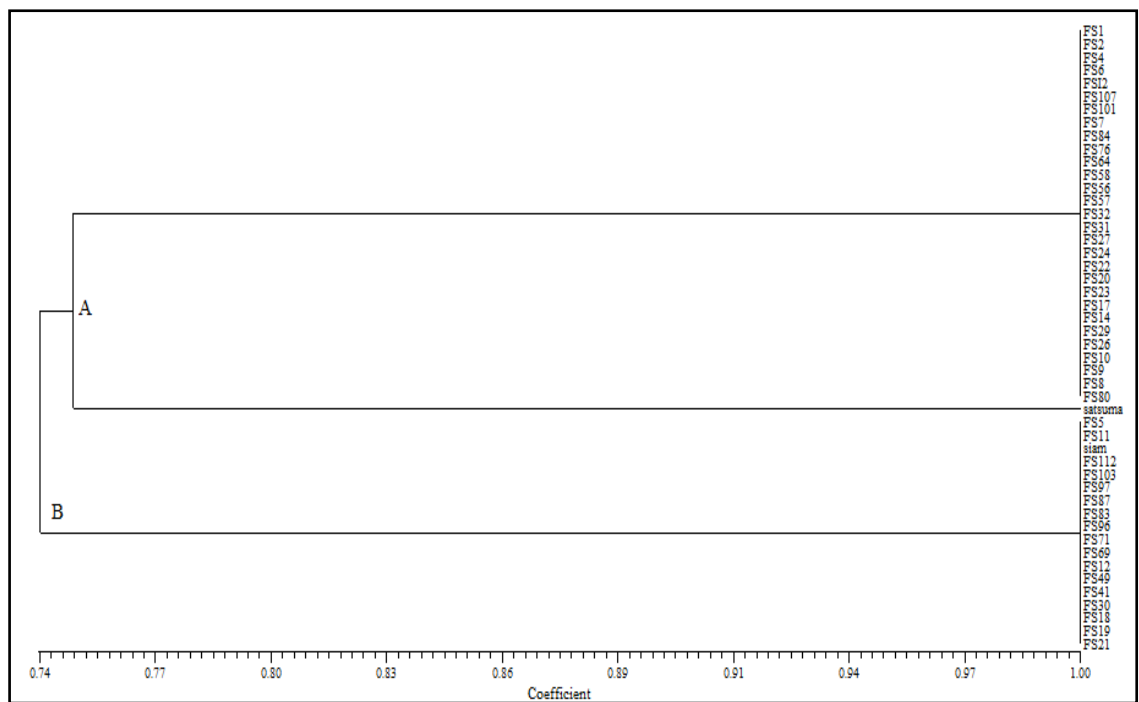


Gambar 1 Panjang dan Lebar Daun Tanaman Fusan beserta Tetuanya

Bentuk daunnya oval dan berukuran sedikit lebih besar dari jeruk keprok Garut. Ukuran daunnya sekitar 7.5 cm x 3.9 cm dan memiliki sayap daun kecil yang berukuran 0.8 x 0.2 cm. Ujung daunnya agak terbelah, sedangkan bagian pangkalnya meruncing. Urat daunnya menyebar sekitar 0,1 cm dari tepi daun.

Pada pengamatan, ditemui kombinasi antara Siam Madu dengan Satsuma Mandarin (tabel 2). Kombinasi tersebut dapat diakibatkan dari sifat tanaman hasil fusi protoplas yang beragam. Menurut Mariska dkk, (2006) hasil dari fusi protoplas secara umum terdiri dari 3 kemungkinan

yaitu menghasilkan hibrid atau kombinasi dua genom lengkap, menghasilkan asymmetric hybrid atau partial hybrid sebagian inti dari salah satu tetua bergabung, dan menghasilkan sibirid. Oleh karena itu, variasi rekombinan sifat genetik di dalam tanaman hasil fusi akan sangat beragam dalam frekuensi yang berbeda. Menurut Cheng *et al.*, (2003) fusi protoplas memungkinkan penggabungan ciri-ciri sitoplasma pada tanaman yang telah diketahui bahwa kloroplas dan mitokondria diwariskan secara maternal pada hibridisasi seksual.



Gambar 2 Dendrogram Karakter Daun Tanaman Fusan beserta Tetuanya

Tabel 1 Anggota Cluster dari Dendrogram Daun

No	Cluster	Asesi
1	A	FS1, FS2, FS4, FS6, FS 7, FSI2, FS101, FS107, FS84, FS76, FS64, FS58, FS56, FS57, FS32, FS31, FS27, FS24, FS22, FS20, FS23, FS17, FS14, FS29, FS26, FS10, FS9, FS8, FS80, Satsuma
2	B	FS5, FS11, Siam, FS112, FS 103, FS97, FS87, FS83, FS96, FS71, FS69, FS12, FS49, FS41, FS30, FS18, FS19, FS 21

Laili Fitra Annisa, et.al.,: *Studi Karakter Morfologi Daun dan Identifikasi Ploiditas Tanaman...*

Tabel 2 Karakter Morfologi Daun Berdasarkan Karakter Kualitatif

Asesi	Warna daun	Tipe daun	Sayap daun	Bentuk anak tulang daun	Ket
Satsuma Mandarin	Hijau tua	Daun tunggal	Bersayap	Melengkung	Tetua
Siam Madu	Hijau tua	Daun tunggal	Tanpa sayap	Lurus	Tetua
FS1, FS2, FS4, FS6, FS 7, FS12, FS101, FS107, FS84, FS76, FS64, FS58, FS56, FS57, FS32, FS31, FS27, FS24, FS22, FS20, FS23, FS17, FS14, FS29, FS26, FS10, FS9, FS8, FS80	Hijau tua	Daun tunggal	Tanpa sayap	Melengkung	Kombinasi kedua tetua
FS5, FS11, FS112, FS 103, FS97, FS87, FS83, FS96, FS71, FS69, FS12, FS49, FS41, FS30, FS18, FS19, FS 21	Hijau tua	Daun tunggal	Tanpa sayap	Lurus	Identik Siam Madu

Karakter Ploiditas Berdasarkan Flowcitometry

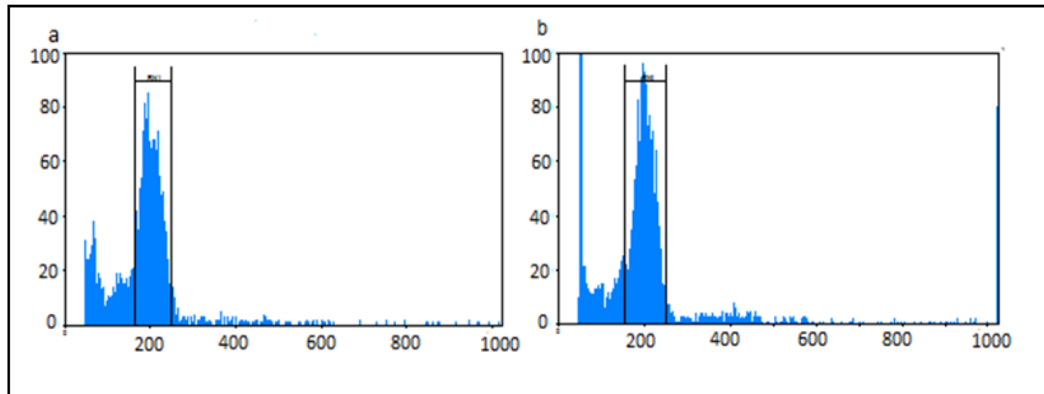
Jaringan tanaman yang digunakan untuk isolasi protoplas bervariasi. Umumnya jaringan muda dari tanaman yang mempunyai umur fisiologis yang muda seperti pucuk muda (dari kecambah, bibit, planlet). Protoplas dari jaringan dinding selnya masih sederhana yang terdiri dari sel primer atau belum berlinea.

Langkah awal untuk menentukan tanaman fusan mengalami fusi atau tidak, dapat diketahui dengan menggunakan flowcitometry. Menurut Xu *et al* (2006), untuk mengidentifikasi hibrida somatik pada tahap awal dapat dilakukan dengan menentukan tingkat ploidi secara cepat dengan Flowcytometry. Pada kontrol 2n memiliki peak 90 dan berada di gate 200 sehingga tergolong diploid. FS31 berada pada gate 200 disebut diploid, sedangkan FS69 dan FS14 tetraploid karena berada pada gate 400. Dapat dilihat pada tabel 3. Namun demikian perlu diuji lebih lanjut pada pengamatan jumlah kromosom. Sehingga dapat diketahui jumlah kromosom tanaman tersebut. Histogram dapat dilihat pada gambar 3 dan gambar 4.

Menurut Bhojwani dan Razdan (1996) dalam Martono (2009) bahwa variasi rekombinan karakter genetik di dalam tanaman hasil fusi akan sangat beragam dalam frekuensi yang berbeda. Variasi

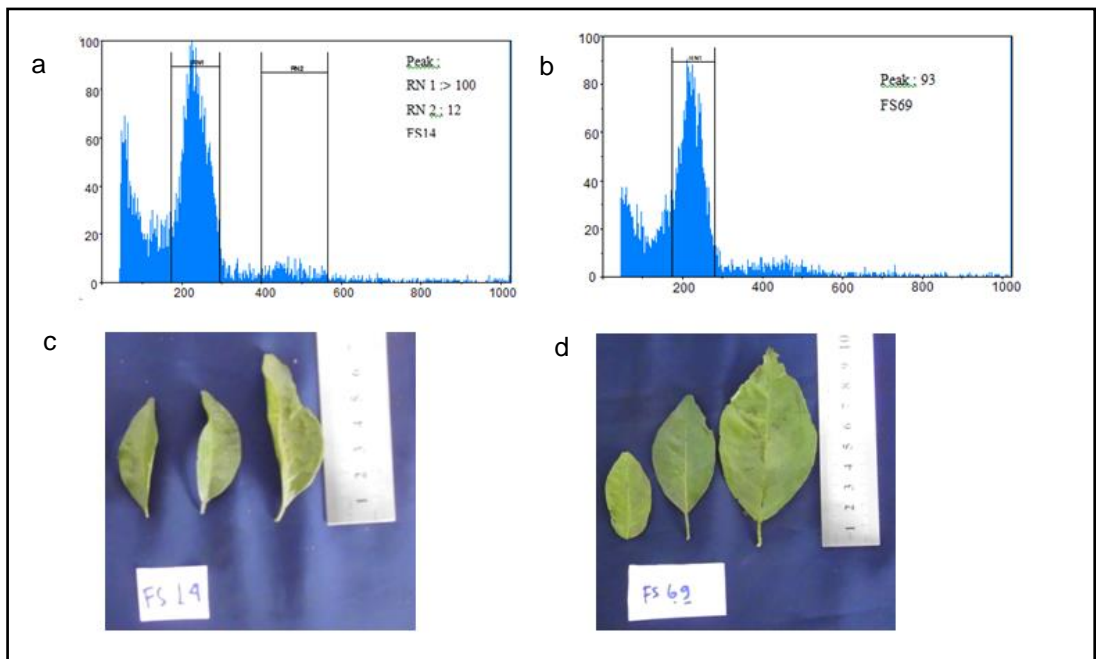
(keragaman) hibrida somatik dapat merupakan hasil dari satu atau ketiga mekanisme berikut: 1. Keragaman genetik akibat sub kultur kalus yang dilakukan terus menerus yang mengakibatkan suatu variasi somaklonal. 2. Ketidakstabilan dari kombinasi inti sel yang mengakibatkan hilangnya ekspresi gen atau hilangnya bagian dari informasi genetik. 3. Terjadinya segregasi dari inti atau sitoplasma setelah fusi yang menghasilkan kombinasi unik antara informasi genetik pada inti dan sitoplasma.

Variasi atau keragaman juga dapat terjadi karena pada tanaman hasil fusi protoplas kemungkinan ploidi yang terjadi ialah allopoliploid. Menurut Vandepoel *et al* (2003), allopoliplod segmental (sebagian kromosom homolog) menyebabkan steril sebagian, dan allopoliploid (semua kromosom tidak homolog) menyebabkan steril penuh. Allopoliploid segmental memiliki segmen kromosom homologous dan homoeologous (homolog parsial) yang selama meiosis dapat terjadi bivalen dan multivalen, sehingga pewarisannya campuran disomik-polisomik. Menurut Sparrow *et al* (1976), tujuan induksi allopolyploid ialah mengkombinasikan sifat-sifat yang diinginkan dari tetua diploid kedalam satu tanaman.



Gambar 3 Hasil Flowcitometry

Keterangan : a) Hasil flow citometry diploid FS 31 b) Hasil flow citometry kontrol 2n



Gambar 4 Flowcitometry dan Daun Tanaman Fusan

Keterangan a) Hasil Flowcitometry FS 14 Ploidi Tetraploid b) Flowcitometry FS 69 Ploid Tetraploid c) Daun Jeruk Fusan FS14 d) Daun Jeruk Fusan FS 69

Tabel 3 Ploidi pada Tanaman Fusan

Asesi	Tipe ploidi
FS31, FS58, FS11, FS30, FS19, FS41, FS15, FS101, FS24, FS1, FS112, FS97, FS9, FS10, FS26, FS80, FS84, FS4, FS12, FS2, FS21, FS32, FS27, FS13, FS49, FS96, FS87, FS107, FS56, FS71, FS12, FS83	Diploid (2n)
FS69, FS14	Tetraploid (4n)

KESIMPULAN

Pada hasil penelitian, menunjukkan bahwa berdasarkan karakter morfologi daun, kombinasi antara Siam Madu dan Satsuma Mandarin FS1, FS2, FS4, FS6, FS 7, FS12, FS101, FS107, FS84, FS76, FS64, FS58, FS56, FS57, FS32, FS31, FS27, FS24, FS22, FS20, FS23, FS17, FS14, FS29, FS26, FS10, FS9, FS8, FS80. Berdasarkan ploidi, FS69 dan FS14 tergolong tetraploid.

DAFTAR PUSTAKA

- Cheng, Y. J., Guo, Wen, W., and Deng, X.X. 2003.** Molecular characterization of cytoplasmic and nuclear genomes in phenotypically abnormal Valencia orange (*Citrus sinensis*) + Meiwa kumquat (*Fortunellacracassifolia*) intergeneric somatic hybrids. *Plant Cell*. 21(5): 445-451.
- Elord, Susan, D. and Standfield, William. 2002.** Schaums genetika. Erlangga. Jakarta.
- Grosser, Jude, W and Gmitter, Freed, G. 1990.** Protoplast fusion and citrus improvement. *Plant Breeding Reviews*. 10(8):339-374.
- Husni, Ali. 2010.** Fusi Protoplas Interspecies Antara Jeruk Siam Simadu (*Citrus Nobilis*Lour.) dengan Mandarin Satsuma (*C. Unshiu* Marc.) [online]. Available at <http://repository.ipb.ac.id/handle/123456789/55022>. Verified 18 Juli 2016.
- Martono, B. 2009.** Keragaman Genetik, Heritabilitas dan Korelasi antara Karakter Kuantitatif Nilam (*Pogostemon* sp) Hasil Fusi Protoplas. *Jurnal Penelitian Tanaman Industri*. 15(1):9 – 15.
- Mollers, C. S. Zhang, and G. Wenzil. 1992.** The influence of silver thiosulfate on potato protoplast culture. *Plant Breed*. 108 (1):12-18.
- Mariska I., dan Husni, A. 2006.** Perbaikan Sifat Genotipe Melalui Fusi Protoplas pada Tanaman Lada, Nilam dan Terung. *Jurnal Litbang Pertanian*. 25 (2):55-60
- Sparrow and Nauman. 1976.** Evolution of Genome Size by DNA Doublings. *Science*. 192(4239): 524-529.
- Sukarmin dan F. Ihsan. 2008.** Teknik Persilangan Jeruk (*Citrus* sp.) untuk perakitan varietas unggul baru. *Bulletin teknik pertanian* 13(1):12-15.
- Vandepoel, K. C., Simillion and Y. Van de Peer. 2003.** Evidence That Rice and Other Cereals Are Ancient Aneuploids. *Plant Cell*. 15(9):2192-2202.
- Xu, X. Y., Liu, J. H., and Deng Xiuxin. 2006.** Isolation of Cytoplasts from Satsuma Mandarin (*Citrus unshiu* Marc) and production of alloplasmic hybrid calluse via cytoplastprotoplast male sterility. *Plant Cell* 25(6):533-539.