

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil

4.1.1 Kondisi Awal

Benih batang bawah Japansche Citroen (JC) yang digunakan sebagai sampel pada penelitian ini berbeda-beda, yaitu berasal dari buah dan pohon yang berbeda. Jumlah biji yang digunakan juga berbeda pada setiap kategorinya, tergantung dari buah yang didapatkan (Tabel 2).

Tabel 2. Jumlah Sampel Penelitian

Kriteria	Kategori						
	Bobot Buah (buah)			Jumlah Biji Per Buah (biji)		Diameter Biji (biji)	
	Besar	Sedang	Kecil	Banyak	Sedikit	Besar	Kecil
Jumlah	4	20	36	604	309	386	527
Total	60			913		913	
Biji Tidak Layak (biji)				27	19	27	19
Total				46		46	
Biji Layak (biji)				577	290	359	508
Total				867		867	
Pengamatan Mikroskopis (biji)				256	119	152	223
Total				375		375	
Pengamatan Hasil Semaian (biji)				321	171	207	285
Total				492		492	

Jumlah sampel buah yang didapatkan berdasarkan kategori bobot buah ialah 60 buah yang sudah termasuk dalam tiga kriteria bobot buah besar, sedang dan kecil, dengan sampel buah terbanyak pada kategori bobot buah kecil. Dari jumlah sampel buah tersebut, jumlah biji yang didapatkan dalam kategori jumlah biji per buah banyak dan sedikit sebanyak 913 biji, dengan jumlah biji per buah banyak merupakan sampel terbanyak. Jumlah biji tersebut, dibagi menjadi kategori diameter biji ukuran besar maupun kecil dengan jumlah biji pada kategori diameter kecil lebih banyak dibandingkan dengan diameter biji besar. Biji tersebut tidak semuanya dapat digunakan sebagai sampel penelitian, karena terdapat biji yang tidak layak untuk digunakan yaitu biji yang mengapung pada saat direndam air, hampa maupun biji yang masih terlalu muda sebanyak 46 biji. Biji yang layak digunakan sebagai sampel hanya 867 biji. Dari jumlah biji yang layak tersebut, termasuk dalam pengamatan mikroskopis maupun pengamatan hasil semaian

(melihat mutu genetis semaian). Jumlah biji terbanyak pada kategori jumlah biji per buah pengamatan mikroskopis maupun pengamatan hasil semaian terdapat pada kategori jumlah biji per buah banyak, berbeda dengan kategori diameter biji, jumlah sampel biji terbanyak terdapat pada kategori diameter biji kecil.

4.1.2 Persentase Benih JC Poliembrioni dan *Multiple Seedling*

Benih Japansche Citroen (JC) yang digunakan sebagai batang bawah mempunyai sifat poliembrioni yang berbeda pada setiap kategori, demikian pula pada benih monoembrioni. Perbedaan tersebut dapat dilihat dari kualitas buah maupun benih itu sendiri. Persentase benih JC poliembrioni dan *multiple seedling* disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Persentase Benih JC Poliembrioni dan *Multiple Seedling* Berdasarkan Kategori Bobot Buah, Jumlah Biji Per Buah dan Diameter Biji

Kategori	Mikroskopis				Hasil Semaian						
	Monoembrio		Poliembrio		Tunggal		<i>Multiple Seedling</i>		Mati		
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
Bobot Buah (g)	Besar ($\geq 158,09$)	16	4,27	11	2,93	16	3,25	7	1,42	4	0,81
	Sedang (107,68-158,08)	71	18,93	74	19,73	138	28,05	42	8,54	12	2,44
	Kecil ($\leq 107,67$)	123	32,80	80	21,33	201	40,85	56	11,38	16	3,25
Sub Total		210	56	165	44	355	72,15	105	21,34	32	6,50
Jumlah Biji Per Buah (biji)	Banyak (≥ 15)	151	40,27	105	28,00	229	46,54	66	13,41	26	5,28
	Sedikit (≤ 14)	59	15,73	60	16,00	126	25,61	39	7,93	6	1,22
	Sub Total	210	56	165	44	355	72,15	105	21,34	32	6,50
Diameter Biji (cm)	Besar ($\geq 0,41$)	67	17,87	85	22,67	128	26,02	67	13,62	12	2,44
	Kecil ($\leq 0,4$)	143	38,13	80	21,33	227	46,14	38	7,72	20	4,07
	Sub Total	210	56	165	44	355	72,15	105	21,34	32	6,50
Σn		375				492					
$\Sigma \%$		100				100					

Keterangan : n = jumlah biji setiap kriteria ; % = jumlah persentase setiap kriteria ; Σn = total jumlah biji pada setiap pengamatan ; $\Sigma \%$ = total jumlah persentase pada setiap pengamatan

Persentase benih JC pada 3 kategori yaitu bobot buah, jumlah biji per buah dan diameter biji berbeda pada pengamatan mikroskopis maupun pada pengamatan hasil semaian. Persentase benih JC poliembrio pada pengamatan mikroskopis sebesar 44% (Gambar 7) sedangkan benih monoembrio sebesar 56%. Berbeda dengan pengamatan hasil semaian yang mempunyai persentase *multiple seedling*

21,43%, semaian tunggal 72,15% dan sisanya sebesar 6,50% mati atau tidak tumbuh. Persentase maksimal semaian yang mampu tumbuh pada penelitian ini ialah sebesar 93,50%. Hasil persentase benih JC poliembrio yang diamati di mikroskop dan yang disemaikan (*multiple seedling*) memiliki selisih sebesar 22,66%.



Gambar 7. Benih JC Poliembriani

Berdasarkan Tabel 3, dapat diketahui bahwa semakin kecil atau ringan bobot buah, maka persentase biji yang mempunyai embrio tunggal (monoembrio) dan embrio lebih dari satu (poliembrio) semakin tinggi. Pada kategori jumlah biji per buah, diketahui bahwa semakin banyak jumlah biji yang terdapat dalam buah maka persentase benih monoembrio dan poliembrio semakin tinggi. Demikian pula sejalan dengan pengamatan hasil semaian yang menjelaskan semakin kecil bobot buah dan semakin banyak jumlah biji per buah, maka persentase benih JC semaian tunggal dan *multiple seedling* semakin tinggi. Berbeda dengan kategori diameter (ukuran) biji, yaitu semakin kecil diameter (ukuran) biji, maka persentase monoembrio dan semaian tunggal semakin tinggi, namun persentase benih poliembrio dan *multiple seedling* semakin rendah. Persentase *multiple seedling* yang dihasilkan pada penelitian ini, mempunyai jumlah diameter (ukuran) biji besar hampir dua kali lipat dari biji dengan diameter kecil, namun pada persentase benih poliembrio hal tersebut tidak sama karena hanya terpaut sekitar 2%.

Hasil analisis selang kepercayaan rerata persentase benih JC pengamatan mikroskopis maupun pengamatan hasil semaian ditunjukkan oleh Tabel 4. Berdasarkan Tabel 4, kategori bobot buah, kategori jumlah biji per buah serta kategori diameter biji tidak mampu mempengaruhi rerata persentase monoembrio maupun poliembrio. Tidak adanya pengaruh, juga terdapat pada kategori bobot

buah serta kategori jumlah biji per buah pada rerata persentase semaian tunggal dan *multiple seedling*, hanya kategori diameter biji yang mampu mempengaruhi rerata persentase hasil semaian tunggal dan semaian *multiple seedling*. Biji dengan diameter kecil mempunyai rerata persentase tertinggi dan berpengaruh nyata terhadap persentase semaian tunggal apabila dibandingkan dengan diameter biji besar, namun sebaliknya pengaruh nyata terdapat pada diameter biji besar dalam meningkatkan rerata persentase semaian *multiple seedling* yaitu hampir tiga kali lipat apabila dibandingkan dengan biji berdiameter kecil.

Tabel 4. Rerata Persentase Benih JC Monoembrio, Poliembrio, Semaian Tunggal dan *Multiple Seedling*

Kategori	Mikroskopis		Hasil Semaian			
	Monoembrio (%)	Poliembrio (%)	Tunggal (%)	<i>Multiple Seedling</i> (%)	Mati (%)	
Bobot Buah (g)	Besar ($\geq 158,09$)	54,38	45,62	61,02	27,31	0,50
	Sedang (107,68-158,08)	49,11	50,89	73,71	20,18	0,30
	Kecil ($\leq 107,67$)	58,39	41,61	72,03	23,71	0,23
Jumlah Biji Per Buah (biji)	Banyak (≥ 15)	57,31	42,69	69,47	23,22	0,39 b
	Sedikit (≤ 14)	51,60	48,40	74,77	22,18	0,11 a
Diameter Biji (cm)	Besar ($\geq 0,41$)	47,17	52,83	61,44 a	34,98 b	0,20
	Kecil ($\leq 0,4$)	62,01	37,99	81,92 b	10,94 a	0,33

Keterangan : Bilangan yang didampingi oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama di setiap kategori menunjukkan berbeda nyata berdasarkan analisis selang kepercayaan (Confidence Interval) 95%

Hal berbeda terdapat pada rerata persentase semaian yang mati, yaitu pada kategori jumlah biji per buah mampu mempengaruhi kematian semaian dan kategori bobot buah serta diameter (ukuran) biji tidak mempengaruhi hasil semaian mati. Buah dengan jumlah biji banyak merupakan persentase tertinggi yang mampu memberikan pengaruh nyata terhadap rerata persentase semaian mati, sehingga meningkatkan hasil semaian mati hampir tiga kali lipat apabila dibandingkan dengan kategori jumlah biji per buah yang sedikit.

4.1.3 Jumlah Embrio Per Benih (Poliembrioni)

Benih JC poliembrioni yang mempunyai embrio lebih dari satu pada setiap benih, mempunyai jumlah embrio yang berbeda-beda pada benih yang berbeda.

Embrio yang terdapat dalam benih dapat dihitung tiap embrio ialah satu keping, apabila jumlah tersebut lebih, maka dapat dikatakan jumlah embrio pada setiap benih berjumlah lebih dari satu (poliembrioni). Rerata jumlah embrio pada 3 kategori berbeda yaitu kategori bobot buah berkisar antara 1,49-1,51 biji, kategori jumlah biji per buah yaitu 1,53-1,62 biji sedangkan pada kategori diameter biji sebesar 1,42-1,73 biji.

Jumlah embrio per benih berkisar antara 1-6 embrio yang termasuk didalamnya mengandung embrio zigotik maupun embrio nuselar. Persentase biji yang mempunyai embrio lebih dari satu ialah sebesar 44% dari total biji awal yang disemaikan. Persentase jumlah biji dengan 2 embrio sebesar 32,80%, jumlah 3 embrio per benih sebesar 9,33%, jumlah 4 embrio per benih sebesar 1,60% dan pada jumlah 6 embrio per benih sebesar 0,27%. Jumlah 5 embrio per benih tidak terdapat pada benih JC pada penelitian ini yang disajikan pada Tabel 5.

Tabel 5. Rerata Jumlah Embrio Per Benih dan Persentase Jumlah Embrio Per Benih Pada Pengamatan Mikroskopis

Kategori	Rerata Jumlah Embrio	2 embrio		3 embrio		4 embrio		6 embrio		
		n	%	n	%	n	%	n	%	
Bobot Buah (g)	Besar ($\geq 158,09$)	1,49	10	2,67	1	0,27	0	0,00	0	0,00
	Sedang ($107,68-158,08$)	1,69	52	13,87	17	4,53	4	1,07	1	0,27
	Kecil ($\leq 107,67$)	1,51	61	16,27	17	4,53	2	0,53	0	0,00
Sub Total			123	32,80	35	9,33	6	1,60	1	0,27
Jumlah Biji Per Buah (biji)	Banyak (≥ 15)	1,53	85	22,67	16	4,27	3	0,80	1	0,27
	Sedikit (≤ 14)	1,62	38	10,13	19	5,07	3	0,80	0	0,00
	Sub Total		123	32,80	35	9,33	6	1,60	1	0,27
Diameter Biji (cm)	Besar ($\geq 0,41$)	1,73	58	15,47	20	5,33	6	1,60	1	0,27
	Kecil ($\leq 0,4$)	1,42	65	17,33	15	4,00	0	0,00	0	0,00
Sub Total			123	32,80	35	9,33	6	1,60	1	0,27
Σn			165							
$\Sigma \%$			44							

Keterangan : n = jumlah biji setiap kriteria ; % = jumlah persentase setiap kriteria ; Σn = total jumlah biji pada setiap pengamatan ; $\Sigma \%$ = total jumlah persentase pada setiap pengamatan

Pada persentase jumlah 2 dan 3 embrio per benih diketahui bahwa semakin kecil bobot buah, maka persentase 2 dan 3 embrio per benih semakin tinggi, namun pada jumlah 4 dan 6 embrio, persentase tertinggi terdapat pada kategori bobot buah

sedang. Semakin sedikit jumlah biji per buah, maka persentase 2 dan 6 embrio per benih semakin rendah, dan berbanding terbalik dengan persentase 3 embrio per benih yaitu semakin sedikit jumlah biji per buah maka persentase semakin tinggi. Pada persentase 4 embrio per benih, persentase antara jumlah biji per buah banyak sama dengan persentase jumlah biji per buah sedikit. Persentase 3, 4 dan 6 embrio per benih meningkat karena meningkatnya persentase biji dengan diameter besar, namun berbanding terbalik dengan jumlah 2 embrio per benih.

4.1.4 Jumlah Semaian Per Benih (*Multiple Seedling*)

Benih JC yang disemaikan mempunyai jumlah semaian yang beragam pada setiap kategori. Benih JC mempunyai jumlah 1-4 semaian pada tiap benih (Gambar 8). Jumlah tersebut berbeda atau tidak sejalan dengan jumlah embrio yang terdapat pada pengamatan mikroskopis. Persentase jumlah semaian tumbuh per benih yang *multiple seedling* pada pengamatan hasil semaian disajikan pada Tabel 6.

Tabel 6. Persentase Jumlah Semaian Per Benih *Multiple Seedling* pada Pengamatan Hasil Semaian

Kategori	2 semaian		3 semaian		4 semaian		
	n	%	n	%	n	%	
Bobot Buah (g)	Besar ($\geq 158,09$)	6	1,22	1	0,20	0	0,00
	Sedang ($107,68-158,08$)	40	8,13	2	0,41	0	0,00
	Kecil ($\leq 107,67$)	53	10,77	2	0,41	1	0,20
Sub Total		99	20,12	5	1,02	1	0,20
Jumlah Biji Per Buah (biji)	Banyak (≥ 15)	63	12,80	3	0,61	0	0,00
	Sedikit (≤ 14)	36	7,32	2	0,41	1	0,20
Sub Total		99	20,12	5	1,02	1	0,20
Diameter Biji (cm)	Besar ($\geq 0,41$)	63	12,80	3	0,61	1	0,20
	Kecil ($\leq 0,4$)	36	7,32	2	0,41	0	0,00
Sub Total		99	20,12	5	1,02	1	0,20
Σn		105					
$\Sigma\%$		21,34					

Keterangan : n = jumlah biji setiap kriteria ; % = jumlah persentase setiap kriteria ; Σn = total jumlah biji pada setiap pengamatan ; $\Sigma\%$ = total jumlah persentase pada setiap pengamatan

Persentase jumlah biji yang menjadi semaian *multiple seedling* sebesar 21,34% dari jumlah semaian awal. Persentase jumlah 2 semaian per benih sebesar

20,12%, jumlah 3 semaian per benih sebesar 1,02% dan pada 4 semaian per benih sebesar 0,2 %. Jumlah 5 dan 6 semaian per benih tidak terdapat pada penelitian ini.

Pada pengamatan jumlah semaian yang tumbuh tiap benih, dapat diketahui bahwa semakin kecil bobot buah maka persentase 2, 3 dan 4 semain semakin tinggi, hal tersebut berbanding terbalik dengan kategori diameter (ukuran) biji yang menyatakan bahwa semakin kecil diameter (ukuran) biji maka persentase 2, 3 dan 4 semaian akan semakin kecil. Pada kategori jumlah biji per buah, persentase jumlah 2 dan 3 semaian tinggi sejalan dengan banyaknya jumlah biji per buah, namun semakin sedikit jumlah biji yang terdapat dalam satu benih maka akan meningkatkan persentase jumlah 4 semaian per benih.



Gambar 8. Semaian JC *Multiple Seedling* (a) 1 Semaian Per Benih (b) 2 Semaian Per Benih (c) 3 Semaian Per Benih (d) 4 Semaian Per Benih

4.1.5 Rerata Perbandingan Jumlah Embrio dan Jumlah Semaian Per Benih

Hasil analisis selang kepercayaan yang disajikan pada Tabel 7, menunjukkan bahwa kategori bobot buah dan kategori jumlah biji per buah tidak mampu mempengaruhi rerata persentase jumlah 2-6 embrio per benih pada pengamatan mikroskopis serta jumlah 2-4 semaian per benih pada pengamatan hasil semaian.

Berdasarkan Tabel 7, kategori diameter biji mampu memengaruhi rerata persentase jumlah 4 embrio per benih dan jumlah 2 semaian per benih, namun tidak mampu mempengaruhi jumlah 2,3 dan 6 embrio per benih serta jumlah 3 dan 4 semaian tumbuh per benih. Biji berdiameter (ukuran) besar mempunyai rerata

persentase tertinggi sehingga berpengaruh nyata dalam meningkatkan rerata persentase hasil 4 embrio per benih dan hasil 2 semaian per benih apabila dibandingkan dengan diameter biji kecil. Jumlah 4 embrio per benih dari biji berdiameter besar hampir tiga kali lipat besar persentasenya apabila dibandingkan dengan biji berdiameter kecil, demikian pula pada jumlah 2 semaian per benih yaitu biji diameter besar tiga kali lipat lebih besar persentasenya apabila dibandingkan dengan biji diameter kecil. Semakin kecil diameter biji, cenderung semakin sedikit jumlah embrio dan jumlah semaian yang dihasilkan tiap bijinya. Hal tersebut menunjukkan bahwa diameter biji besar mampu meningkatkan hasil rerata persentase jumlah embrio dan jumlah semaian per benih.

Tabel 7. Rerata Persentase Jumlah Embrio Per Benih pada Pengamatan Mikroskopis dan Rerata Persentase Jumlah Semaian Per Benih pada Pengamatan Hasil Semaian

Kategori	Mikroskopis				Hasil Semaian			
	2 embrio (%)	3 embrio (%)	4 embrio (%)	6 embrio (%)	2 semaian (%)	3 semaian (%)	4 semaian (%)	
Bobot Buah (g)	Besar ($\geq 158,09$)	42,50	3,13	0,00	0,00	21,69	5,63	0,00
	Sedang (107,68-158,08)	35,88	12,69	1,90	0,42	19,02	1,16	0,00
	Kecil ($\leq 107,67$)	31,86	8,48	1,26	0,00	22,51	0,49	0,71
Jumlah Biji Per Buah (biji)	Banyak (≥ 15)	34,33	6,86	1,25	0,25	22,28	0,94	0,00
	Sedikit (≤ 14)	33,61	13,20	1,60	0,00	20,03	1,21	0,94
Diameter Biji (cm)	Besar ($\geq 0,41$)	37,37	12,26	2,90 b	0,30	32,55 b	1,57	0,86
	Kecil ($\leq 0,4$)	30,90	7,09	0,00 a	0,00	10,37 a	0,57	0,00

Keterangan : Bilangan yang didampingi oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama di setiap kategori menunjukkan berbeda nyata berdasarkan analisis selang kepercayaan (Confidence Interval) 95%

4.1.6 Daya Tumbuh Benih, Total Semaian Hidup, Semaian *Off Type* dan Total Semaian *True To Type*

Benih batang bawah JC yang telah disemaikan mempunyai daya tumbuh yang berbeda, sehingga jumlah semaian yang tumbuh tidak sama pada setiap kategori. Perbedaan tersebut juga disebabkan karena adanya semaian yang *multiple seedling* (Tabel 8).

Tabel 8. Persentase Daya Tumbuh Benih, Total Semaian Hidup, Semaian *Off Type* dan Total Semaian *True To Type* Berdasarkan Kategori Bobot Buah, Jumlah Biji Per Buah dan Diameter Biji

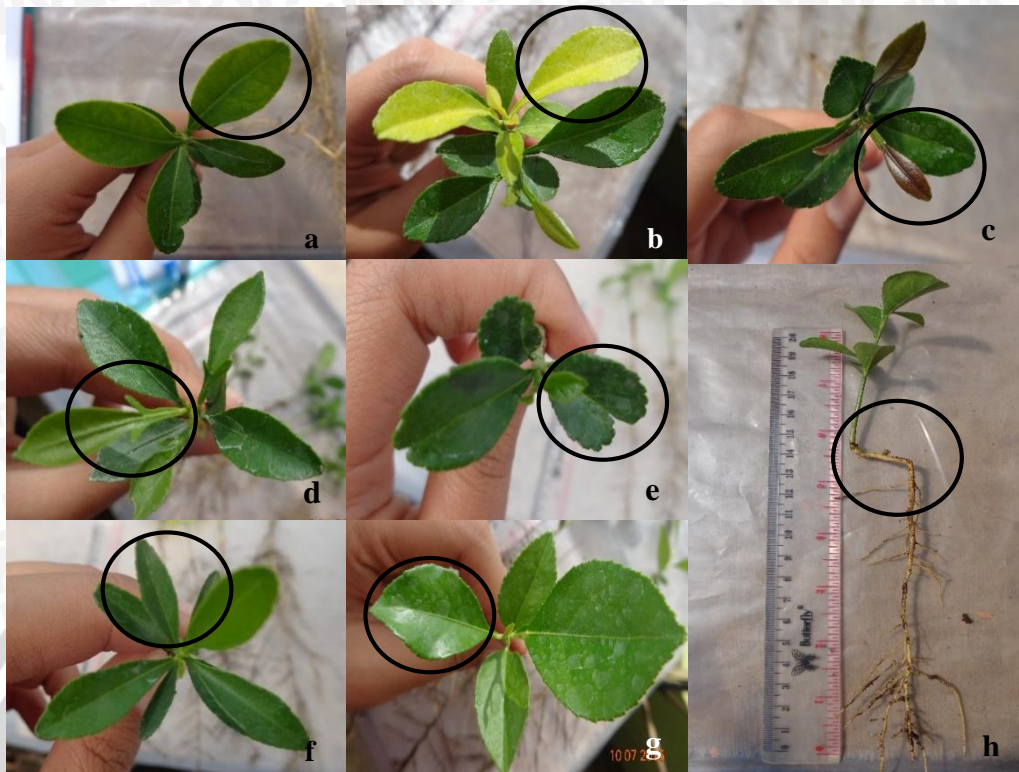
Kategori	Awal Semaian	Daya Tumbuh Benih		Total Semaian Hidup		Semaian <i>Off Type</i>		Total Semaian <i>True To Type</i>		
		n	n	%	n	%	n	%	n	%
Bobot Buah (g)	Besar (≥ 158,09)	27	23	85,19	31	114,81	6	22,22	25	92,59
	Sedang (107,68-158,08)	192	180	93,75	224	116,67	44	22,92	180	93,75
	Kecil (≤ 107,67)	273	257	94,14	319	116,85	52	19,05	267	97,80
Sub Total	492	460	93,50	574	116,67	102	20,73	472	95,94	
Jumlah Biji Per Buah (biji)	Banyak (≥ 15)	321	295	91,90	364	113,40	69	21,50	295	91,90
	Sedikit (≤ 14)	171	165	96,49	210	122,81	33	19,30	177	103,51
Sub Total	492	460	93,50	574	116,67	102	20,73	472	95,94	
Diameter Biji (cm)	Besar (≥ 0,41)	207	195	94,20	269	129,95	43	20,77	226	109,18
	Kecil (≤ 0,4)	285	265	92,98	305	107,02	59	20,70	246	86,32
Sub Total	492	460	93,50	574	116,67	102	20,73	472	95,94	
Σn	492	460		574		102		472		
Σ%	100	93,50		116,67		20,73		95,94		

Keterangan : n = jumlah biji setiap kriteria ; % = jumlah persentase setiap kriteria ; Σn = total jumlah biji pada setiap pengamatan ; Σ% = total jumlah persentase pada setiap pengamatan ; persentase Daya Tumbuh Benih didasarkan pada semaian awal, Total Semaian Hidup didasarkan pada Daya Tumbuh Benih, persentase semaian *Off Type* dan Total Semaian *True To Type* didasarkan pada Total Semaian Hidup

Pada Tabel 8, jumlah biji yang mampu tumbuh dalam persemaian setelah tiga bulan dari total biji awal sebesar 93,50%. Hal tersebut dapat diketahui apabila semakin kecil bobot buah dan semakin sedikit jumlah biji per buah maka persentase daya tumbuh benih akan semakin tinggi (berbanding terbalik), namun semakin kecil diameter (ukuran) biji, maka persentase daya tumbuh benih semakin rendah (berbanding lurus). Berdasarkan jumlah semaian yang tumbuh tersebut, yang mampu tumbuh menjadi semaian hidup (beserta *multiple seedling*) sebesar 116,67% atau mempunyai persentase lebih dari 100%. Tingginya persentase yang melebihi 100%, dapat diketahui dari semakin kecil bobot buah dan jumlah biji per buah, maka persentase total semaian hidup semakin tinggi dan semakin kecil diameter (ukuran) biji maka persentase total semaian hidup semakin rendah.

Persentase semaian *off type* atau semaian zigotik yang mampu menurunkan produksi benih batang bawah JC sebesar 20,73% yang dihitung berdasarkan jumlah total semaian hidup. Semaian *off type* ialah semaian yang tidak identik dengan induknya, dan semaian tersebut menyimpang disebabkan karena faktor genetik. Pada kategori bobot buah, buah dengan bobot kecil atau ringan mempunyai persentase semaian *off type* tertinggi sedangkan buah dengan bobot sedang mempunyai persentase *off type* paling rendah. Berbeda dengan jumlah biji per buah yang menunjukkan bahwa, semakin sedikit jumlah biji yang terdapat pada buah, maka persentase semaian *off type* semakin rendah, sedangkan semakin kecil diameter (ukuran) biji, maka persentase semaian *off type* semakin tinggi.

Berdasarkan contoh hasil semaian *off type* pada Gambar 9, menjelaskan bahwa gambar (a) merupakan hasil semaian *true to type* atau semaian nuselar yang merupakan semaian identik dengan induknya, gambar (b) ialah gambar semaian *off type* yang mempunyai daun bule atau daun berwarna pucat kekuningan sedangkan gambar (c) merupakan semaian *off type* yang mempunyai daun berwarna keunguan. Gambar (d) sampai (g) merupakan semaian *off type* yang mempunyai bentuk daun menyimpang yang tidak sesuai dengan semaian nuselar, secara berurutan yaitu daun berbentuk trifoliat, tepi daun bergerigi, daun terlalu lonjong serta daun terlalu bulat. Pada gambar (h) merupakan semaian yang mempunyai akar bengkok, karena akar bengkok mampu menghambat penyerapan air dan nutrisi dari akar menuju seluruh bagian tanaman.



Gambar 9. Hasil Semaian JC Setelah 3 Bulan (a) Semaian JC *True to Type* (b-g) Semaian JC Menyimpang (*Off Type*) (h) Semaian JC Berakar Bengkulu

Pada akhirnya, persentase jumlah semaian *true to type* atau semaian nuselar (sama dengan induknya) sebesar 95,94% dari jumlah total semaian yang hidup. Jumlah tersebut sudah termasuk pengurangan dengan adanya semaian *off type*. Sama halnya dengan persentase daya tumbuh benih dan total semaian hidup yaitu semakin kecil bobot buah dan semakin sedikit jumlah biji per buah, maka persentase total semaian *true to type* semakin tinggi. Demikian pula, semakin kecil diameter (ukuran) biji, maka persentase total semaian *true to type* semakin rendah.

Hasil analisis selang kepercayaan persentase daya tumbuh benih, total semaian hidup, semaian *off type* dan juga total semaian *true to type* (Tabel 9) menunjukkan bahwa rerata persentase daya tumbuh benih, total semaian hidup, semaian *off type* dan total semaian *true to type* tidak dipengaruhi oleh kategori bobot buah dan kategori jumlah biji per buah.

Tabel 9. Rerata Persentase Daya Tumbuh Benih, Total Semaian Hidup, Semaian *Off Type* dan Total Semaian *True To Type*

Kategori	Daya Tumbuh Benih (%)	Total Semaian Hidup (%)	Semaian <i>Off Type</i> (%)	Total Semaian <i>True To Type</i> (%)	
Bobot Buah (g)	Besar ($\geq 158,09$)	88,33	119,79	23,75	96,04
	Sedang (107,68-158,08)	93,89	115,96	21,73	94,23
	Kecil ($\leq 107,67$)	95,73	122,27	21,04	101,23
Jumlah Biji Per Buah (biji)	Banyak (≥ 15)	92,70	117,09	21,37	95,72
	Sedikit (≤ 14)	96,95	123,49	21,57	101,92
Diameter Biji (cm)	Besar ($\geq 0,41$)	96,42	135,65 b	22,81	112,84 b
	Kecil ($\leq 0,4$)	92,85	104,80 a	20,15	84,65 a

Keterangan : Bilangan yang didampingi oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama di setiap kategori menunjukkan berbeda nyata berdasarkan analisis selang kepercayaan (Confidence Interval) 95% ; persentase Total semaian hidup didasarkan pada Daya Tumbuh Benih, Persentase Semaian *Off Type* dan Total Semaian *True To Type* didasarkan pada Total Semaian Hidup

Berdasarkan Tabel 9, kategori diameter biji mampu mempengaruhi rerata persentase hasil total semaian hidup serta rerata persentase total semaian *true to type*, namun tidak mampu mempengaruhi rerata persentase daya tumbuh benih dan semaian *off type*. Biji dengan diameter besar mempunyai rerata persentase tertinggi sehingga berpengaruh nyata terhadap rerata persentase total semaian hidup dan persentase total semaian *true to type* apabila dibandingkan dengan biji berdiameter kecil. Pengaruh nyata tersebut menyebabkan jumlah total semaian hidup dari biji berdiameter besar 30,85% lebih banyak apabila dibandingkan dengan biji yang berdiameter kecil. Demikian pula pada total semaian *true to type* yaitu jumlah biji dengan ukuran besar, 28,19% lebih banyak apabila dibandingkan dengan persentase biji yang berdiameter (ukuran) kecil. Hal tersebut menunjukkan bahwa biji dengan diameter (ukuran) besar mampu meningkatkan hasil total semaian hidup dan total semaian *true to type*.

4.2 Pembahasan

4.2.1 Kondisi Awal

Benih Japansche Citroen (JC) mempunyai sifat poliembrioni yang mampu digunakan sebagai batang bawah pada proses perbenihan jeruk. Benih yang sesuai untuk proses perbenihan jeruk (nuselar) dapat diambil dari buah maupun dari pohon yang berbeda. Benih yang didapatkan dari buah yang berbeda mempunyai hasil yang berbeda, baik dilihat dari fisik maupun fisiologinya, demikian pula buah yang didapatkan dari pohon yang berbeda juga dapat memberikan pengaruh yang berbeda pada benih yang dihasilkan.

Dari data kondisi awal sampel penelitian, jumlah sampel buah yang berbobot kecil atau ringan, lebih banyak didapatkan apabila dibandingkan dengan buah yang mempunyai bobot besar maupun bobot sedang. Banyaknya buah yang berukuran kecil disebabkan karena tidak adanya proses penjarangan buah dalam satu pohon sehingga kualitas buah menurun. Tidak adanya penjarangan buah dapat menyebabkan buah saling menyatu ataupun bergesekan sehingga buah sulit untuk berkembang dan akhirnya ukuran buah menjadi kecil, hal tersebut disebabkan karena adanya kompetisi dalam mendapatkan nutrisi dalam pembentukan buah. Menurut Martusupono, *et al.* (2007), untuk menjaga agar tanaman tetap sehat perlu dilakukan pengaturan jumlah buah dengan cara melakukan penjarangan buah, dengan tujuan menjaga kesehatan tanaman, meningkatkan produksi dan memperbaiki kualitas buah.

Jumlah biji sebagai sampel pengamatan tertinggi terdapat pada jumlah biji banyak dan pada kategori diameter (ukuran) biji, sampel biji tertinggi terdapat pada biji berdiameter kecil, berarti sampel bobot buah kecil atau ringan menghasilkan jumlah biji yang lebih banyak namun berdiameter kecil. Hal tersebut tidak sejalan dengan pendapat Nerson (2005), bahwa hasil biji per buah meningkat dengan meningkatnya bobot buah dalam empat kelompok sampel buah. Namun sependapat dengan pernyataan Pratama *et al.* (2014) yang menjelaskan bahwa ukuran dan bentuk biji juga dipengaruhi oleh jumlah biji per buah.

Sebelum melakukan proses semai batang bawah, biji dapat diseleksi terlebih dahulu, yaitu menyeleksi biji yang hampa, mengapung apabila direndam dengan air serta biji yang masih tampak berwarna hijau. Seleksi tersebut bertujuan

supaya biji yang disemaikan benar-benar mampu tumbuh dengan baik karena endosperm yang digunakan benih untuk tumbuh sudah terbentuk sempurna. Biji yang tidak layak digunakan pada penelitian ini sekitar 5% dari total biji awal. Menurut Werker (1997), biji yang masih berwarna hijau diduga mempunyai embrio yang berwarna hijau (berklorofil), embrio yang masih berwarna hijau menunjukkan bahwa embrio tersebut belum masak.

4.2.2 Persentase Poliembrioni dan *Multiple Seedling*

Benih jeruk batang bawah JC mempunyai sifat poliembrioni yaitu dalam satu benih mempunyai lebih dari satu embrio, sehingga mampu menghasilkan semaian lebih dari satu (*multiple seedling*) baik semaian tersebut nuselar maupun zigotik. Tidak semua embrio dalam satu benih yang terdeteksi oleh mikroskop mampu tumbuh menjadi semaian pada saat disemaikan di rumah pembibitan. Pada penelitian ini, jumlah semaian yang mampu tumbuh sebesar 93,50% yang meliputi semaian tunggal maupun semaian *multiple seedling*, sisanya sebesar 6,5% semaian tersebut mati. Adanya semaian yang mati, salah satunya disebabkan karena nutrisi yang berasal dari endosperm yang diterima pada setiap semaian tidak dapat membantu semaian tersebut untuk tumbuh. Menurut Andrade-Rodríguez *et al.* (2004), tidak semua embrio dalam benih berkembang menjadi bibit karena banyak dari mereka mengalami dehidrasi atau tidak memiliki bahan cadangan makanan yang cukup untuk pertumbuhan perkembangan bibit.

Salah satu keuntungan adanya benih JC poliembrioni ialah karena terdapat embrio nuselar yaitu embrio yang berasal dari jaringan nuselus (jaringan di luar kantong embrio) yang mampu menghasilkan semaian seragam serta identik dengan induknya (*true to type*). Selain sifat poliembrioni, sifat monoembrioni juga terdapat pada sifat benih JC. Kedua sifat tersebut menguntungkan pada proses perbenihan jeruk apabila embrio nuselar terkandung pada setiap sifat dari benih batang bawah JC tersebut.

Hasil pengamatan benih JC berdasarkan tiga kategori yaitu bobot buah, jumlah biji per buah dan diameter biji menunjukkan bahwa persentase benih JC yang menghasilkan benih poliembrio sebesar 44% dan benih monembrio sebesar 56%. Benih poliembrioni pada penelitian ini lebih rendah apabila dibandingkan dengan benih JC penelitian Andrini *et al.* (2013) sebesar 53,34-73,32%. Benih JC

yang disemaikan di rumah pembibitan menghasilkan semaian tunggal 72,15%, sedangkan semaian majemuk (*multiple seedling*) sebesar 21,34%. Benih yang menghasilkan semaian lebih dari satu pada setiap benihnya lebih tinggi apabila dibandingkan dengan penelitian Andrini *et al.* (2013) yang sebesar 11,38-20,33%.

Lebih rendahnya benih JC poliembrioni dapat disebabkan karena tidak semua embrio yang berada pada benih JC berkembang menjadi kotiledon. Penyebab tidak lengkapnya perkembangan embrio sampai fase kotiledon diduga karena tidak terbentuknya endosperm atau terjadi disfungsi endosperm (Jaskani *et al.*, 2005). Apabila dilihat dari jumlah semaian yang dihasilkan, jumlah semaian *multiple seedling* bisa dikatakan rendah apabila dibandingkan dengan jumlah embrio yang terdapat dalam benih nya, karena tidak semua embrio tumbuh menjadi semaian. Selisih antara jumlah embrio yang ada di dalam satu benih dengan jumlah semaian yang dihasilkan sebesar 22,66%. Jadi sebesar 22,66% embrio yang ada di dalam satu benih tidak mampu tumbuh menjadi semaian ataupun hanya menjadi semaian tunggal. Menurut Andrini *et al.* (2013) tidak semua benih poliembrioni menghasilkan *multiple seedling* tetapi sebagian benih poliembrioni menghasilkan semaian tunggal, hal tersebut diduga karena tata letak embrio pada benih poliembrioni yang saling berhimpitan atau terjepit sehingga menyulitkan embrio untuk berkembang karena kurangnya nutrisi yang mampu diserap oleh embrio.

Pada hasil analisis selang kepercayaan, didapatkan bahwa kategori bobot biji dengan tiga kriteria yaitu besar sedang dan kecil serta kategori jumlah biji per buah dengan dua kriteria yaitu banyak dan sedikit tidak mampu mempengaruhi persentase benih monoembrio, poliembrio, semaian tunggal serta semaian *multiple seedling*. Menurut Andrade-Rodríguez *et al.* (2004), karakteristik morfologi buah tidak dapat dipercaya untuk menunjukkan tingkat poliembrioni di batang bawah Volkamerian lemon.

Pengaruh yang nyata hanya terdapat pada kategori diameter (ukuran) biji dengan dua kategori yaitu besar dan kecil. Diameter (ukuran) biji besar berpengaruh nyata dalam meningkatkan semaian *multiple seedling* namun diameter biji kecil berpengaruh nyata dalam meningkatkan hasil semaian tunggal. Hal tersebut bisa disebabkan karena ukuran biji berhubungan dengan kandungan nutrisi yang ada di dalam biji. Semakin besar diameter biji maka nutrisi yang dihasilkan biji semakin

besar pula dan akan mempengaruhi jumlah semaian yang tumbuh. Menurut Gaol dan Fox (2009), lebih banyak kandungan nutrisi pada biji yang besar dapat menyebabkan pertumbuhan pra fotosintesis lebih cepat sehingga pertumbuhan dan kemampuan hidup anakan lebih baik. Persentase biji yang muncul lebih dari satu semaian meningkat sejalan dengan meningkatnya bobot basah biji dan ukuran biji (Chilembwe *et al.*, 1992).

Jumlah biji per buah mampu mempengaruhi persentase hasil semaian mati. Pengaruh yang nyata terdapat pada jumlah biji per buah banyak, yaitu semakin banyak jumlah biji maka persentase semaian mati semakin tinggi. Hal tersebut diduga karena adanya kompetisi dalam mendapatkan nutrisi untuk perkembangan biji didalam buah, semakin banyak biji yang terdapat didalam buah maka nutrisi yang diserap oleh biji untuk perkembangannya semakin sedikit.

4.2.3 Jumlah Embrio Per Benih dan Jumlah Semaian Per Benih

Benih jeruk Japansche Citroen (JC) yang poliembrioni, menyebabkan jumlah embrio yang dihasilkan serta jumlah semaian yang tumbuh juga semakin beragam. Jumlah embrio yang terdapat pada setiap benih JC berbeda, hal tersebut dikarenakan ukuran dari embrio pada setiap benih juga berbeda. Walaupun pada dasarnya jumlah embrio yang ada didalam benih banyak, belum tentu semaian yang dihasilkan juga banyak.

Pada penelitian ini, jumlah embrio yang dihasilkan dalam satu benih berkisar antara 1-6 embrio per benih, sedangkan jumlah semaian yang tumbuh hanya berkisar antara 1-4 semaian tiap benihnya. Jumlah tersebut masih berupa embrio nuselar dan embrio zigotik, karena pada saat benih diamati di mikroskop, embrio nuselar dan embrio zigotik tidak dapat dibedakan. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan (Setiono dan Supriyanto, 2005) bahwa jumlah embrio nuselar dalam satu biji jeruk sebenarnya dapat mencapai 12 embrio tetapi yang mampu tumbuh biasanya jarang melebihi 4 semaian. Pendapat Andrade-Rodríguez *et al.* (2004) yaitu jumlah embrio per biji bervariasi antara 1 dan 6 dengan rata-rata 1,5. Banyaknya jumlah embrio nuselar salah satunya disebabkan karena pada saat perkembangan kantung embrio, sel embrio nuselar mendapatkan jalan masuk ke dalam endosperm dan mampu berkembang menjadi lebih dari satu embrio. Menurut (Koltunow *et al.*, 1996) selama perkembangan kantung embrio, sel-sel embrionik

nuselar mendapatkan jalan masuk ke endosperm dan berkembang menjadi embrio di sepanjang embrio zigotik. Embrio-embrio nuselar tersebut terus berkembang dan menghasilkan beberapa semaian dengan genotipe yang sama dengan tetua betina.

Adanya pengaruh hanya terdapat pada kategori diameter (ukuran) biji pengamatan jumlah 4 embrio per benih dan jumlah 2 semaian pada tiap benihnya yaitu diameter (ukuran) biji besar yang paling berpengaruh nyata. Ukuran biji dapat dihubungkan dengan kualitas biji, karena biji yang besar mempunyai genetik yang sama terhadap induknya lebih baik dibanding dengan biji kecil (Gaol dan Fox, 2009). Menurut Andriani *et al.* (2013), tumbuhnya semaian yang lebih rendah diduga terdapat kompetisi antar embrio dalam benih membuat embrio yang berukuran lebih besar dan masak muncul terlebih dahulu dibandingkan embrio yang berukuran lebih kecil dan belum masak. Bowman *et al.* (1995) menyatakan bahwa jumlah bibit yang dihasilkan dari masing-masing benih bervariasi dari nol (tidak ada perkecambahan) sampai empat. Jumlah bibit yang paling banyak diproduksi ialah satu. Persentase benih dengan beberapa embrio sering digunakan sebagai indikator dari kecenderungan kultivar untuk menghasilkan bibit nuselus.

4.2.4 Daya Tumbuh Benih, Total Semaian Hidup, Semaian *Off Type* dan Total Semaian *True To Type*

Benih batang bawah Japansche Citroen (JC) yang digunakan oleh para penangkar dalam proses perbenihan jeruk ialah benih yang menghasilkan semaian identik dengan induknya (*true to type* atau nuselar). Benih JC yang disemaikan pada rumah pembibitan atau nurseri tidak semuanya mampu tumbuh menjadi semaian. Semaian yang mampu tumbuh pada penelitian ini sebesar 93,50% dari total awal semai dan sisanya semaian tersebut mati. Jumlah persentase dari semaian tersebut, benih yang menghasilkan semaian lebih dari satu (*multiple seedling*) masih dihitung satu pada tiap benihnya. Ketika perkecambahan dilakukan di rumah pembibitan, tidak semua embrio dalam benih berkembang menjadi bibit, karena banyak dari mereka mengalami dehidrasi atau tidak memiliki bahan cadangan makanan yang cukup untuk pertumbuhan perkembangan bibit (Andrade-Rodríguez *et al.*, 2004).

Meningkatnya daya tumbuh benih juga sejalan dengan meningkatnya hasil total semaian hidup. Total semaian hidup dihitung berdasarkan daya tumbuh benih dan benih yang poliembrioni dihitung secara keseluruhan sejumlah semaian yang

tumbuh pada setiap benihnya. Persentase total semaian yang hidup pada penelitian ini sebesar 116,67%, yang berarti dengan adanya semaian *multiple seedling* mampu meningkatkan total semaian hidup lebih dari 100%. Pada kategori diameter (ukuran) biji, terdapat adanya pengaruh terhadap total semaian hidup dan diameter (ukuran) biji besar yang paling berpengaruh nyata terhadap total semaian hidup. Adanya perbedaan tersebut disebabkan karena benih tersebut *multiple seedling*, dan *multiple seedling* dipengaruhi oleh diameter biji. Persentase *multiple seedling* yang tinggi dapat menguntungkan karena meningkatkan total semaian hidup dan *true to type* (Andrini *et al.*, 2013). Selain itu menurut Chilembwe *et al.* (1992), regresi logistik menunjukkan bahwa jumlah bibit berhubungan dengan beberapa dimensi benih, yang mendukung hubungan antara ukuran benih dan jumlah embrio

Dalam proses perbenihan jeruk, semaian *off type* atau semaian yang menyimpang dan termasuk didalamnya terdapat semaian zigotik tidak dapat digunakan, dan semaian tersebut harus dibuang atau diroguing karena mampu menurunkan produksi batang atas nantinya. Semaian *off type* dapat dikatakan rendah yaitu sebesar 20,73% apabila dibandingkan dengan penelitian Setiono dan Supriyanto (2005) yang membuktikan bahwa varietas batang bawah JC menghasilkan semaian generatif sekitar 35%. Rendahnya persentase semaian *off type* disebabkan karena embrio yang ada di dalam benih saling berkompetisi, baik embrio nuselar maupun embrio zigotik, selain itu karena benih JC yang digunakan mempunyai genetik yang sama dengan induknya lebih tinggi sehingga semaian *off type* lebih rendah. Setiono dan Supriyanto (2005) menyatakan bahwa posisi embrio generatif atau zigot agak terjepit sedemikian rupa sehingga lebih sulit berkecambah. Produktivitas pohon jeruk yang berasal dari bibit okulasi dengan batang bawahnya berasal dari semaian generatif dapat berkurang sekitar 11% dari potensi yang dimiliki.

Benih JC yang menghasilkan semaian tunggal belum tentu semaian tersebut merupakan semaian zigotik, demikian pula sebaliknya benih JC yang menghasilkan semaian lebih dari satu (*multiple seedling*) belum tentu semuanya menghasilkan semaian nuselar. Walaupun pada dasarnya hasil semaian zigotik memang lebih banyak terdapat pada semaian tunggal daripada semaian *multiple seedling*.

Adanya benih *multiple seedling* mampu memberikan hasil positif terhadap proses perbenihan jeruk, karena benih yang *multiple seedling* kemungkinan mendapatkan semaian nuselar lebih banyak apabila dibandingkan dengan semaian zigotik atau generatif. Semaian nuselar atau semaian *true to type* pada penelitian ini sebesar 95,94% atau sebesar 2,44% lebih banyak dari total semaian yang tumbuh. Persentase semaian *true to type* sudah dikurangi dengan adanya semaian *off type*. Adanya semaian *true to type* tersebut, menyebabkan persentase jumlah biji awal yang disemaikan lebih rendah daripada jumlah sebelumnya yaitu sebesar 4,60%. Persentase tersebut menyebabkan estimasi penggunaan biji awal yang dibutuhkan untuk mendapatkan 10.000 benih jeruk bermutu ialah sebesar 34.160 biji atau berkurang sekitar 14,60% daripada jumlah biji yang dibutuhkan sebelum adanya penelitian ini. Hasil tersebut didapatkan dari persentase penurunan biji yang sebelumnya dikalikan dengan jumlah penurunan biji dan dibagi dengan estimasi persentase total biji awal yang dibutuhkan. Hasil studi perbenihan di KP.Punten Balitjestro menjelaskan bahwa dari 1 kg biji JC atau sekitar 10.000 biji yang sudah diseleksi mampu menghasilkan kurang lebih 6.000 semaian siap diokulasi.

Persentase hasil akhir dari benih JC yang layak dijadikan sebagai batang bawah masih dikatakan tinggi karena masih diatas 60%. Tingginya persentase tersebut karena embrio nuselar masih mampu tumbuh dengan baik dengan nutrisi yang diambil dari endosperm. Menurut Koltunow (1993), sumber nutrisi yang cukup penting dalam embriogenesis nuselar biasanya disuplai oleh endosperm.

Pada kategori diameter biji yang hanya berpengaruh terhadap hasil totalsemaian hidup dan total semaian *true to type*, hal tersebut sejalan dengan meningkatnya semaian *multiple seedling*. Adanya pengaruh tersebut disebabkan karena benih tersebut *multiple seedling*, dan *multiple seedling* dipengaruhi oleh diameter biji. Persentase *multiple seedling* yang tinggi dapat menguntungkan karena meningkatkan total semaian hidup dan total semaian *true to type* (Andrini *et al.*, 2013).