

INDUKSI NODUL DARI EKSPLAN BIJI MANGGIS (*Garcinia mangostana* L.) ASAL BENGKALIS PADA MEDIA MS SECARA *IN VITRO*

Mayta Novaliza Isda¹, Eko Hariono¹, Siti Fatonah¹

¹*Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Riau,
Kampus Bina Widya Km. 12,5 Simpang Baru, Pekanbaru 28293*

E-mail: maytaaisda@yahoo.com

Abstract

The nodule is one of the indirect organogenesis stages of development into shoots or roots which will then become the plant intact. Mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) from Bengkalis with excellence can live in the peat soil is a tropical fruit that became one export commodity of Riau Province. This study aimed to induce nodules from explants of mangosteen seeds (*Garcinia mangostana* L.) from Bengkalis using single BAP (Benzil amino purine) and honey as well as a combination of Murashige Skoog (MS) media. This study used a Randomized Block Design (RBD) using BAP (0; 5; 7 mg / L) and honey (0; 3; 6; 9 ml / L) concentrations both singly and in combination. The results of this study indicate that the highest percentage of nodules formed is found in the treatment of 7 mg / l BAP and 7 mg / l BAP + 6 ml / l honey on MS media at 100%. The fastest time of the nodules appear contained in the treatment of 5 mg / l BAP + 9 ml / l of honey was 5.6 days after planting. The highest number of nodules at 40 days after the treatment of 7 mg / l BAP in the MS medium was 28.0 nodules.

Keywords : Bengkalis, BAP, honey, mangosteen (*Garcinia mangostana* L.), nodule

Pendahuluan

Manggis asal Bengkalis memiliki keunggulan dari daerah lain yaitu umur berbunga pertama lebih cepat (7 tahun) dibandingkan dengan manggis dari daerah lain (lebih dari 10 tahun). Manggis asal Bengkalis juga memiliki keunggulan yaitu dapat hidup di daerah rawa-rawa, gambut dan cukup toleran terhadap tanah masam. Biji manggis termasuk biji apomiksis yaitu biji terbentuk tanpa melalui perkawinan dan bersifat rekalsitran sehingga harus segera ditanam setelah keluar dari buahnya. Perbanyak tanaman manggis dapat dilakukan dengan cara generatif (biji) dan vegetatif seperti okulasi dan sambung pucuk. Perbanyak generatif memakan waktu yang lama dalam produksi. Oleh karena itu, salah satu metode yang dapat mengatasi penyediaan bibit yang seragam dan dalam jumlah yang cukup banyak adalah teknik kultur jaringan (*in vitro*).

Teknik *in vitro* merupakan salah satu cara terbaik untuk perbanyak tanaman untuk memperoleh bibit manggis dengan jumlah banyak dalam waktu yang singkat. Faktor keberhasilan kultur manggis dipengaruhi oleh jenis eksplan, zat pengatur tumbuh dan media

yang diberikan. Menurut Widyastuti (2002) media MS memiliki kandungan nitrat, kalium dan amonium yang tinggi dan mudah menyatu dengan berbagai jenis zat pengatur tumbuh (ZPT).

Penambahan zat pengatur tumbuh ke dalam media tumbuh *in vitro* merupakan salah satu faktor yang sangat mempengaruhi keberhasilan hasil kultur. Menurut Nurhayati (2004) bahwa salah satu faktor penentu keberhasilan dalam kultur *in vitro* adalah konsentrasi zat pengatur tumbuh dalam media tumbuh salah satu dari golongan sitokinin. Konsentrasi sitokinin yang digunakan berkisar 0,1-10 mg/l media. Berdasarkan penelitian Verma (2011) bahwa penggunaan 0,5 mg/LTDZ dari golongan sitokinin dapat membentuk nodul lebih cepat dari pada konsentrasi 1,0 dan 3 mg/L TDZ dalam media MS pada 10 hari setelah tanam. Menurut Hariono *et al.* (2018) bahwa penambahan 5 mg/l BAP pada media WPM dapat menghasilkan persentase pembentukan nodul paling tinggi (100%) dan jumlah nodul paling tinggi (23 nodul/biji). Konsentrasi BAP dalam media tumbuh *in vitro* berbeda menurut jenis tanaman dan jenis eksplan yang digunakan.

Nodul merupakan kelompok sel yang menonjol yang menyerupai sel kambium yang membulat dan masih dapat aktif membelah serta dapat terdiferensiasi membentuk organ tertentu yang lebih kompleks seperti tunas. Sirchi *et al.* (2008) menyatakan bahwa eksplan yang terbentuk nodul akan sedikit membentuk tunas namun dari nodul tersebut akan menjadi tunas yang lebih banyak. Berdasarkan penelitian tersebut maka perlu dilakukan penelitian tentang induksi nodul. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan konsentrasi BAP dan madu baik tunggal maupun kombinasi pada Murashige (MS) dalam menginduksi nodul dari eksplan biji manggis asal Bengkalis secara *in vitro*.

Metode

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan perlakuan kombinasi BAP dan madu terdiri 12 perlakuan, yaitu : 0 BAP dan madu, 5 mg/L BAP, 7 mg/L BAP, 3 ml/L madu, 6 ml/L madu, 9 ml/L madu, 5 mg/L BAP + 3 ml/L madu, 5 mg/L BAP + 6 ml/L madu, 5 mg/L BAP + 9 ml/L madu, 7 mg/L BAP + 3 ml/L madu, 7 mg/L BAP + 6 ml/L madu, 7 mg/L BAP + 9 ml/L madu. Masing-masing perlakuan terdiri dari 5 ulangan, dengan demikian terdapat 60 unit percobaan.

Larutan stok, gula, agar yang telah ditimbang, kemudian dimasukan ke dalam gelas Beaker dan ditambahkan zat pengatur tumbuh BAP dan madu sesuai dengan perlakuan. Larutan media ditambah akuades hingga mencapai volume 1L. pH diatur 5,8 dengan penambahan NaOH atau HCl. Media dipanaskan di atas *hotplate* hingga mendidih. Media dituang ke dalam botol ± 30 mL, dilanjutkan disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 1,5 atm selama 15 menit. Setelah suhu autoklaf turun, media dikeluarkan dan di uji kontaminasi selama ± 1 minggu.

Eksplan tanaman yang digunakan adalah biji manggis asal Bengkalis. Kemudian eksplan biji dicuci dengan air mengalir lalu direndam dengan larutan deterjen sambil digoyang. Setelah itu, biji dibilas dengan air mengalir. Selanjutnya sterilisasi dalam laminar *Air Flow Cabinet*, eksplan biji direndam dalam 2 g/L fungisida, dibilas sebanyak 3 kali dengan akuades steril, dilanjutkan perendaman dengan 2 g/L bakterisida dan fungisida dan

dibilas sebanyak 3 kali dengan akuades steril. Selanjutnya, biji direndam dengan larutan 20% natrium hipoklorit, kemudian eksplan biji dicuci dengan akuades steril sebanyak 3 kali. Eksplan biji direndam kembali dengan larutan alkohol 70% dan dibilas kembali dengan akuades steril sebanyak 3 kali.

Penanaman eksplan dilakukan dalam *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC) yang sebelumnya telah disterilkan menggunakan alkohol 70%. Sebelum penanaman eksplan dilakukan, UV LAFC dibiarkan menyala selama 60 menit. Sebelum peralatan tanam yang akan digunakan dimasukkan ke dalam LAFC, peralatan disemprot terlebih dahulu menggunakan alkohol 70%. Biji diletakkan pada cawan petri dan dipotong tiga menggunakan pisau skapel dan pinset. Pinset dan scalpel yang akan digunakan disterilkan terlebih dahulu. Kemudian eksplan ditanam pada media perlakuan. Pengamatan dilakukan setiap hari hingga kultur berumur 40 hari. Parameter yang diamati meliputi eksplan membentuk nodul (%), waktu muncul nodul (hari), dan jumlah nodul (buah).

Data hasil pengamatan dianalisis secara kuantitatif menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) berdasarkan uji F taraf 5% dan apabila terdapat pengaruh nyata dilanjutkan dengan uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) taraf 5% dengan menggunakan *software* SPSS versi 17,0.

Hasil dan Pembahasan

Berdasarkan uji DMRT dengan taraf 5% terhadap persentase pembentukan nodul dan jumlah nodul pada eksplan biji manggis asal Bengkalis yang disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Rata Rata Persentase Pembentukan Nodul, Waktu Muncul Nodul, dan Jumlah Nodul Pada Biji Manggis Secara *In Vitro* dengan Penambahan BAP dan Madu pada Media MS selama 40 hst

Kode Perlakuan	BAP (mg/L)	Madu (ml/L)	Pembentukan nodul (%)	Waktu muncul nodul (hst)	Jumlah nodul (buah)
K1	0	0	39,996 ^{abc}	19,6 ^c	1.6 ^a
K2	5	0	66,666 ^{bcd}	6,2 ^a	10.4 ^{abc}
K3	7	0	100 ^d	7.0 ^a	28.0 ^e
K4	0	3	26,664 ^a	7,0 ^a	1.8 ^a
K5	0	6	39,996 ^{abc}	6,8 ^a	2.8 ^{ab}
K6	0	9	19,998 ^a	7,2 ^a	1.0 ^a
K7	5	3	93,332 ^d	8,6 ^{ab}	14.6 ^{bcd}
K8	5	6	86,664 ^d	7,2 ^a	7.4 ^{abc}
K9	5	9	86,666 ^d	5,6 ^a	7.2 ^{abc}
K10	7	3	79,998 ^d	7,0 ^a	14.8 ^{bcd}
K11	7	6	100 ^d	9,4 ^{ab}	18.4 ^{cde}
K12	7	9	93,332 ^d	8,6 ^{ab}	18.6 ^{cde}

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ($P < 0,05$) pada uji DMRT taraf 5%.

Berdasarkan respon eksplan biji terhadap pemberian *Benzil Amino Purine* (BAP) dan madu dengan media yang berbeda yaitu media Murashige-Skoog (MS) dalam induksi nodul

secara *in vitro* dapat dilihat pada Tabel 1. Berdasarkan hasil uji lanjut pemberian BAP dan madu dengan media berbeda nyata ($P < 0,05$) terhadap persentase eksplan membentuk nodul, waktu terbentuknya nodul dan jumlah nodul. Perlakuan pemberian konsentrasi BAP dan madu secara tunggal tidak berbeda nyata dengan kontrol terhadap persentase membentuk nodul pada jenis media MS kecuali pada pemberian konsentrasi 7 mg/l BAP. Namun, pada perlakuan 5 dan 7 mg/l BAP yang dikombinasikan dengan 3, 6, 9 ml/l madu berbeda nyata dengan kontrol. Menurut Wattimena (1992) bahwa dengan penambahan zat pengatur tumbuh pada media akan berperan untuk menambah efektifitas jumlah hormon endogen pada biji untuk meregenerasi sel.

Hasil uji lanjut menunjukkan persentase pembentukan nodul tertinggi mencapai 100% pada perlakuan 7 mg/l BAP secara tunggal dan kombinasi dari perlakuan 7 mg/l BAP dengan 6 ml/l madu pada media MS. Hal ini disebabkan BAP dapat merangsang pembelahan sel secara baik sehingga rata-rata media yang mengandung BAP terbentuk nodul, kemudian penambahan madu yang tepat juga akan membantu mempercepat proses organogenesis, namun jika penambahan madu terlalu tinggi maka akan menghambat proses organogenesis sel. Menurut George dan Sherrington (1984) bahwa *Benzilaminopurin* (BAP) mampu memacu pertumbuhan dengan daya aktivitas yang kuat mendorong proses diferensiasi sel.

Perlakuan menggunakan madu baik tunggal maupun kombinasi dengan BAP akan menurunkan persentase pembentukan nodul. Hal ini dikarenakan kandungan gula dalam bentuk glukosa yang tinggi pada madu tersebut, selain itu madu juga mengandung berbagai senyawa organik yang menyerupai metabolit sekunder pada tanaman yang dapat menghambat pembentukan nodul. Faktor lainnya madu mengandung enzim diastase (amilase), invertase, glukosa oksidase, peroksidase, dan lipase, yang akan menghasilkan hidrogen peroksida dan asam glukonat dari glukosa (Bogdanov *et al.*, 2008). Menurut Isda *et al.*, (2016) bahwa perbedaan respon *in vitro* dipengaruhi oleh kemiripan genetik yang rendah, walaupun manggis termasuk tanaman apomiksis, namun terjadi variasi genetik dengan tingkat kemiripan yang berbeda-beda.

Nodul adalah salah satu tahapan perkembangan organogenesis tidak langsung. Nodul merupakan sekelompok sel yang berkembang membulat menyerupai sel kambium pada permukaan eksplan dan dapat terus membesar dan bertambah jumlah hingga proses organogenesis menjadi tunas maupun akar, kemudian akan menjadi tanaman yang utuh. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian konsentrasi BAP dan madu baik tunggal tunggal maupun kombinasi memberikan respons yang berbeda-beda juga pada media MS terhadap pertumbuhan nodul manggis yang meliputi waktu muncul nodul dan jumlah nodul mulai awal penanaman hingga 40 hari setelah tanam (hst). Menurut Hariono (2018) bahwa waktu muncul nodul merupakan salah satu faktor penting yang perlu diperhatikan dan menjadi pertimbangan dalam perbanyakan tanaman dalam metode kultur *in vitro*. Joni *et al.* (2014) menyatakan bahwa pembentukan nodul merupakan awal pembentukan tunas pada perbanyakan tanaman manggis secara *in vitro*. Tahapan perkembangan eksplan pada awal penanaman hingga terbentuk nodul pada 40 hst dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Tahapan perkembangan eksplan manggis (a) Biji pada hari pertama penanaman. (b) Eksplan biji muncul nodul. (c) Biji dengan nodul terbanyak pada 40 hst.

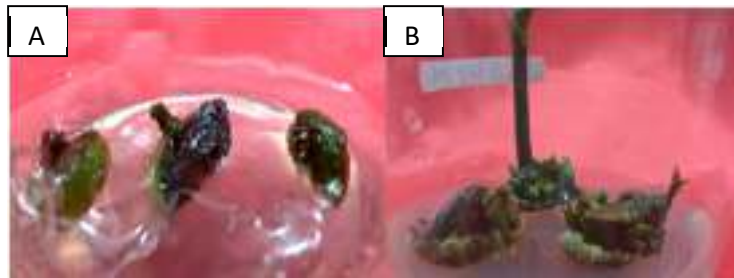
Waktu muncul nodul dalam penelitian ini relatif cepat pada kedua jenis media yaitu pada jenis media MS antara 5,6 -9,4 hst kecuali pada konsentrasi MS 0 (kontrol) yang mencapai 19,6 hst. Keseluruhan perlakuan pemberian BAP dan madu secara tunggal dan kombinasi pada media MS mampu mempercepat waktu muncul nodul dan berbeda dengan kontrol (MS 0) (Tabel 1.). Hal ini dikarenakan ZPT dan madu yang digunakan telah sesuai untuk perkembangan sel-sel meristem pada biji manggis. Menurut Lestari (2011) penambahan zat pengatur tumbuh dapat meningkatkan aktivitas pembelahan sel dalam proses morfogenesis dan organogenesis.

Perkembangan eksplan biji manggis yang dipotong tiga memiliki dua cara dalam organogenesis yakni organogenesis langsung dan organogenesis tak langsung. Pada penelitian tunas secara tak langsung dimulai dengan terbentuknya nodul atau kalus sedangkan organogenesis langsung, eksplan langsung membentuk tunas. Proses organogenesis eksplan secara *in vitro* terjadi dengan dua cara yang berbeda yaitu secara langsung dan tidak langsung. Eksplan menunjukkan respon organogenesis secara tidak langsung apabila eksplan tumbuh melalui kalus atau nodul, kemudian akan berdiferensiasi menjadi tunas dan akar. Eksplan menunjukkan respon secara organogenesis langsung apabila eksplan tumbuh langsung membentuk tunas dan akar, tanpa melalui pembentukan kalus atau nodul (Dhaliwal *et al.* 2004).

Pada Tabel 1 dan Gambar 2 dapat dilihat rata-rata pembentukan jumlah nodul terbanyak adalah pada perlakuan dengan pemberian 7 mg/l BAP secara tunggal sebanyak 28,0 nodul pada 40 hst, sedangkan rata-rata pembentukan jumlah nodul paling rendah pada perlakuan dengan pemberian 9 ml/l madu secara tunggal sebanyak 1,0 nodul pada 40 hst. Perlakuan dengan pemberian 5 dan 7 mg/l BAP secara tunggal pada kedua media lebih banyak menghasilkan nodul pada 40 hst berkisar antara 10,4 -28,0 nodul, sedangkan perlakuan dengan pemberian 3, 6 dan 9 ml/l madu secara tunggal pada kedua media lebih sedikit menghasilkan nodul pada 40 hst berkisar antara 1,0 – 2,8 nodul. Pada perlakuan kombinasi antara 5 dan 7 mg/l BAP dan 3, 6 dan 9 ml/l madu jumlah nodul lebih banyak dari pada pemberian madu secara tunggal namun lebih sedikit daripada pemberian BAP secara tunggal berkisar antara 7,2 –18,6 nodul. Hal ini dikarenakan penambahan BAP secara tunggal meningkatkan organogenesis secara tidak langsung pada eksplan sehingga membentuk nodul yang berkemungkinan besar akan segera terorganogenesis menjadi tunas.

Hal ini sesuai dengan penelitian Isda dan Amin (2016) menyatakan bahwa pemberian 7 mg/l BAP tunggal menghasilkan jumlah tunas terbanyak sebesar 8,20 tunas dan jumlah tunas menurun pada pemberian 3 mg/l BAP sebesar 3,20 tunas. Nodul-nodul yang terbentuk akan

menghasilkan jumlah tunas yang banyak jika dilakukan sub kultur. Sirchi *et al.* (2008) menyatakan bahwa eksplan yang terbentuk nodul akan sedikit membentuk tunas namun dari nodul tersebut akan menjadi tunas yang lebih banyak jika dipindahkan ke media baru.



Gambar 2. Jumlah Nodul setelah 40 hst (a) Jumlah nodul yang sedikit pada 9 ml/l madu. (b) Jumlah nodul terbanyak pada 7 mg/l BAP

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan dapat diperoleh kesimpulan bahwa pemberian BAP dan madu baik tunggal maupun kombinasi pada media MS mampu meningkatkan persentase eksplan membentuk nodul dan jumlah nodul pada 40 hst. Konsentrasi BAP dan madu terbaik pada media MS dalam pembentukan nodul yaitu perlakuan 7 mg/l BAP sebesar 28,0 nodul/ biji.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih kepada DRPM Kemenristek DIKTI tahun 2019 yang telah mendanai penelitian ini.

Daftar Referensi

- Bogdanov, ST., Jurendic, R. Sieber, P., & Gallmann. (2008). Honey for Nutrition and Health: a Review. *American Journal of The College of Nutrition*. 27: 677-689.
- Dhaliwal HS, EC. Yeung, dan TA Thorpe. 2004. Tiba Inhibition Of In Vitro Organogenesis In Excised Tobacco Leaf Explants. *In Vitro Cell. Dev. Biol.—Plant* 40:235–238
- George, EF. & Sherrington PD. (1984). *Plant Propagation by Tissue Culture*. Eastern Press. England
- Hariono E, MN Isda, S. Fatonah. 2018. Pembentukan Nodul Dari Biji Manggis (*Garcinia mangostana* L.) Asal Bengkalis Pada Media WPM Dengan Penambahan BAP Dan Madu. *Al-Kauniyah. Journal of Biology*, 11(1), 2018, 16-24
- Isda, MN., S. Fatonah & L.N. Sari. (2016). Pembentukan Tunas Dari Biji Manggis (*Garcinia mangostana* L.) Asal Bengkalis Dengan Penambahan BAP DAN Madu Secara *In Vitro*. *AL-KAUNIYAH; Journal of Biology*, 9(2), 2016, 119-124.
- Isda, MN., & N.A. Amin. (2016). Pertumbuhan Eksplan Biji Manggis (*Garcinia mangostana* L.) Secara *In Vitro* Dengan Penambahan BAP dan Madu. *Prosiding Seminar Nasional Perhimpunan Pemuliaan Indonesia (PERIPI) Komda Riau*. 267-277.
- Joni, YZ., D., Efendi, I., & Roostika. (2014). Morfogenesis Eksplan Keping Biji dari Tiga Klon Manggis (*Garcinia mangostana* L.) Pada Tiga Jenis Media Dasar. *J. Hort.* 24 (2): 94-101.
- Lestari, EG., Muhammad, RS., Ani, K., & Suci, R. (2013). Inisiasi Tunas Ganda Tanaman Manggis Malinau Melalui Kultur *In Vitro* untuk Perbanyak Klonal. *J. Agron.* 41 (1) : 40-46

- Nurhayati. 2004. Variasi Konsentrasi BAP dan IAA pada Perbanyakan Jeruk Keprok Maga (*Citrus nobilis*, L Var. Chrysocarpa) secara *In Vitro*. Jurnal Penelitian Bidang Ilmu Pertanian. 2(1): 8-12
- Salisbury, F.B., & Ross, C.W. (1992). Plant physiology. 4th edition. Wadsworth Publishing.
- Sirchi, MHT., MA., Kadir, MA., Aziz, AA., Rashid, A Rafat, & MB Javadi. (2008). Amelioration of Mangosteen Mikropropagation Through Leaf and Seed Segments (*Garcinia mangostana* L.). *African Journal of Biotechnology*. 7 (12): 2025-2029.
- Verma SK, B. B Yücesan, G. Şahin, S Gürel, E. Gürel. 2011. Direct Shoot Regeneration From Leaf Explants of *Digitalis lamarckii*, an Endemic Medicinal Species. *Turk J Bot* 35 (2011) 689-695.
- Wattimena GA, WL Gunawan, AN Mattjik, E Syamsudin, AMN Wiendi, A Erawatib. 1992. *Bioteknologi Tanaman. Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman*. Pusat Antar Spesies. Institut Pertanian Bogor.
- Widyastuti N. 2002. Inovasi Memperbanyak Bibit Tanaman. www.Sinarharapan.co.id/berita/0202/13/ipt02.html. [14 Juli 2019]