



**PEMBENTUKAN NODUL DARI BIJI MANGGIS (*Garcinia mangostana* L.)
ASAL BENGKALIS PADA MEDIA WPM
DENGAN PENAMBAHAN BAP DAN MADU**

***THE FORMATION OF NODULES IN MANGOSTEEN (*Garcinia mangostana* L.) SEEDS OF
BENGKALIS IN ORIGIN ON WPM MEDIA SUPPLEMENTED WITH BAP AND HONEY***

Eko Hariono, Mayta Novaliza Isda*, Siti Fatonah

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

**Corresponding author: maytaisda@yahoo.com*

Naskah Diterima: 18 Mei 2017; Direvisi: 22 Agustus 2017; Disetujui: 27 Agustus 2017

Abstrak

Manggis (*Garcinia mangostana* L.) asal Bengkalis merupakan salah satu buah tropis yang menjadi komoditas ekspor Provinsi Riau dengan keunggulan dapat hidup di tanah gambut, tanah rawa, dan tanah masam. Pembentukan nodul tanaman manggis merupakan tahapan awal perbanyakan tunas pada kultur *in vitro*. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan konsentrasi *Benzilaminopurine* (BAP) dan madu, baik tunggal maupun kombinasi, pada *Woody Plant Medium* (WPM) dalam pembentukan nodul dari eksplan biji manggis yang dibelah tiga secara membujur. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok dengan menggunakan konsentrasi BAP 0, 5, dan 7 mg/L dan madu 0, 3, 6, dan 9 mL/L, baik tunggal maupun kombinasi. Hasil percobaan menunjukkan bahwa persentase pembentukan nodul paling tinggi (100%) diperoleh dari perlakuan 5 mg/L BAP. Perlakuan pemberian konsentrasi BAP dan madu, baik tunggal maupun kombinasi, pada media WPM, tidak mampu mempercepat waktu muncul nodul. Jumlah nodul terbanyak di 40 hari setelah tanam pada perlakuan 7 mg/L BAP yang disertai 3 mL/L madu adalah 25,0 nodul/biji.

Kata kunci: BAP (*Benzilaminopurine*); Bengkalis; *In vitro*; Manggis (*Garcinia mangostana* L.); Nodul

Abstract

*Mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) from Bengkalis in origin is one of the tropical fruit that became an export commodity of Riau Province, with the advantage of living in peat soil, swamp, and acidic soil. The formation of nodules is an early stage of shoot propagation in vitro cultures. This study aims to determine the concentration of BAP (*Benzilaminopurine*) and honey, either single or combination, in *Woody Plant Medium* (WPM) in the formation of nodules from mangosteen seed explants. This research employed *Randomized Block Design* to test variation of BAP in the concentration of 0, 5, and 7 mg/L and honey in the concentration of 0, 3, 6, and 9 mL/L, either single or a combination. The results showed that the highest percentage of nodule formation (100%) was obtained from the treatment 5 mg/L of BAP. The treatment of BAP and honey, either single or combination, on WPM media, was unable to accelerate the timing of nodules. The highest number of nodules in 40 days after planting in the treatment of 7 mg/L of BAP with 3 mL/L of honey was 25.0 nodules/seed.*

Keywords: BAP (*Benzilaminopurine*); Bengkalis; *In vitro*; Mangosteen (*Garcinia mangostana* L.); Nodules

Permalink/DOI: <http://dx.doi.org/10.15408/kauniyah.v11i1.5422>

PENDAHULUAN

Manggis (*Garcinia mangostana* L.) asal Bengkalis memiliki keunggulan yaitu dapat hidup di daerah rawa-rawa, gambut dan cukup toleran terhadap tanah masam (Rahmawati, 2014). Manggis Bengkalis juga memiliki keunggulan yaitu umur berbunga pertama lebih cepat (7 tahun) dibandingkan dengan manggis dari daerah lain (lebih dari 10 tahun). Biji manggis termasuk biji apomiksis yaitu biji terbentuk tanpa melalui perkawinan dan bersifat rekalsitran sehingga harus segera ditanam setelah keluar dari buah. Perbanyak tanaman manggis dapat dilakukan dengan cara generatif (biji) dan vegetatif seperti okulasi dan sambung pucuk. Menurut Cruz (2001) bahwa perbanyak tanaman manggis secara vegetatif masih belum berhasil dengan baik. Tanaman yang diperbanyak vegetatif mempunyai ukuran yang bervariasi, tumbuh sangat lambat, dan tidak mampu mempercepat waktu pembungaan. Hal ini menyebabkan harga bibit manggis mahal dan usaha pembibitan manggis kurang menarik. 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*).

Perbanyak manggis dengan cara *in vitro* diharapkan dapat menyediakan bibit manggis secara masal, seragam, dan sepanjang tahun. George dan Sherrington (1984) bahwa media yang umum digunakan dalam kultur *in vitro* adalah media *Murashige Skoog* (MS), Gamborg (B5), *Vacin Went* (VW) dan *Woody Plant Medium* (WPM). Media WPM memiliki konsentrasi ion yang lebih rendah, namun memiliki kandungan sulfat yang lebih tinggi sehingga media WPM ini sangat baik untuk tanaman berkayu keras seperti durian dan manggis dalam perbanyak secara *in vitro*.

Benzilaminopurin (BAP) merupakan zat pengatur tumbuh dari sitokinin yang memiliki daya aktivitas yang kuat mendorong proses pembelahan sel sel meristem (George & Sherrington, 1984). Farzana *et al.* (2010) menyatakan daun *Garcinia quaesita* yang ditumbuhkan dalam media MS yang ditambah dengan 20,0 mg/L BAP dapat menyebabkan eksplan membentuk nodul. Selain ZPT, juga ditambahkan senyawa organik seperti madu untuk meningkat pertumbuhan tunas, akar atau nodul. Madu mengandung banyak mineral

seperti natrium, kalsium, magnesium, aluminium, besi, fosfor, dan kalium. Vitamin yang terdapat dalam madu adalah thiamin (B1), riboflavin (B2), asam askorbat (C), piridoksin (B6), niasin, asam pantotenat, biotin, asam folat, dan vitamin K. Sedangkan enzim dalam madu adalah enzim diastase (amilase), invertase, glukosa oksidase, peroksidase, dan lipase, yang akan menghasilkan hidrogen peroksida dan asam glukonat dari glukosa (Bogdanov *et al.*, 2008). Hasil penelitian Amin (2015) biji manggis yang dibelah empat pada kombinasi 7 mg/L BAP + 3 mL/L madu pada media MS mampu membentuk nodul dan tunas terbaik sebesar 14,60 tunas. Sementara hasil penelitian Sari *et al.* (2016) menunjukkan bahwa tipe pembelahan eksplan terbaik adalah yang dibelah tiga secara membujur dapat menginduksi tunas manggis 19,6 tunas/biji dengan pemberian 3 mg/L BAP + 3 mL/L madu pada media MS. Namun pada penelitian sebelumnya pembentukan nodul tidak ada pengamatan secara khusus sehingga perlu dilakukan penelitian induksi nodul sebelum terbentuknya tunas *in vitro*.

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. Nodul juga merupakan sel yang berkembang membentuk tonjolan berwarna putih hingga hijau yang tidak meruncing pada suatu organ yang kemudian akan menjadi calon tunas jika kondisi lingkungan dan nutrisi yang didapatkan sel tersebut sesuai. Terbentuknya tunas diawali dengan terbentuknya nodul akan menghasilkan tunas yang lebih banyak hal ini akan menguntungkan dalam perbanyak tunas secara *in vitro*. Menurut 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 sebelumnya dengan penggunaan media MS yang ditambahkan BAP dan madu belum mendapatkan jumlah nodul yang optimal maka perlu dilakukan penelitian pembentukan nodul dengan penambahan BAP dan madu pada media WPM. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan konsentrasi BAP dan madu baik

tunggal maupun kombinasi pada *Woody Plant Medium* (WPM) dalam pembentukan nodul dari eksplan biji manggis asal Bengkalis secara *in vitro*.

MATERIAL DAN METODE

Rancangan Penelitian

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.

Pembuatan Media Kultur

Larutan stok, gula, agar dan zat pengatur tumbuh yang telah ditimbang, kemudian dituang ke dalam gelas Beaker dan ditambahkan zat pengatur tumbuh BAP dan madu sesuai dengan perlakuan. Larutan media ditambah akuades hingga mencapai volume 1 L. 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 selama 30 menit sambil digoyang. Setelah itu, biji dibilas dengan air mengalir selama 30 menit. Selanjutnya sterilisasi di dalam *Laminar Air Flow Cabinet* (L AFC), eksplan biji direndam dalam 2 g/L fungisida selama 10 menit, dibilas sebanyak 3 kali dengan akuades steril, dilanjutkan perendaman dengan 2 g/L bakterisida dan fungisida selama 10 menit dan dibilas sebanyak 3 kali dengan akuades steril. Selanjutnya, biji direndam dengan larutan 20% natrium hipoklorit selama 10 menit, kemudian eksplan biji dicuci dengan akuades steril sebanyak 3 kali. Eksplan biji direndam

kembali dengan larutan alkohol 70% selama 10 menit dan dibilas kembali dengan akuades steril sebanyak 3 kali.

Penanaman eksplan dilakukan dalam L AFC yang sebelumnya telah disterilkan menggunakan alkohol 70%. Sebelum penanaman eksplan dilakukan, UV L AFC dibiarkan menyala selama 60 menit. Sebelum peralatan tanam yang akan digunakan dimasukkan ke dalam L AFC, peralatan disemprot terlebih dahulu menggunakan alkohol 70%. Biji diletakkan pada cawan petri dan dipotong tiga secara membujur 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), jumlah nodul (buah) dan warna nodul.

Analisis Data

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

Berdasarkan hasil analisis ragam pada Tabel 1 diketahui dengan penambahan BAP dan madu baik tunggal maupun kombinasi pada media WPM pada 40 hst berbeda nyata terhadap persentase pembentukan nodul dan jumlah nodul namun tidak berbeda nyata dengan waktu muncul nodul.

Perkembangan eksplan biji manggis yang dipotong tiga secara membujur pada hasil penelitian memiliki dua cara dalam pembentukan organ yakni organogenesis langsung dan organogenesis tak langsung. Organogenesis tidak langsung pada eksplan akan membentuk tahap kalus atau nodul sebelum berkembang menjadi primordia tunas dan daun (Gambar 1A, B, C). Organogenesis langsung pada eksplan akan membentuk primordia tunas dan daun secara langsung (Gambar 1D, E).

Pengamatan secara morfologi adalah salah satu pengamatan yang paling mudah

dilakukan karena dapat dilihat secara visual. Warna nodul yang terbentuk tidak selalu sama. Hal ini diduga adanya jenis sel yang memiliki pigmen yang berbeda dan juga pengaruh dari hormon pada nodul tersebut (Gambar 2).

Berdasarkan uji DMRT dengan taraf 5% terhadap persentase pembentukan nodul dan jumlah nodul pada eksplan biji manggis asal Bengkalis yang disajikan pada Tabel 2.

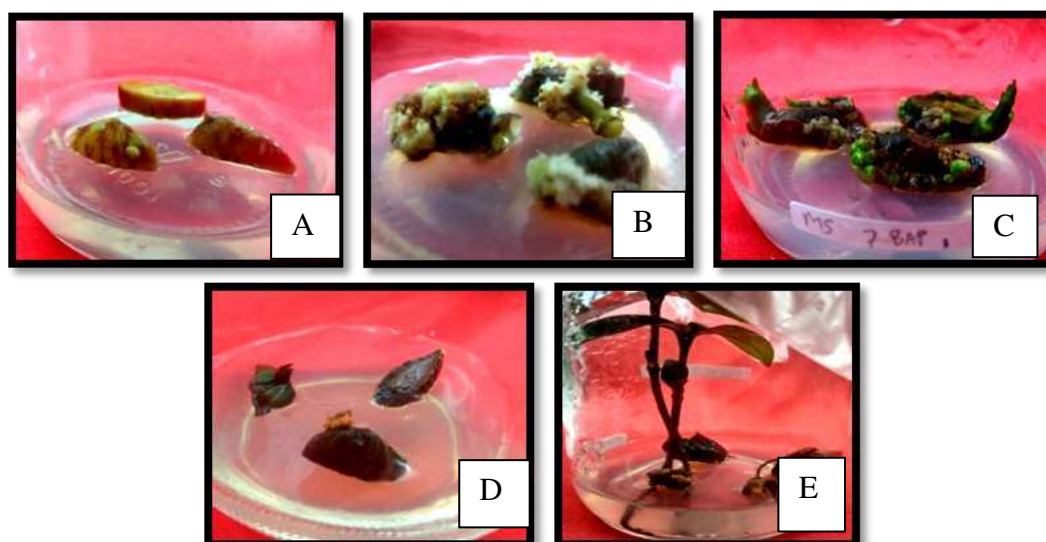
Tabel 1. Hasil analisis ragam pengaruh BAP dan madu pada media WPM terhadap pertumbuhan nodul pada eksplan biji manggis secara *in vitro*

Parameter pengamatan	Jumlah kuadrat	Df	Kuadrat tengah	F	Sig.
Persentase pembentukan nodul (40 hst)	54279,02	11	4934,45	10,37	0,00
Waktu muncul nodul	364,33	11	33,12	0,93	0,52
Jumlah nodul pada 40 hst	4375,38	11	397,76	5,06	0,00

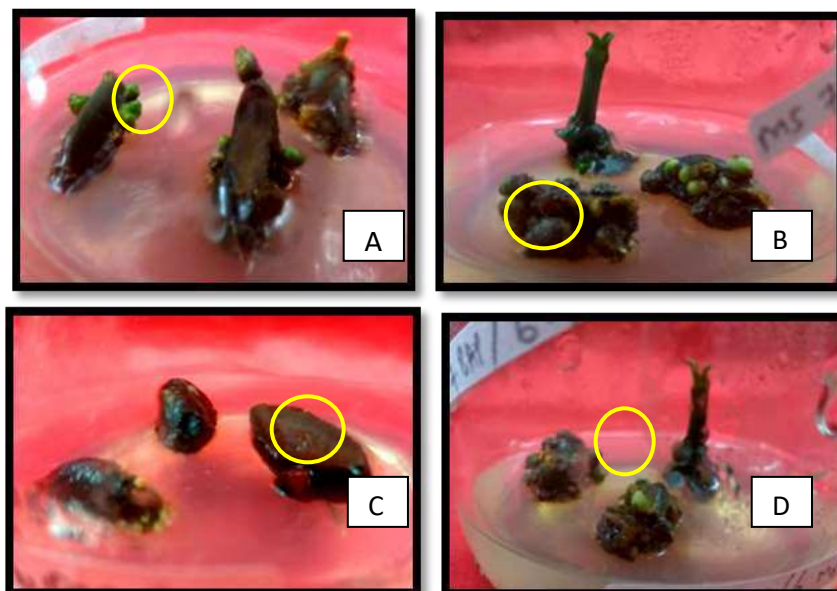
Tabel 2. Hasil rata-rata persentase pembentukan nodul dan jumlah nodul pada biji manggis secara *in vitro* dengan penambahan BAP dan madu pada media WPM selama 40 hst

Kode Perlakuan	BAP (mg/L)	Madu (mL/L)	Pembentukan nodul (%)	Jumlah nodul (buah)
K1	0	0	13,33 ^a	0,40 ^a
K2	5	0	100,00 ^c	23,40 ^c
K3	7	0	93,33 ^{bc}	18,00 ^{bc}
K4	0	3	26,66 ^a	0,80 ^a
K5	0	6	13,33 ^a	0,40 ^a
K6	0	9	33,33 ^a	1,00 ^a
K7	5	3	86,67 ^{bc}	8,60 ^{ab}
K8	5	6	73,33 ^{bc}	9,20 ^{ab}
K9	5	9	66,66 ^b	8,20 ^{ab}
K10	7	3	86,67 ^{bc}	25,40 ^c
K11	7	6	73,33 ^{bc}	16,00 ^{bc}
K12	7	9	73,33 ^{bc}	8,40 ^{ab}

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



Gambar 1. Bentuk organogenesis tidak langsung (A,B,C), dan langsung (D,E) (A) awal muncul nodul, (B) eksplan membentuk kalus pada 40 hst, (C) eksplan membentuk nodul pada 40 hst, (D) awal eksplan muncul kuncup tunas, (E) eksplan membentuk tunas dan akar pada 40 hst



Gambar 2. Macam-macam warna nodul pada eksplan biji manggis dengan penanda berwarna kuning (A) nodul berwarna hijau, (B) nodul berwarna coklat, (C) nodul berwarna merah, dan (D) nodul berwarna putih

PEMBAHASAN

Hasil analisis ragam (Tabel 1) menunjukkan perlakuan pemberian konsentrasi BAP dan madu baik tunggal maupun kombinasi pada media WPM menunjukkan pengaruh nyata terhadap persentase eksplan membentuk nodul dan jumlah nodul pada 40 hst. Namun perlakuan pemberian konsentrasi BAP dan madu baik tunggal maupun kombinasi pada media WPM tidak berpengaruh nyata terhadap waktu muncul nodul.

Hasil uji lanjut (Tabel 2) perlakuan pemberian konsentrasi BAP secara tunggal maupun kombinasi dengan madu berbeda nyata dengan kontrol terhadap persentase terbentuknya nodul. Perlakuan pemberian madu secara tunggal tidak berbeda nyata dengan kontrol terhadap persentase terbentuknya nodul. Rata-rata persentase pembentukan nodul tertinggi mencapai 100% pada perlakuan 5 mg/L BAP secara tunggal pada media WPM. Persentase pembentukan nodul terendah pada perlakuan 0 dan 6 mL/L madu secara tunggal berjumlah 13,332%. 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 &

Sherrington (1984) bahwa BAP mampu memacu pertumbuhan dengan daya aktivitas yang kuat mendorong proses diferensiasi sel. Supraini *et al.* (2013) juga mengemukakan bahwa BAP merupakan sitokinin turunan dari adenin yang paling aktif dalam proses pembelahan sel, pembentukan nodul dan organ, dan memacu pertumbuhan tunas, serta perkembangan awal mata tunas (nodul) dan pucuk. Menurut Isda *et al.* (2016) bahwa perbedaan respon *in vitro* ini juga dipengaruhi oleh tingkat kemiripan genetik yang rendah, walaupun manggis termasuk tanaman apomiksis, namun terjadi variasi genetik dengan tingkat kemiripan yang berbeda-beda.

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). White (1980) menambahkan bahwa madu murni juga mengandung senyawa-senyawa seperti alkaloid, glikosida, dan flavonoid.

Pertumbuhan Nodul Pada Eksplan Biji Manggis

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. Penelitian Kasutjjaningati *et al.* (2010) menjelaskan bahwa induksi tunas diawali dengan terbentuknya nodul yang membengkak dan kemudian berkembang menjadi tunas. Lestari *et al.* (2013) juga menyatakan bahwa eksplan biji manggis akan menghasilkan tonjolan-tonjolan bulat atau nodul terlebih dahulu pada permukaan eksplan yang merupakan bakal tunas. Joni *et al.* (2014) menyatakan bahwa pembentukan tunas diawali dengan pembentukan nodul terlebih dahulu pada perbanyak *in vitro* tanaman manggis.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian konsentrasi BAP dan madu baik tunggal maupun kombinasi memberikan respons yang berbeda-beda pada media WPM terhadap pertumbuhan nodul manggis yang meliputi jumlah dan warna nodul mulai awal penanaman hingga 40 hari setelah tanam (hst).

Waktu Muncul Nodul

Waktu muncul nodul merupakan salah satu faktor penting yang perlu diperhatikan dan menjadi pertimbangan dalam perbanyak tanaman dalam metode kultur *in vitro*. Rata-rata waktu muncul nodul dari eksplan biji manggis dengan penambahan BAP dan madu baik tunggal maupun kombinasi pada media WPM dalam penelitian ini sangat relatif cepat. Hasil analisis ragam (Tabel 1) dengan pemberian konsentrasi BAP dan madu baik tunggal maupun kombinasi tidak menunjukkan adanya pengaruh nyata terhadap waktu muncul nodul. Perlakuan penambahan BAP dan madu baik tunggal maupun kombinasi tidak mempercepat waktu muncul nodul pada eksplan biji manggis asal Bengkalis yang dipotong tiga secara membujur pada kultur *in vitro*.

Pada media WPM waktu muncul nodul tercepat adalah perlakuan WPM 0 (kontrol) dimana nodul terbentuk 7,6 hst, perlakuan 5

dan 7 mg/L BAP serta 3, 6 dan 9 mL/L madu baik tunggal maupun kombinasi tidak mempercepat pembentukan nodul, bahkan relatif membutuhkan waktu lebih lama untuk eksplan biji manggis membentuk nodul. Hal ini dikarenakan sulfat yang tinggi pada media WPM mampu mendorong pembentukan nodul dan tunas. Media WPM memiliki kandungan ion-ion yang rendah seperti Mg, Cl dan lain-lain, namun memiliki kandungan sulfat yang lebih tinggi dibandingkan dengan media MS. Kandungan sulfat sangat penting bagi tanaman berkayu untuk tumbuh dan berkembang. Peran lain sulfat bagi tanaman adalah untuk sintesis asam amino sistin, sistein, dan metionin, yang selanjutnya membentuk protein, unsur sulfat juga sangat membantu perkembangan pucuk, akar dan anakan. Hasil penelitian Ghanbari (2014) menggunakan *shoot* tanaman apel *in vitro* pada media yang berbeda menunjukkan media MS lebih efektif untuk waktu muncul dan pembentukan tunas sebanyak 4,46 tunas/eksplan daripada media WPM sebesar 3,66 tunas/eksplan.

Jumlah Nodul

Proses organogenesis langsung dan tidak langsung pada penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 1 yang diawali dengan perubahan warna pada eksplan, kemudian beberapa perlakuan membentuk nodul pada permukaan (Gambar 1A). Eksplan terus berkembang membentuk kalus dan membentuk banyak nodul pada permukaan eksplan sampai pada 40 hst (Gambar 1B dan C). Beberapa eksplan langsung membentuk primordia daun atau kuncup daun dan primordia akar (Gambar 1D). Primordia terus berkembang menjadi tunas dewasa dan akar yang utuh setelah 40 hst (Gambar 1E).

Hasil analisis ragam menunjukkan pengaruh nyata antara pemberian BAP dan madu baik tunggal maupun kombinasi pada media WPM terhadap jumlah nodul yang dihasilkan setelah 40 hst. Rata-rata pembentukan jumlah nodul pada perlakuan 5 dan 7 mg/L BAP secara tunggal dan kombinasi dari 7 mg/L BAP dengan 3 dan 6 ml/L madu berbeda nyata dengan kontrol. Rata-rata pembentukan jumlah nodul terbanyak di media WPM pada perlakuan dengan pemberian 7 mg/L BAP+3 ml/L madu sebanyak 25,40

nodul pada 40 hst. Pembentukan jumlah nodul paling rendah terdapat pada perlakuan WPM 0 dan pemberian 6 mL/L madu secara tunggal sebanyak 0,40 nodul pada 40 hst.

Pada pengamatan 40 hst dengan perlakuan 5 dan 7 mg/L BAP secara tunggal pada media WPM lebih banyak menghasilkan jumlah nodul antara 18–23,40 nodul. Hal ini dikarenakan penambahan BAP secara tunggal meningkatkan organogenesis secara tidak langsung pada eksplan sehingga membentuk nodul yang berkemungkinan besar akan 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.

Perlakuan dengan pemberian 3, 6 dan 9 mL/L madu secara tunggal menghasilkan rata-rata terbentuk nodul sedikit jika dibandingkan dengan penambahan BAP secara tunggal. Ini diduga karena kandungan gula pada madu menambah konsentrasi gula pada media yang menyebabkan pertumbuhan kalus meningkat dan mempercepat nodul membentuk tunas. Selain itu disebabkan tidak adanya peranan hormon sitokinin dalam diferensiasi sel kalus membentuk nodul. Menurut Nursetiadi (2008) penambahan sitokinin berupa BAP pada media kultur *in vitro* dapat mendorong pembelahan dan perkembangan sel-sel meristem menjadi tonjolan pada eksplan atau nodul dan tunas. Sesuai dengan penelitian Sari *et al.* (2016) yang menunjukkan jumlah tunas pada perlakuan 3, 6 dan 9 mL/L madu menghasilkan jumlah tunas berkisar 1,8–2,0 tunas/biji. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan dengan penambahan 3, 6, 9 madu mL/L tidak berbeda nyata dengan kontrol menghasilkan jumlah nodul sangat sedikit berkisar 0,40–1,00 nodul. Pada eksplan biji tersebut lebih banyak membentuk kalus ataupun tunas akibat pelukaan.

Perlakuan kombinasi antara 5 dan 7 mg/L BAP dan 3, 6 dan 9 mL/L madu mampu meningkatkan jumlah nodul dibandingkan dengan perlakuan madu secara tunggal (8,20–25,40 nodul). Biji manggis membutuhkan hormon eksogen untuk proses organogenesis, sehingga pada perlakuan dengan penambahan 5 dan 7 mg/L BAP baik tunggal maupun yang dikombinasikan dengan 3, 6 dan

9 mL/L madu lebih banyak menghasilkan jumlah nodul pada 40 hst. Ariati *et al.* (2012) menyatakan bahwa kalus pada tanaman kakao terbentuk akibat luka irisan pada eksplan.

Rata-rata eksplan pada hasil penelitian yang menghasilkan banyak kalus akan membentuk jumlah nodul yang lebih sedikit dan sebaliknya. Hasil ini diduga karena jumlah hormon auksin dan sitokinin pada media yang seimbang sehingga organogenesis lebih mengarah pada pembentukan kalus. Hasil dari penelitian menunjukkan sebagian dari kalus akan lanjut membentuk nodul sebagai tahap organogenesis. Berdasarkan hasil penelitian Tajuddin (2012) didapatkan bahwa eksplan biji anggur (*Vitis vinifera* L.) yang ditanam dengan konsentrasi BAP rendah menyebabkan tunas terbentuk melalui fase organogenesis tidak langsung dan membutuhkan waktu lebih lama dalam pembentukan tunas.

Secara morfologi struktur kalus dibagi atas dua yaitu remah dan kompak. Beberapa perlakuan menghasilkan kalus yang kompak. Di mana kalus yang kompak akan menghasilkan organogenesis membentuk tunas yang diawali dengan terbentuknya nodul. Hal ini diduga karena kalus yang dapat membentuk nodul merupakan kalus embriogenik. Menurut Yunita (2004) kalus embriogenik memiliki ciri berwarna putih kekuningan, mengkilat dan remah (mudah dipisahkan membentuk fragmen) sedangkan kalus non-embriogenik memiliki ciri berwarna kuning kecoklatan, agak pucat dan lembek berair sehingga sulit dipisahkan. Menurut Rivai *et al.* (2014) mengatakan bahwa keseimbangan auksin dan sitokinin dalam media kultur *in vitro* akan menyebabkan terbentuknya dua tipe tekstur kalus yaitu tekstur kalus remah dan kalus kompak. Tekstur kalus remah sering ditemukan berasosiasi dengan embrio somatik sedangkan tekstur kalus kompak akan berpotensi untuk berkembang ke arah organogenesis dan sangat jarang ditemukan berkembang menjadi embrio somatik. Mahadi *et al.* (2016) mengatakan bahwa tekstur kalus kompak disebabkan oleh proses lignifikasi sehingga kalus tersebut mempunyai tekstur yang lebih keras yang merupakan efek dari hormon sitokinin yang berperan dalam transport zat hara.

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.

Warna Nodul

Perkembangan nodul pada penelitian ini memiliki banyak perbedaan pada warna nodul (Gambar 2). Adapun warna nodul yang ditemukan berwarna hijau, coklat, merah dan putih. Warna hijau pada nodul disebabkan adanya pigmen dari golongan karoten dan xantofil yang merupakan pigmen yang terdapat pada klorofil yang bersifat eukariotik (materi inti dibungkus oleh membran inti). Hasil dari pengamatan nodul berwarna hijau ini akan berkembang menjadi nodul yang lebih banyak, kemudian nodul dengan warna hijau akan menjadi tunas (batang tunas). Hal ini dapat dilihat bahwa batang tunas muda yang masih berwarna hijau juga memiliki pigmen yang sama dengan nodul hijau tersebut (Gambar 2A).

Warna coklat pada nodul disebabkan oleh penyusun pigmen utama adalah xantofil dimana pigmen ini berwarna coklat, namun pigmen pendukung lainnya adalah klorofil dan karotena. Tetapi mungkin pula warna coklat terbentuk dari metabolisme sekunder pada biji berupa enzim *polifenol oksidase* yang menyebabkan *browning* pada permukaan nodul. Hasil dari pengamatan nodul berwarna coklat ini akan berkembang menjadi akar atau bertambah besar, hal ini dipengaruhi oleh kandungan nitrogen pada media. Menurut Salisbury dan Ross (1992) warna organ pada tanaman hasil kultur *in vitro* sangat dipengaruhi oleh kandungan nitrogen pada media tumbuhnya (Gambar 2B).

Warna merah pada nodul disebabkan oleh penyusun pigmen utama adalah karotenoid dan likopen. Karotenoid adalah pigmen organik yang ditemukan pada kloroplas dan kromoplas pada tumbuhan dan kelompok organisme lainnya seperti alga. Karotenoid juga dikenal sebagai zat antioksidan dan penghantar elektron dalam fotosintesis. Hasil dari pengamatan nodul berwarna merah akan berkembang menjadi primordia daun dan menjadi calon tunas dengan waktu yang relatif lebih cepat dari pada nodul yang berwarna hijau (Gambar 2C).

Warna putih pada nodul disebabkan tidak adanya penyusun pigmen apapun, sehingga pigmen tidak memantulkan warna tertentu untuk masuk kedalam sel sehingga terlihat berwarna putih. Hasil dari pengamatan nodul berwarna putih biasanya terbentuk dari perkembangan kalus kemudian akan berkembang menjadi nodul yang berwarna hijau ataupun coklat (Gambar 2D). Menurut Tranggono (1990) menyatakan bahwa jenis-jenis senyawa zat warna yang terkandung dalam tumbuhan adalah klorofil (hijau) pada daun, karoten (kuning hingga orange) pada umbi dan daun, *likopen* (merah) pada bunga dan buah, *flavon* (kuning) pada bunga, akar dan kayu, antosianin (kuning kemerahan, merah lembayung) pada buah dan bunga, betalin (kuning merah) menyerupai antosianin atau *flavonoid* pada beet merah, *xanton* (kuning hingga coklat) pada buah, akar dan batang tua pada tanaman.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan dapat diperoleh kesimpulan bahwa pemberian BAP dan madu baik tunggal maupun kombinasi pada media WPM mampu meningkatkan persentase eksplan membentuk nodul dan jumlah nodul pada 40 hst. Konsentrasi BAP dan madu terbaik pada media WPM dalam pembentukan nodul yaitu perlakuan 7 mg/L BAP+3 mL/L madu sebesar 25,0 nodul/ biji.

SARAN

Perlunya dilakukan penelitian lanjutan dengan melakukan subkultur nodul dengan menggunakan konsentrasi yang sama guna yang mendapatkan nodul yang lebih banyak yang akan digunakan untuk proliferasi tunas manggis.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih kepada DIPA Universitas Riau tahun 2017 yang telah mendanai penelitian ini.

REFERENSI

Ariati, S. N., Waeniati, Muslimin, & Suwastika, I. N. (2012). Induksi kalus tanaman kakao (*Theobroma cacao* L.) pada media MS dengan penambahan 2,4D, BAP dan air kelapa. *Jurnal Natural Science*, 1(1), 74-84.

- Bogdanov, S. T., Jurendic, R., Sieber, P., & Gallmann. (2008). Honey for nutrition and health: a review. *American Journal of The College of Nutrition*, 27, 677-689.
- Cruz, F. S. D. (2001). Status report on genetic resources of mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) in Southeast Asia. India: IPGRI.
- Farzana, A. F. R., RMIEK Bandara, Aluwihere, P. C., & Eeswara, J. P. (2010). *In vitro* regeneration of shoots from *Garcinia quaesita* leaf explants. *Journal of the National Science Foundation Sri Langka*, 38(3), 157-162.
- George, E. F., & Sherrington, P. D. (1984). *Plant propagation by tissue culture*. England: Eastern Press.
- Ghanbari, A. (2014). Impacts of plant growth regulators and culture media on *in vitro* propagation of three apple (*Malus domestica* Borkh.) rootstocks. *Iranian Journal of Genetics and Plant Breeding*, 3(1), 11-20.
- Isda, M. N., Fatonah, S., & Sari, L. N. (2016). Pembentukan tunas dari biji manggis (*Garcinia Mangostana* L.) asal Bengkulu dengan penambahan BAP dan madu secara *in vitro*. *Al-Kauniyah Jurnal Biologi*, 9(2), 119-124.
- Isda, M. N., & Amin, N. A. (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, Y. Z., Efendi, I., & Roostika. (2014). Morfogenesis eksplan keping biji dari tiga klon manggis (*Garcinia mangostana* L.) pada tiga jenis media dasar. *Jurnal Hortikultura*, 24(2), 94-101.
- Kasutjjaningati, Poerwanto, R., Khumaida, N., & Efendi, D. (2010). Kemampuan pecah tunas dan berbiak *mother plant* pisang rajabulu (AAB) dan pisang tanduk (AAB) dalam medium inisiasi *in vitro*. *Jurnal Agriplus*, 20, 09-17.
- Lestari, E. G., Muhammad, R. S., Ani, K., & Suci, R. (2013). Inisiasi tunas ganda tanaman manggis Malinau melalui kultur *in vitro* untuk perbanyak klonal. *Jurnal Agronomi*, 41(1), 40-46.
- Mahadi, I., Syafi'i, Y., & Sari. (2016). Induksi kalus jeruk kasturi (*Citrus microcarpa*) menggunakan hormon 2,4-D dan BAP dengan metode *in vitro*. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, 21(2), 84-89.
- Rahmawati, R. Y. (2014). Induksi tunas dari eksplan biji manggis (*Garcinia mangostana* L.) asal Bengkulu secara *in vitro* dengan perlakuan BAP (*Benzylaminopurine*) pada medium MS. *Jurnal FMIPA*, 1(2), 263-268.
- Rivai, R. R., Husni, A., & Purwito. (2014). Induksi kalus dan embrio somatik jambu biji merah (*Psidium guajava* L.). *Buletin Agrohorti*, 2(1), 49-58.
- Sari, L. N. (2016). Pembentukan tunas dari biji manggis (*Garcinia mangostana* L.) asal Bengkulu dengan penambahan BAP dan madu secara *in vitro*. *Al-Kauniyah Jurnal Biologi*, 9(2), 119-124.
- Salisbury, F. B., & Ross, C. W. (1992). *Plant physiology*. 4th edition. California, USA: Wadsworth Publishing.
- Sirchi, M. H. T., Kadir, M. A., Aziz, A. A., Rashid, Rafat, A., & Javadi, M. B. (2008). Amelioration of mangosteen mikropropagation through leaf and seed segments (*Garcinia mangostana* L.). *African Journal of Biotechnology*, 7(12), 2025-2029.
- Tajuddin, R., Suwastika, I. N., & Muslimin. (2012). Organogenesis tanaman anggur hijau (*Vitis Vinifera* L.) pada medium Ms dengan penambahan Indole Acetic Acid (IAA) dan berbagai konsentrasi Benzil Amino Purin (BAP). *Jurnal Natural Science*, 1(1), 63-73.
- Tranggono, & Sutardi. (1990). *Biokimia dan teknologi pasca panen*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Yunita, R. (2004). Multiplikasi tunas melinjo (*Gnetum gnemon*) secara *in vitro*. *Jurnal SAGU*, 3(1), 1-8.