

MULTIPLIKASI TUNAS MANGGIS (*Garcinia mangostana* L.) MELALUI PEMBENTUKAN KALUS NODULAR

Yosi Zendra Joni^{1*} dan Rahayu Triatminingsih²

¹Mahasiswa Pascasarjana Institut Pertanian Bogor

²Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika, Jl. Raya Solok-Aripan KM. 8, Solok 27301

*Penulis untuk korespondensi: rabbaniyyun@yahoo.com

ABSTRAK

Multiplikasi tunas manggis melalui pembentukan kalus nodular merupakan salah satu metode untuk memperbanyak tanaman manggis secara kultur *in vitro*. Penelitian ini bertujuan mendapatkan media yang cocok untuk multiplikasi tunas yang diregenerasikan dari kalus nodular. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Pemuliaan dan Kultur Jaringan Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika dari bulan Juli 2011 sampai dengan bulan April 2012. Eksplan yang digunakan adalah kalus nodular dari biji manggis yang telah masak. Eksplan dikulturkan pada media WPM ditambah 30 g/l sukrosa dan 2 g/l gelzan. Pembentukan globular menggunakan media WPM dengan empat perlakuan thidiazuron (TDZ), yaitu (0,05; 0,1; 0,5; dan 1 mg/l). Multiplikasi dan regenerasi tunas menggunakan media WPM dengan enam perlakuan zat pengatur tumbuh, yaitu 0,1 mg/l IAA dikombinasikan dengan BAP (3, 4, dan 5 mg/l) dan 0,1 mg/l NAA dikombinasikan dengan BAP (3, 4, dan 5 mg/l). Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada media WPM dengan penambahan 0,05 mg/l TDZ menghasilkan jumlah globular terbanyak (17 globular/eksplan). Media terbaik untuk multiplikasi dan regenerasi tunas adalah media WPM dengan penambahan 0,1 mg/l NAA atau 0,1 mg/l IAA yang dikombinasikan dengan 3 mg/l BAP, masing-masing mampu meregenerasikan globular menjadi tunas 76,87% dan 75,16%. Tahap selanjutnya adalah menentukan media yang cocok untuk pemanjangan dan pengakaran tunas manggis.

Kata kunci: Manggis, multiplikasi, kalus nodular, globular, tunas.

PENDAHULUAN

Untuk mendukung pengembangan kawasan hortikultura, khususnya pengembangan tanaman manggis yang mempunyai sifat unggul, membutuhkan jumlah benih manggis dalam jumlah yang sangat besar. Untuk memenuhi kebutuhan tersebut diperlukan suatu teknologi yang mampu membuat benih manggis dalam jumlah massal, cepat dan biaya yang relatif murah.

Selama ini, tanaman manggis biasanya diperbanyak dengan biji, karena bijinya bersifat apomiksis. Kendala perbanyakan dengan biji adalah: buahnya bersifat musiman (1-2 kali pertahun), jumlah biji yang dihasilkan per buah rendah (1-2 biji/buah) dan seringkali ditemukan buah yang *seedless*, selain itu bijinya bersifat rekalsitran, sehingga tidak bisa disimpan lama. Perbanyakan secara vegetatif konvensional sering pula mengalami hambatan, karena menghasilkan tanaman yang abnormal, benih yang dihasilkan pertumbuhannya lambat, lemah, tidak seragam, dan masa berbunganya lambat (Normah *et al.*, 1995; Sirchl *et al.*, 2008). Kultur *in vitro* manggis merupakan salah satu solusi untuk mengatasi berbagai masalah dalam perbanyakan benih manggis. Melalui kultur *in vitro* dapat diproduksi benih manggis dengan cepat, jumlah yang banyak, seragam, dan dapat menunjang program pemuliaan tanaman manggis selanjutnya (Qosim *et al.*, 2006).

Keberhasilan kultur *in vitro* manggis dengan menggunakan eksplan biji telah dilaporkan oleh Goh *et al.* (1988), Te-chato and Aengyong (1988), Triatminingsih *et al.* (1993), Rostika *et al.* (2008) dan menggunakan eksplan daun muda oleh Goh *et al.* (1990); Te-chato *et al.* (1992). Tetapi tingkat multiplikasi tunas yang dihasilkan masih tergolong rendah. Penelitian Rostika *et al.* (2008) dengan

penggunaan media MS yang diperkaya dengan 5 mg/l BA menghasilkan rata-rata 2.7 tunas/biji. Hal ini berarti jumlah tunas yang dihasilkan tidak berbeda jauh dengan jumlah tunas yang dihasilkan melalui pembibitan dilapangan. Pembibitan dilapangan umumnya menghasilkan 1-2 tunas/biji.

Berdasarkan permasalahan diatas, perbanyak bibit manggis secara kultur *in vitro* memerlukan metode, media, dan zat pengatur tumbuh jenis lain untuk meningkatkan jumlah tunas yang dihasilkan. Salah satunya adalah dengan menginduksi kalus, kemudian diregenerasikan menjadi tunas. Te-chato *et al.* (1995) berhasil menginduksi kalus nodular dengan menggunakan eksplan daun muda. Kalus nodular dapat diinduksi dengan penambahan hormon thidiazuron (TDZ) α -Naphthalene Acetic Acid (NAA) atau kombinasi NAA dengan 6-Benzilaminopurin (BAP) (Te-chato *et al.* 1999; Sirchl *et al.* 2008). Tujuan dari penelitian ini adalah menentukan media yang cocok untuk meningkatkan multiplikasi tunas manggis melalui pembentukan kalus nodular.

BAHAN DAN METODE

Penelitian telah dilaksanakan di Laboratorium Pemuliaan dan Kultur Jaringan Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika, mulai bulan Juli 2011 sampai April 2012. Eksplan yang digunakan adalah biji dari buah masak. Biji manggis dibersihkan dari daging buahnya, kemudian disterilisasi dengan direndam dalam alkohol 70% selama 5 menit, kemudian dibilas dengan aquades steril 1 (satu) kali. Selanjutnya direndam ke dalam larutan clorox 20% selama 10 menit, dan dibilas dengan aquades steril 3-4 kali.

Setelah disterilisasi eksplan dikulturkan dalam media WPM yang dilengkapi dengan 30 g/l sukrosa, 2 g/l gelzan dan penambahan 0,5 mg/l NAA + 5 mg/l BAP. Selanjutnya kultur diinkubasi di ruang gelap pada temperatur sekitar 25-28°C selama 8 minggu.

Induksi Globular

Kalus nodular yang terbentuk pada media inisiasi (WPM + 0,5 mg/l NAA + 5 mg/l BAP) kemudian disubkultur ke media untuk menginduksi kalus nodular menjadi tunas, yang diawali dengan pembentukan globular. Media dasar yang digunakan untuk induksi globular adalah media WPM yang dilengkapi dengan 30 g/l sukrosa dan 2 g/l gelzan. Percobaan terdiri atas empat perlakuan TDZ (0,05; 0,1; 0,5; dan 1 mg/l). Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 6 kali (botol). Selanjutnya kultur diinkubasi di ruang gelap pada temperatur sekitar 25-28°C, selama 8 minggu. Peubah yang diamati adalah persentase kalus nodular yang membentuk globular dan jumlah globular/eksplan.

Multiplikasi dan Regenerasi Tunas

Globular yang terbentuk kemudian diregenerasikan menjadi tunas. Media dasar yang digunakan adalah media WPM dilengkapi dengan 30 mg/l sukrosa dan 2 g/l gelzan. Percobaan terdiri atas 6 perlakuan zat pengatur tumbuh, yaitu 1) 0,1 mg/l IAA + 3 mg/l BAP; 2) 0,1 mg/l IAA + 4 mg/l BAP; 3) 0,1 mg/l IAA + 5 mg/l BAP; 4) 0,1 mg/l NAA + 3 mg/l BAP; 5) 0,1 mg/l NAA + 4 mg/l BAP; dan 6) 0,1 mg/l NAA + 5 mg/l BAP. Setiap perlakuan dimasukkan 10-15 globular/botol. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 5 kali (botol). Selanjutnya kultur diinkubasi di ruang terang dengan lama pencahayaan 12 jam pada temperatur sekitar 25-28°C, selama 8 minggu.

Peubah yang diamati adalah jumlah globular/botol, persentase kalus nodular yang membentuk globular, jumlah tunas/botol, dan panjang tunas/tanaman.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Induksi Globular

Kalus nodular umumnya sudah terbentuk pada minggu ke-3 atau ke-4 setelah kultur. Kalus nodular awalnya akan muncul pada bagian bekas potongan atau luka. Selanjutnya baru berkembang pada bagian lain dari eksplan. Kalus tersebut berbentuk bulat-bulat, berwarna krim, mengkilat dan relatif kompak.

Proses awal perubahan kalus nodular membentuk tunas adalah dalam bentuk globular (Gambar 1B). Globular tersebut biasa berwarna krim, kemerahan dan sebagian ada yang hijau mengkilat. Globular yang terbentuk kemudian akan berkembang menjadi tunas, ditandai dengan munculnya *plumula* (calon tunas) dan pemanjangan sel membentuk batang (Gambar 1D). Pada percobaan ini penggunaan media WPM yang mengandung 0,05-1 mg/l TDZ efektif untuk meregenerasikan kalus nodular membentuk globular (Tabel 1). Menurut Te-chato dan Lim (1999), induksi primordia tunas dari kalus nodular dapat dilakukan pada media MS atau WPM, sedangkan thidiazuron (TDZ) merupakan salah satu hormon sitokinin kelompok fenilurea sintetik yang berperan penting dalam meningkatkan biosintesis dan akumulasi sitokinin endogen (Victor *et al.*, 1999).

Jumlah globular yang terbentuk antar perlakuan relatif hampir sama, yaitu berkisar dari 11,2-17 globular/botol. Hal ini mungkin disebabkan karena konsentrasi TDZ yang diberikan antar perlakuan tidak terlalu jauh kisarannya, hanya antar 0,05-1 mg/l. Media yang menghasilkan jumlah globular terbanyak (17 globular/eksplan) adalah media WPM yang mengandung 0,05 mg/l TDZ, sedangkan yang terkecil (11,2 globular/eksplan) media yang mengandung 1 mg/l TDZ. Hal ini berarti pembentukan globular dari kalus nodular membutuhkan konsentrasi TDZ yang relatif kecil. Menurut Huettman *et al.* (1993); Fiola *et al.* (1990), penggunaan TDZ dalam konsentrasi rendah (<1 μ M) dapat menginduksi kalus, tunas adventif, dan embrio somatik.

Multiplikasi dan Regenerasi Tunas

Perkembangan selanjutnya dari globular adalah membentuk tunas, yang ditandai dengan munculnya calon tunas (*plumula*). Umumnya perkembangan ini membutuhkan zat pengatur tumbuh yang berbeda dengan tahap sebelumnya. Pada percobaan ini penggunaan media WPM yang mengandung 0,1 mg/l IAA atau NAA + 3-5 mg/l BAP, relatif efektif untuk meregenerasikan globular menjadi tunas. Pada minggu ke-8 setelah disubkultur ke media tersebut, 58,05-76,87% globular beregenerasi menjadi tunas.

Pada media perlakuan ini, selain terjadi perubahan globular membentuk tunas juga masih terjadi pembentukan globular baru. Hal ini ditandai dengan peningkatan jumlah globular/botol. Pada

Tabel 1. Pengaruh beberapa konsentrasi TDZ terhadap persentase eksplan manggis membentuk globular dan jumlah globular/botol manggis pada minggu ke-8 setelah kultur.

Media perlakuan (WPM)	Eksplan membentuk globular (%)	Jumlah globular/eksplan
0.05 mg/l TDZ	100	17 \pm 13.29
0.1 mg/l TDZ	100	13 \pm 8.79
0.5 mg/l TDZ	100	11.3 \pm 8.96
1.0 mg/l TDZ	100	11.2 \pm 7.28

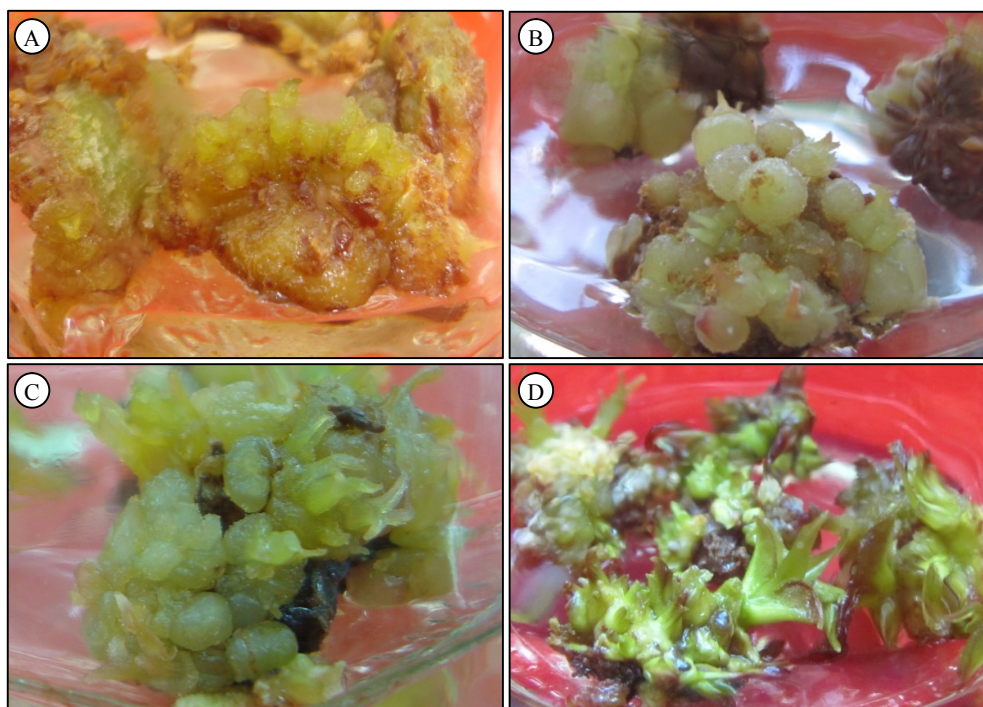
awal subkultur, setiap perlakuan hanya diisi 10-15 globular/botol, setelah 8 minggu pada setiap perlakuan terjadi peningkatan jumlah globular. Jumlah globular terbanyak (40,25 globular/botol) terdapat pada media yang mengandung 0,1 mg/l IAA + 3 mg/l BAP, selanjutnya pada perlakuan 0,1 mg/l NAA + 4 mg/l BAP sebanyak 39,2 globular/botol, sedangkan yang terkecil (18,5 globular/botol) terdapat pada media yang mengandung 0,1 mg/l IAA + 4 mg/l BAP (Tabel 2).

Jumlah tunas terbanyak (30,25 tunas/botol) terdapat pada media yang mengandung 0,1 mg/l IAA + 3 mg/l BAP, selanjutnya pada media yang mengandung 0,1 mg/l NAA + 4 mg/l BAP (28,4 tunas/botol), sedangkan jumlah tunas terkecil (12,5 tunas/botol). Hal ini berarti kombinasi BAP dan NAA dalam konsentrasi tertentu cocok digunakan untuk multiplikasi tunas manggis.

Panjang tunas yang dihasilkan pada masing-masing media perlakuan ini masih relatif pendek, yaitu berkisar antara 0,42-1,08 cm. Panjang tunas terpanjang (1,08 cm) terdapat pada media yang mengandung 0,1 mg/l IAA + 5 mg/l BAP, kemudian diikuti oleh media yang mengandung 0,1 mg/l NAA + 3 mg/l BAP dengan panjang tunas 0,76 cm. Sedangkan panjang tunas terpendek (0,42 cm) dihasilkan oleh media yang mengandung 0,1 mg/l NAA + 4 mg/l BAP.

Tabel 2. Pengaruh beberapa kombinasi ZPT terhadap jumlah globular, persentase globular membentuk tunas, jumlah tunas dan panjang tunas manggis pada minggu ke-8 setelah subkultur.

Media subkultur (WPM)	Jumlah globular/botol	Globular membentuk tunas (%)	Jumlah tunas/botol	Panjang tunas (cm)
0,1 mg/l IAA + 3 mg/l BAP	40,25 ± 14,29	75,16	30,25 ± 15,41	0,45 ± 0,10
0,1 mg/l IAA + 4 mg/l BAP	18,5 ± 12,23	67,57	12,5 ± 9,68	0,45 ± 0,10
0,1 mg/l IAA + 5 mg/l BAP	31,2 ± 10,73	67,31	21 ± 11,73	1,08 ± 0,69
0,1 mg/l NAA + 3 mg/l BAP	26,8 ± 11,90	76,87	20,6 ± 7,37	0,76 ± 0,69
0,1 mg/l NAA + 4 mg/l BAP	39,2 ± 6,53	72,45	28,4 ± 11,65	0,42 ± 0,11
0,1 mg/l NAA + 5 mg/l BAP	34,8 ± 8,70	58,05	20,2 ± 9,91	0,5 ± 0



Gambar 1. Tahap perkembangan kultur *in vitro* manggis. A = Pembentukan kalus nodular; B dan C = globular; D = Tunas manggis.

Dari percobaan ini, media perlakuan diduga tidak mampu untuk memanjangkan tunas manggis. Apabila disubkultur kembali ke media yang sama, yang terjadi adalah peningkatan jumlah globular dan diferensiasi globular menjadi tunas. Untuk itu, tunas yang sudah terbentuk perlu dipisahkan dari globular yang baru terbentuk.

Tahap selanjutnya adalah menentukan metode, media, dan zat pengatur tumbuh yang cocok untuk pemanjangan tunas dan pengakaran manggis. Setiap fase pembentukan bibit manggis secara kultur *in vitro* diduga membutuhkan metode dan media yang berbeda-beda.

KESIMPULAN

Media yang cocok untuk menginduksi globular adalah media WPM dengan penambahan 0,05 mg/l TDZ, yang menghasilkan 17 globular/eksplan. Media yang cocok untuk regenerasi tunas dari globular adalah media WPM yang mengandung 0,1 mg/l NAA atau IAA + 3 mg/l BAP, masing-masing mampu meregenerasikan globular menjadi tunas 76,87% dan 75,16%.

DAFTAR PUSTAKA

- Fiola, J.A., Hanssan MA., Swartz H.J., Bors R.H., R. McNicole. 1990. Effect of thidiazuron, light influence rate and canamycin on *in vitro* shoot organogenesis from excised *Rubus* cotyledons and leave. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 20:223-228.
- Goh, H.K.L., A.N. Rao, C.S Loh. 1988. *In vitro* plantlet formation in mangosteen (*Garcinia mangostana* L.). *Annals of Botany.* 62: 87-93.
- Goh, H.K.L., A.N. Rao, and C.S. Loh. 1990. Direct Shoot Bud Formation from Leaf Explants of Seedlings and Mature Mangosteen (*G. mangostana* L.) Trees. *Plant Sci.* 68:113-121
- Huetterman, C.A., J.E. Preece. 1993. Thidiazuron: a potent cytokinin for woody plant tissue culture. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 33:105-119.
- Normah, M.N., A.B. Noor-Azza, R. Aliudin. 1995. Factors Affecting *in vitro* Proliferation and *ex vitro* Establishment of Mangosteen. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 34(3):291-294.
- Qosim, W.A., R. Poerwanto, G.A. Wattimena, Witjaksono. 2005. Pembentukan Planlet Manggis dari Kalus Nodular *In Vitro*. *Zuriat.* 16(2):145-153.
- Rostika, I., N. Sunarlim., dan I. Mariska. 2008. Micropropagation of Mangosteen. *Indonesian Journal of Agriculture.* 1(1):28-33.
- Sirchi, M.H., Torabi, M. A. Kadir, M. A. Aziz, A. A. Rashid, A. Rafat, M. B. Javadi. 2008. Plant regeneration as affected by plant growth regulators (PGR) in mangosteen (*Garcinia mangostana* L.). *African Journal of Biotechnology.* 7(15):2693-2701.
- Te-chato, S., W. Aengyong. 1988. Microplant Propagation of Mangosteen (*Garcinia mangostana* L.). *Songkhlanakarin J. Sci. Technol.* 10:1-7.
- _____, A. Muangkaewngam. 1992. Enhanced Efficiency Micropropagation of Mangosteen through Young Leaf Culture. *Songkhlanakarin J. Sci. Technol.* 14:1-7
- _____, M. Lim, P. Suranilpong. 1995. Embryogenic Callus Induction in Mangosteen. *Songkhlanakarin J. Sci. Techno.* 17(2):115-120.
- _____, M. Lim. 1999. Plant regeneration of mangosteen via nodular callus formation. *Plant Cell, Tissue, and Organ Cult.* 59:89-92.
- Triatminingsih, R., E. Nazir, M. Winarno. 1993. Mikropropagasi *in vitro* dari tunas pucuk manggis dan kotiledon terhadap keberhasilan regenerasi tunas. *Jurnal Hortikultura.* 5(2):28-36.

Victor, J.M.R., S.J. Murch, S. Krishna Raj, P.K. Saxena. 1999. Somatic embryogenesis and organogenesis in peanut: The role of thidiazuron and N6-benzylaminopurine in the induction of plant morphogenesis. *Plant Growth regulation*. 28:9-15.