

**Pengaruh eksplan biji belah dan Media Alami untuk Perbanyak
Tanaman Manggis Secara *In Vitro***
***(The Effect of Grain Expland And Natural Media For Mangosteen
Proliferation Using In Vitro Method)***

Tutut Wirawati^{*)} dan Ellen Rosyelina, S.
Prodi Agroteknologi, UPN "Veteran" Yogyakarta
^{*)}tututwirawati@yahoo.com

Abstract

Mangosteens (Garcinia mangostana L.) is a very beneficial tropical fruit. Its proliferation can be done with in vitro method. The purpose of this research is for determining the exact combination between the number of parts of the grain and the kind of natural media for proliferation mangosteen bud using in vitro culture. The research was held in Laboratorium Kultur Jaringan Fakultas Pertanian UPN "Veteran" Yogyakarta, on April until November 2015. The materials are Puspahiang mangosteen seeds, green bean sprouts extract, coconut water, chemical, and tools for plant tissue isolation. The experiment was designed factorially (3x4). Factor I was grains treatment (3 degrees) which are B₁: whole, B₂: two-split, B₃: four split. Factor II was natural media treatment (4 degrees) which are M₁:MS + coconut water 25%, M₂:MS + coconut water 75%, M₃:MS + green bean sprouts extract 25%, and M₄: MS + green bean sprouts extract 75%. Every experiment unit was arranged in Complete Random Design with ten replications. For temporary information, the contamination time was faster (4 days after incubation) compared to green bean sprouts extract on MS + 75% coconut water media, the highest contamination was 76,7%.

Keywords: mangosteen, natural media, in vitro

Abstrak

Manggis (*Garcinia mangostana* L.) adalah jenis buah tropik yang manfaatnya sangat luas. Perbanyakannya dapat dilakukan secara *in vitro*. Tujuan penelitian untuk menentukan kombinasi yang tepat antara jumlah belahan biji dan macam media alami untuk perbanyak/proliferasi tunas manggis secara kultur *in vitro*. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Fakultas Pertanian UPN "Veteran" Yogyakarta, pada bulan April hingga Nopember 2015. Bahan berupa biji buah manggis varietas Puspahiang, media MS, ekstrak touge kacang hijau, air kelapa, bahan kimia dan peralatan pendukung kultur jaringan. Percobaan dirancang secara faktorial (3x4). Faktor I. adalah perlakuan biji belah (3 taraf) yaitu B₁: utuh, B₂: belah dua, dan B₃: belah empat. Faktor II. adalah perlakuan media alami (4 taraf) yaitu M₁: MS + air kelapa 25 %, M₂: MS + air kelapa 75 %, M₃: MS + ekstrak touge kacang hijau 25 %, dan M₄: MS + ekstrak touge kacang hijau 75 %. Tiap unit percobaan disusun dalam Rancangan Acak Lengkap dengan 10 ulangan. Diinformasikan sementara bahwa pada media MS + air kelapa 75%, waktu munculnya bakteri (terkontaminasi) nyata lebih cepat (4 hari setelah inkubasi) dibandingkan dengan media ekstrak taug kacang hijau dan jumlah yang terkontaminasi nyata tertinggi yaitu 76,7 %.

Kata kunci : Manggis, media alami, *in vitro*

PENDAHULUAN

Manggis (*Garcinia mangostana* L.) merupakan salah satu jenis buah tropik yang memiliki bentuk khas dan manis rasanya. Buahnya mengandung gizi yang bervariasi. Buah yang matang dapat dimakan segar. Bijinya dapat dimakan setelah dimasak. Kulit buah berguna untuk bahan penyamakan, dan dapat digunakan sebagai bahan obat. Kayu pohonnya dapat digunakan sebagai bahan bangunan. Namun lamanya pohon manggis mulai berbuah (setelah tanaman berumur > 7 tahun), menyebabkan petani enggan membudidayakan manggis secara intensif, sehingga saat ini pohon manggis kebanyakan masih terdapat di halaman – halaman sebagai tanaman pekarangan dan di hutan.

Perbanyakan tanaman manggis biasanya dilakukan dengan biji, karena perbanyakan tanaman secara vegetatif masih belum berhasil dengan baik dimana tanaman yang diperbanyak secara vegetatif mempunyai ukuran bervariasi, lemah, tumbuh sangat lambat, serta tidak mampu mempercepat waktu pembungaan (Cruz, 2001). Biji manggis merupakan biji apomiksis, yakni biji yang dihasilkan tanpa melalui polinasi dan fertilisasi dan merupakan hasil perkembangan jaringan sel nukleus. Tanaman yang memiliki biji demikian, apabila diperbanyak dengan biji akan mempunyai keturunan dengan sifat yang sama dengan induknya dan seragam (Mansyah *et al.*, 2003).

Masalah yang dihadapi dalam perbanyakan tanaman manggis antara lain biji hanya tersedia pada musim tertentu ketika musim berbuah (1-2 kali setahun), masing-masing buah hanya menghasilkan 1-2 biji (sekitar 10%) yang berukuran besar dan layak untuk dijadikan benih. Biji manggis bersifat rekalsitran sehingga biji tidak dapat disimpan lama dan perbanyakan tidak dapat dilakukan sepanjang tahun.

Salah satu teknologi perbanyakan yang dapat memenuhi kebutuhan bibit dalam jumlah banyak, seragam dan tidak tergantung musim adalah teknik kultur *in vitro* atau kultur jaringan (Yusnita, 2004). Kultur jaringan adalah suatu upaya mengisolasi bagian-bagian tanaman (protoplas, sel, jaringan, dan organ) kemudian mengkulturkannya pada nutrisi buatan yang steril di bawah kondisi lingkungan terkendali sehingga bagian-bagian tanaman tersebut dapat beregenerasi menjadi tanaman lengkap kembali.

Keberhasilan kultur jaringan diawali dengan pemilihan material tanaman (eksplan) yang tepat dan formulasi media sebagai penunjang nutrisi tanaman. Materi atau bagian tanaman yang akan diregenerasikan mempunyai karakter pertumbuhan yang tidak sama. Media yang digunakan kultur jaringan terdiri atas beberapa komponen yaitu: nutrisi, sumber besi, vitamin, amino asit, zat pengatur tumbuh, sumber karbon, pematat atau agar dan akuades. Vitamin paling penting untuk berbagai reaksi bio kimia. Zat pengatur tumbuh (ZPT)

biasanya merupakan faktor pembatas untuk keberhasilan diferensiasi pertumbuhan dari kultur sel tanaman. ZPT yang sering di gunakan dalam kultur jaringan adalah auksin dan sitokinin.

Kultur *in vitro* manggis telah banyak dilakukan. Media Murashige and Skoog (MS) (Murashige and Skoog, 1962) ditambah dengan Benzil Amino Purin (BAP) menghasilkan multiplikasi tunas terbaik (Sudarmadji, 2003). Penelitian lain menyebutkan bahwa multiplikasi tunas manggis terbaik diperoleh dari media *Woody Plant Medium* (WPM) dengan penambahan BAP sebanyak 5 mg/l (Goh, 1991).

Keterbatasan jumlah biji yang dihasilkan pada buah manggis menyebabkan terbatasnya proses perbanyakan tanaman manggis. Oleh karena itu dengan memperbanyak jumlah belahan biji, diharapkan dapat memperbanyak tunas yang terbentuk. Kultur *in vitro* manggis menggunakan eksplan biji manggis yang disubkulturkan pada media WPM dengan penambahan 2 ppm BAP dan 0.2 ppm NAA dapat menghasilkan 5.6 tunas per eksplan (Roostika *et al.*, 2005). Biji belah empat pada iles – iles yang ditanam secara kultur *in vitro* memberikan tunas terbanyak pada media MS dengan penambahan NAA 2 ppm (Wirawati *et al.*, 2006).

Dalam kultur jaringan selain menuntut keahlian khusus, nutrisi dan zat pengatur tumbuh sintetik yang digunakan membutuhkan biaya yang besar. Di tingkat laboratorium, Seswita (2010), menginformasikan bahwa aplikasi ZPT alami air kelapa dapat menghasilkan plantlet temulawak hasil perbanyakan *in vitro* yang tumbuh optimal dan tentunya dapat mengurangi mahalanya biaya operasional. Menurut Natalini dan Syahid (2012), air kelapa mengandung kinetin, zeatin, auksin, vitamin, mineral dan sumber karbon yang berguna untuk multiplikasi tunas *in vitro*. Barahima (2002), menginformasikan juga bahwa tunas ubijalar varietas lokal Irian yang terbanyak didapatkan bila diperlakukan dengan penambahan 4% air kelapa pada media MS. Sedangkan Tryptophan yang terkandung dalam ekstrak touge kacang hijau berperan penting dalam proses biosintesis IAA (Amilah, 2006). Oleh karena itu penggunaan bahan-bahan alami yang berperan sebagai nutrisi maupun zat pengatur tumbuh seperti air kelapa dan ekstrak touge dapat menjadi alternatif pengganti zat pengatur tumbuh sintetik, yang peranannya tergantung dari besaran konsentrasi yang digunakan.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Fakultas Pertanian UPN “Veteran” Yogyakarta, pada bulan April hingga Nopember 2015.

Bahan yang digunakan adalah biji buah manggis varietas Puspahiang dari Tasikmalaya, media MS, ekstrak touge kacang hijau, air kelapa, akuades, clorox, alkohol dan

bahan kimia pendukung lainnya. Peralatan yang digunakan adalah peralatan kultur jaringan serta peralatan ukur.

Percobaan dirancang secara faktorial (3x4). Faktor I. adalah perlakuan biji belah (3 taraf) yaitu B₁: utuh, B₂: belah dua, dan B₃: belah empat. Faktor II. adalah perlakuan media alami (4 taraf) yaitu M₁: MS + air kelapa 25 %, M₂: MS + air kelapa 75 %, M₃: MS + ekstrak touge kacang hijau 25 %, dan M₄: MS + ekstrak touge kacang hijau 75 %. Tiap unit percobaan disusun dalam Rancangan Acak Lengkap dengan 10 ulangan.

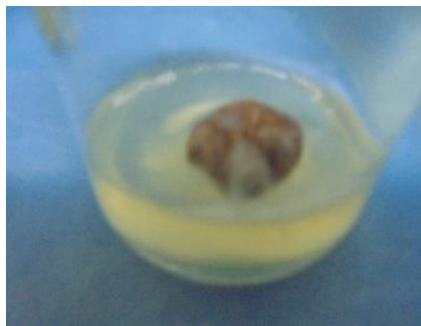
Pelaksanaan percobaan meliputi sterilisasi alat-alat gelas, logam dan bahan eksplan, pembuatan media, penanaman, penyimpanan, dan pengamatan. Data dianalisis keragamannya dan diuji lanjut dengan DMRT pada taraf 5%.

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Pengamatan selama masa inkubasi (1 BST) menunjukkan bahwa dari sepuluh botol setiap unit percobaan terdapat kontaminasi oleh bakteri. Indikasi adanya kontaminasi bakteri ditandai dengan munculnya warna putih berlendir yang awal mulanya hanya tumbuh di sekitar eksplan biji kemudian menyebar menutupi semua permukaan media seperti pada gambar 1 dan 2.



Gb.1. Saat penanaman



Gb.2. Kontaminasi bakteri pada media

Tabel 1. Rerata kecepatan media terkontaminasi bakteri (hr)

Perlakuan	Biji			Rerata
	Utuh	Belah 2	Belah 4	
MS + ekstrak taoge 25%	11f	9 e	7 cd	9
MS + ekstrak taoge 75%	8 de	9 e	6bc	7,66
MS + air kelapa 25%	6 bc	5 ab	4 a	5
MS + air kelapa 75%	4 a	4 a	5 ab	4,66
Rerata	7,25	6,75	5,5	(+)

Keterangan : Rerata yang diikuti huruf sama pada kolom atau baris menunjukkan tidak ada beda nyata pada uji DMRT taraf 5% . Tanda (+) ada interaksi.

Kecepatan media terkontaminasi oleh bakteri dipengaruhi oleh interaksi macamnya bahan alami yang ditambahkan pada media MS dan eksplan biji belah. Tabel 1, menunjukkan bahwa pada hari ke empat setelah inkubasi, perlakuan biji utuh maupun belah tiga pada media MS + air kelapa 75% sudah terkontaminasi oleh bakteri (lebih cepat). Demikian juga pada biji yang dibelah empat meskipun konsentrasi air kelapa rendah (25%). **Sementara pada media ekstrak taoge, munculnya kontaminasi bakteri lebih membutuhkan waktu yang lama kecuali pada konsentrasi tinggi (75%) yaitu pada biji yang dibelah empat. Cepatnya media air kelapa terkontaminasi bakteri, diduga karena pemilihan sumber air kelapa yang belum tepat atau terlalu tua.** Menurut Seswita (2010), air kelapa mengandung kinetin, zeatin, auksin, vitamin, mineral dan sumber karbon yang berguna untuk multiplikasi tunas *in vitro* dan pengaruhnya sangat ditentukan oleh umur buah kelapa. Kandungan kimia air kelapa muda lebih tinggi dibanding air kelapa tua. Disamping itu diduga bahwa ekplan biji belah yang digunakan kemungkinan telah terkontaminasi secara endogen dimana proses sterilisasi yang dilakukan belum cukup memusnahkan bakteri dalam bahan sehingga semakin banyak biji dibelah, semakin luas permukaan yang dapat menyentuh media. Kecepatan media terkontaminasi nampaknya juga diikuti dengan tingginya jumlah yang terkontaminasi.

Hasil analisis pada Tabel 2, menunjukkan bahwa media yang menggunakan air kelapa pada konsentrasi 75 % nyata bahwa kontaminasi yang terjadi paling tinggi dibandingkan dengan media yang lain yaitu 7,67 botol (76,7 %) (Tabel 2). Media dengan air kelapa pada konsentrasi 75 maupun 25% nyata lebih rentan terhadap terjadinya kontaminasi bakteri dibandingkan dengan media dari ekstrak taoge kacang hijau.

Tabel 2. Rerata jumlah yang terkontaminasi bakteri pada media kultur secara *in vitro* (botol).

Perlakuan	Biji			Rerata
	Utuh	Belah 2	Belah 3	
MS + ekstrak taoge 25%	4	6	5	5 c
MS + ekstrak taoge 75%	5	6	6	5,67 c
MS + air kelapa 25%	6	7	7	6,67 b
MS + air kelapa 75%	8	7	8	7,67 a
Rerata	5,75 a	6,5 a	6.5 a	(-)

Keterangan : Rerata yang diikuti huruf sama pada kolom atau baris menunjukkan tidak ada beda nyata pada uji DMRT taraf 5% . Tanda (-) tidak ada interaksi.

Tabel 2, menginformasikan bahwa penggunaan ekstrak taoge kacang hijau lebih baik dibandingkan dengan air kelapa terutama bagi perkembangan bakteri. Selain itu dalam touge kacang hijau terdapat bahan organik yang sangat lengkap diantaranya asam amino esensial yang terkandung antara lain triptofanil 35%, treonin 4,5 %, fenilalanin 7,07%, metonin

0,84%, Lisin 7,94%, leusin 12,90%, isoleusin 6,95% dan valin 6,25%. Tryptophan adalah zat organik terpenting dalam proses biosintesis IAA. Asam amino tersebut merupakan bahan dasar untuk pembentukan hormon tumbuh, sehingga konsentrasi ekstrak touge yang berbeda memberikan pengaruh yang berbeda.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan sebagai uji pendahuluan yaitu :

1. Terdapat interaksi antara perlakuan ekplan biji belah dan macam media alami terhadap kecepatan media terkontaminasi bakteri.
2. Waktu tercepat munculnya bakteri (terkontaminasi) terjadi pada kombinasi biji belah (utuh), biji belah dua dalam Media MS + air kelapa 75% dan kombinasi biji belah dalam Media MS + air kelapa 25% yaitu 4 hari setelah inkubasi.
3. Media MS + air kelapa 75% menunjukkan jumlah yang terkontaminasi nyata tertinggi yaitu 7,67 (76,7 %).

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih kepada LPPM UPN “Veteran” yang telah mendanai penelitian ini melalui program penelitian dasar.

PUSTAKA

- Amilah . 2006. Pengaruh Pemberian Air Kelapa dan Ekstrak Touge Terhadap Pertumbuhan Plantlet Pada Setek Buku Tanaman Krisan (*Dendranthema grandiflora* Tzelev Syn) Pada Media MS Secara Kultur *In Vitro*". *Jurnal Hortikultura* 14(1): 3-10.
- Barahima. 1999. Konservasi Plasma Nutfah Ubijalar asal Irian Jaya secara In vitro. *Irian jaya Agro*. Vol. VI (2) : 25-35.
- Cruz, F.S.D. 2001. *Status Report on Genetic Resources of Mangosteen (Garcinia mangostana L.) in Southeast Asia*. IPGRI, India.
- Goh, H. K. L. 1991. In vitro plantlet formation in mangosteen (*Garcinia mangostana L.*). *Annals of Botany* 62:87-93.
- Mansyah, E., A. Baihaki, R. Setiamihardja, J.S. Darsa, dan Sobir. 2003. Analisis Variabilitas Genetik Manggis di Jawa dan Sumatera Barat menggunakan Teknik RAPD. *Jurnal Zuriat*. 10 (1)1-9 UNPAD. Bandung.
- Roostika, I., Novianti, S., dan Ika, M. 2005. Mikropropagasi Tanaman Manggis (*Garcinia mangostana L.*). *J. Agro Biogen*.1(1) : 20 - 25.

- Seswita, D. 2010. Penggunaan air kelapa sebagai ZPT pada multiplikasi tunas Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* roxb.) in vitro. *Jurnal Littri* 16 (4) 135- 140.
- Sudarmadji. 2003. Penggunaan Benzil Amino Purine Pada Pertumbuhan Kalus Kapas Secara *In Vitro*. Buletin Teknik Pertanian. 8 (1) : 8 – 10
- N. K. Natalini dan S. F. Syahid. 2012. Pengaruh Air Kelapa Terhadap Multiplikasi Tunas *In vitro*, Produksi Rimpang, dan Kandungan Xanthorrhizol Temulawak di Lapangan. *Jurnal Littri* 18(3) 125-134
- Wirawati, T., T.Setyaningrum dan Sumarwoto. 2006. Pertumbuhan eksplan bulbil Iles-iles (*Amorphophallus muelleri* Blume) pada media kultur jaringan dalam berbagai konsentrasi NAA. *Jurnal Agrivet* Pertanian UPNVY Vol.10 No.2. Des. 2006
- Yusnita, 2003. Kultur Jaringan Cara Memperbanyak Tanaman Secara Efisien. Agromedia Pustaka, Jakarta.