

Inisiasi Tunas Ganda Tanaman Manggis Malinau melalui Kultur *In Vitro* untuk Perbanyak Klonal

Multiple Shoot Initiation of Malinau Mangosteen through In Vitro Culture for Clonal Propagation

Endang Gati Lestari^{1*}, M. Rahmad Suhartanto², Ani Kurniawati², dan Suci Rahayu¹

¹Balai Besar Bioteknologi dan Sumberdaya Genetika Pertanian

Jl. Tentara Pelajar No. 3A Bogor, Indonesia

²Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor
(Bogor Agricultural University), Jl. Meranti, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680, Indonesia

Diterima 24 September 2012/Disetujui 13 Februari 2013

ABSTRACT

Mangosteen (Garcinia mangostana L.) is one of the most promising tropical fruits for export. The major constraint to increase fruit production of the species is the long juvenile period. Seedless, sweet and juicy variety of mangosteen had been found in Malinau. In vitro propagation technique offers possibility to produce sufficient number of seedlings any time. This research was aimed at obtaining the appropriate media formula to enhance shoot proliferation. This research consisted of shoot induction and multiplication and shoot elongation. The materials were the fresh mangosteen seeds from the Malinau mangosteen trees. The explant used in the trial was seeds which were divided into four slices. The use of 8 to 16 mg BA L⁻¹ combined with 0.2 mg thidiazuron L⁻¹ resulted in the best shoot induction of 52 shoot buds per explant at the 6th week after planting with the mean height of 0.3 cm. Upon subculturing in to the similar media, the number of shoot tends to increase. For multiplication, low concentration of BA (2 to 4 mg L⁻¹) and thidiazuron 0.05 mg L⁻¹ were applied to increase the numbers of shoots. The total shoot number obtained in the media with 0.05 thidiazuron without BA was 11.25 and in the media with 2 mg BA L⁻¹ + 0.05 mg thidiazuron L⁻¹ was 8.7 shoot explant⁻¹. The result showed that the best media for shoot elongation was MS + 1 mg BA L⁻¹ + 2 mg kinetin L⁻¹. The length of the shoots were in the range of 0.5-0.8 cm.

Keywords: BA, *Garcinia mangostana*, in vitro culture, shoot multiplication, thidiazuron

ABSTRAK

Tanaman manggis (*Garcinia mangostana L.*) merupakan salah satu komoditas ekspor yang paling menjanjikan. Masalah pengembangan tanaman ini adalah tanaman memiliki masa juvenil yang lama. Manggis tanpa biji dengan rasa manis dan juicy telah ditemukan di Malinau. Teknik perbanyak in vitro memungkinkan diperolehnya bibit dalam jumlah banyak sepanjang musim. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan formula media yang tepat untuk meningkatkan proliferasi tunas. Penelitian terdiri atas induksi tunas dan multiplikasi serta pemanjangan tunas. Materi yang digunakan sebagai eksplan adalah bibit manggis segar berasal dari daerah Malinau. Eksplan yang digunakan berupa biji yang telah dibagi menjadi empat bagian. Hasil penelitian menunjukkan bahwa 8 sampai 16 mg BA L⁻¹ dikombinasikan dengan 0.2 mg thidiazuron L⁻¹ memberikan pengaruh terbaik untuk induksi tunas, yaitu pada minggu ke 6 setelah tanam dapat diperoleh 52 tunas eksplan⁻¹ dengan rata-rata tinggi tunas 0.3 cm. Setelah dilakukan subkultur ke dalam media yang sama, jumlah tunas cenderung meningkat. Multiplikasi tunas, penggunaan konsentrasi BA (2-4 mg L⁻¹) dan 0.05 mg thidiazuron L⁻¹ terbukti efektif dalam memacu pembentukan tunas. Jumlah tunas per eksplan yang diperoleh pada media dengan pemberian 0.05 thidiazuron tanpa BA adalah 11.25 dan di media dengan 2 mg BA L⁻¹ + 0.05 mg thidiazuron L⁻¹ adalah 8.7 tunas eksplan⁻¹. Media terbaik untuk perpanjangan tunas adalah MS + 1 mg BA L⁻¹ + 2 kinetin L⁻¹, dan panjang tunas yang diperoleh berkisar antara 0.5-0.8 cm.

Kata kunci: BA, *Garcinia mangostana*, kultur in vitro, multiplikasi tunas, thidiazuron

PENDAHULUAN

Manggis (*Garcinia mangostana L.*) merupakan tanaman tropis yang mempunyai prospek cerah sebagai komoditas ekspor. Tanaman ini termasuk Familia Guttiferae

dan Genus *Garcinia*. Tanaman manggis semula berasal dari Malaysia kemudian dikembangkan di berbagai negara seperti Indonesia, Srilanka dan Filipina. Ekspor manggis dari tahun ke tahun terus meningkat, tahun 1999 volume ekspor tercatat 4,743 ton dengan nilai US\$ 3,887,816 dan pada tahun 2008 meningkat menjadi 9,465 ton dengan nilai US\$ 5,832,534 atau sekitar 44% dari total ekspor buah-buahan di Indonesia (BPS, 2009).

* Penulis untuk korespondensi. e-mail: lestarigati@gmail.com

Tanaman manggis di sentra produksi tidak tumbuh berkelompok secara monokultur tetapi bercampur dengan pohon-pohon lain dan umumnya umurnya sudah tua. Peremajaan belum banyak dilakukan karena lambatnya pertumbuhan dan lamanya tanaman mulai berbuah. Perbanyak tanaman melalui biji banyak menghadapi kendala antara lain biji hanya tersedia pada musim tertentu ketika musim berbuah (1-2 kali setahun), masing-masing buah hanya menghasilkan 1-2 biji yang berukuran besar dan layak untuk dijadikan benih. Biji manggis bersifat rekalsitran sehingga biji tidak dapat disimpan lama dan perbanyak tidak dapat dilakukan sepanjang tahun. Kendala lain adalah perbanyak tanaman manggis secara vegetatif masih belum berhasil dengan baik karena tanaman yang diperbanyak secara vegetatif mempunyai ukuran bervariasi, lemah, tumbuh sangat lambat, serta tidak mampu mempercepat waktu pembungaan (Cruz, 2001).

Rata-rata tinggi tanaman mencapai 15 m dan memiliki bunga betina dengan benang sari yang tidak berkembang sehingga menghasilkan buah partenokarpi dengan biji yang dihasilkan bukan berasal dari persatuan gamet jantan dan gamet betina tetapi berasal dari jaringan nuselus. Terbentuknya biji dengan cara tersebut disebut biji apomiksis, yaitu terjadi tanpa adanya pembuahan dan biji yang terbentuk berasal dari induksi zat-zat endogen di dalam tumbuhan. Dengan demikian maka biji yang dihasilkan bersifat vegetatif sehingga secara genetik mempunyai sifat sama dengan induknya.

Terdapat tanaman manggis di daerah Malinau kota Tarakan Kalimantan Timur yang bijinya sedikit, rasa buahnya manis, segar dan sedikit asam. Pengembangan buah manggis tanpa biji tentunya sangat menguntungkan karena kandungan daging buahnya lebih banyak. Buah manggis asal Malinau tersebut memiliki ciri-ciri sebagai berikut: bentuk buah agak lonjong, mirip buah manggis Rejang Lebong yang bentuknya seperti gentong. Perbedaannya, manggis Malinau sedikit melengkung sehingga membentuk lekukan di satu sisi. Satu buah terdiri atas 5-7 septa tergantung ukuran, dan kulit buah tergolong tebal yakni 0.5-1 cm.

Perbanyak manggis dengan cara *in vitro* diharapkan dapat menyediakan bibit manggis dalam jumlah banyak dan seragam, sepanjang tahun. Penelitian di Malaysia menunjukkan bahwa media dasar MS ditambah BA (*Benzyladenine*) memberikan pengaruh lebih baik dalam memacu multiplikasi tunas. Demikian pula pada penelitian Roostika *et al.* (2005), media MS + BA 5 mg L⁻¹ dapat menginduksi tunas hingga 100%, media untuk multiplikasi terbaik adalah media MS + 3 mg L⁻¹ BA.

Zat pengatur tumbuh dalam golongan sitokinin seperti BA, zeatin dan kinetin berperan penting dalam memacu proses pembelahan sel, khususnya di dalam proses regenerasi tunas, menstimulasi pertumbuhan tunas lateral dan menghasilkan tunas ganda (Lestari, 2011). Aktivitas zat pengatur tumbuh di dalam pertumbuhan tergantung dari jenis, struktur kimia, konsentrasi, genotipe tanaman serta fase fisiologi tanaman (Satyavathi *et al.*, 2004). Selain zat pengatur tumbuh BA, sering pula digunakan thidiazuron untuk memacu induksi tunas. Thidiazuron (*N-phenyl-N'-1,2,3-thiadiazol-5-ylurea*) atau sering disingkat

TDZ merupakan senyawa organik yang banyak digunakan dalam perbanyak *in vitro* karena aktivitasnya menyerupai sitokinin. Thidiazuron dapat diberikan bersama-sama dengan zat pengatur tumbuh lain seperti sitokinin atau auksin, tetapi dapat pula sendiri, namun pada perlakuan bersama-sama dengan zat pengatur tumbuh lain lebih baik hasilnya (Hutchinson *et al.*, 2010).

Thidiazuron berpotensi memacu regenerasi tunas pada *Solanum tuberosum* secara *in vitro*, dan memacu pembentukan tunas adventif pada beberapa jenis tumbuhan (Sajid dan Aftab 2009) karena dapat menginduksi proses pembelahan sel secara cepat pada kumpulan sel yang bersifat meristematik sehingga terbentuk primordia tunas.

Thidiazuron dapat meningkatkan kemampuan multiplikasi tunas pada beberapa tanaman berkayu apabila dikombinasikan dengan sitokinin lainnya seperti BA atau kinetin (Ganeshan *et al.*, 2003). Thidiazuron lebih aktif dari pada BAP dalam kasus-kasus tertentu, namun kombinasi antara BAP dan thidiazuron paling banyak digunakan terutama pada tanaman berkayu. Sajid dan Aftab (2009) menyatakan bahwa thidiazuron dapat menginduksi pembentukan tunas adventif dan proliferasi tunas aksilar dan mempunyai aktivitas lebih tinggi dibandingkan zeatin apabila diberikan dalam konsentrasi rendah. Diduga thidiazuron mendorong terjadinya perubahan ribonukleotida menjadi ribonukleosida pada prekursor sitokinin yang secara biologis lebih aktif.

Senyawa lain yang dapat digunakan untuk meningkatkan proliferasi tunas adalah adenine sulfat. Nandagopal dan Ranjithakumari (2006) mendapatkan terjadinya peningkatan pembentukan tunas dari kalus *Cichorium intybus* L. cv. Focus dengan menggunakan adenine sulfat. Penggunaan kombinasi dua jenis zat pengatur tumbuh dalam satu media sering digunakan baik untuk induksi tunas maupun untuk pemanjangan tunas. Telah dihasilkan formulasi media terbaik untuk induksi tunas adventif pada tanaman jarak pagar menggunakan kombinasi BAP 2.0 mg L⁻¹ dan IAA 0.5 mg L⁻¹ (Rajore dan Batra, 2005). Percobaan ini menunjukkan untuk pemanjangan tunas digunakan kombinasi BA dengan kinetin karena diharapkan ada sinergisme sehingga aktivitas pemanjangan sel lebih aktif.

Dalam perbanyak melalui kultur jaringan sering dijumpai adanya tanggap yang berbeda terhadap formulasi media walaupun berasal dari media yang sama. Kondisi fisiologis pohon induk yang berasal dari lingkungan yang berbeda memberikan hasil yang berbeda pula. Dengan demikian, perlu dikaji prosedur perbanyak manggis asal Malinau yang sangat potensial untuk dikembangkan di masa datang. Tujuan penelitian adalah untuk mendapatkan komposisi media terbaik untuk induksi dan multiplikasi tunas serta untuk pemanjangan tunas manggis.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di Balai Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Bogor dari bulan Januari sampai dengan November 2010. Penelitian terdiri atas induksi tunas, multiplikasi tunas dan pemanjangan tunas.

Bahan tanaman yang digunakan adalah biji dari buah yang masak. Buah yang sudah masak diambil dari pohon kemudian diambil bijinya dengan cara dibersihkan daging buahnya, dan selanjutnya disterilisasi di dalam laminar *air flow* berturut turut menggunakan alkohol 70% (v/v) selama 5 menit, NaOCl 1.05% (v/v) selama 20 menit dan NaOCl 0.525% (v/v) selama 10 menit. Selanjutnya dicuci menggunakan aquades steril tiga kali.

Induksi Tunas

Biji yang telah disterilisasi dipotong menjadi empat keping kemudian ditanam pada media induksi tunas yaitu: (1) media dasar MS + BA (0, 8, 16 mg L⁻¹) + TDZ (0 dan 0.2 mg L⁻¹) + sukrosa 30 g L⁻¹, (2) media dasar MS + BA (0, 8, 16 mg L⁻¹) + adenin sulfat 100 mg L⁻¹ + sukrosa 30 mg L⁻¹. Masing-masing botol berisi 25 mL media. Rancangan percobaan adalah acak lengkap, terdiri atas sembilan kombinasi perlakuan dan masing-masing perlakuan terdiri atas 10 botol. Dengan demikian, terdapat 90 unit pengamatan. Botol yang sudah ditanami eksplan selanjutnya diletakkan di dalam ruang kultur dengan penyinaran menggunakan lampu TL 1,500 luks selama 16 jam dalam sehari.

Peubah yang diamati adalah jumlah bakal tunas dari setiap keping biji, dilakukan setiap dua minggu. Bakal tunas yang dihasilkan disub-kultur pada minggu ke-4 setelah tanam ke media yang komposisinya sama dengan perlakuan semula untuk induksi tunas, sub kultur ke dalam media yang sama dilakukan setiap 4 minggu sebanyak dua kali, tunas yang dihasilkan selanjutnya dipindah ke media untuk multiplikasi tunas.

Multiplikasi Tunas

Media untuk multiplikasi tunas adalah media dasar MS + BA (0, 2 dan 4 mg L⁻¹) + TDZ (0 dan 0.5 mg L⁻¹) + sukrosa 30 g L⁻¹, masing-masing botol kultur diisi 25 mL media. Eksplan yang digunakan adalah keping biji dari percobaan pertama yang menghasilkan tunas. Masing-masing keping biji yang bertunas tersebut dipotong menjadi dua bagian kemudian ditanam pada media perlakuan. Rancangan percobaan adalah acak lengkap, terdiri atas enam kombinasi perlakuan dan masing-masing perlakuan terdiri atas 10 botol, dengan demikian terdapat 60 unit pengamatan. Masing-masing botol terdiri atas dua eksplan. Botol yang sudah ditanami eksplan di letakkan di dalam ruang kultur dengan penyinaran lampu TL 1,500 luks selama 16 jam dalam sehari. Peubah yang diamati adalah jumlah dan tinggi tunas. Pengamatan dilakukan dua minggu sekali, sub kultur ke media yang sama dilakukan setiap 4 minggu, sebanyak dua kali.

Pemanjangan Tunas

Laju pemanjangan tunas sangat lambat, sehingga dilakukan sub kultur ke media pemanjangan tunas yaitu media dasar MS + 1 mg BA L⁻¹ + kinetin (0.5; 1; 2 mg L⁻¹).

Rancangan percobaan adalah acak lengkap, terdiri atas tiga kombinasi perlakuan dan masing-masing perlakuan terdiri atas 10 botol, dengan demikian terdapat 30 unit pengamatan, dan masing-masing botol ditanam dua eksplan. Peubah yang diamati adalah panjang tunas dan penampilan visual tunas.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Induksi Tunas

Eksplan berupa keping biji manggis memberikan respon yang baik pada media induksi tunas dengan penambahan BA dan thidiazuron. Saat minggu pertama setelah tanam sudah terbentuk bakal tunas berupa bulatan-bulatan berwarna hijau (Gambar 1). Penggunaan BA dengan konsentrasi 8-16 mg L⁻¹ dapat memacu induksi tunas. Tonjolan-tonjolan bakal tunas yang dihasilkan berasal dari bekas irisan, kemudian membengkak dan membentuk bulatan-bulatan.

Hasil percobaan menunjukkan bahwa penggunaan zat pengatur tumbuh BA konsentrasi tinggi yaitu 8-16 mg L⁻¹ dengan atau tanpa adenine sulfat atau TDZ secara umum menghasilkan jumlah tunas yang banyak yaitu 9.6-25.3 tunas eksplan⁻¹. Hasil ini lebih baik dari pada hasil penelitian sebelumnya yang menggunakan konsentrasi sitokinin lebih rendah (Roostika *et al.*, 2005) yaitu BA 5 mg L⁻¹ dan menghasilkan hanya 2.7 bakal tunas eksplan⁻¹. Percobaan ini menunjukkan rata-rata bakal tunas yang dihasilkan pada media dengan penambahan 8 mg L⁻¹ BA + TDZ 0.2 mg L⁻¹ sebanyak 28.7 dan meningkat menjadi 52 pada media dengan penambahan BA 16 mg L⁻¹ (Tabel 1). Hasil penelitian Rahayu (2007) menunjukkan bahwa tunas yang dihasilkan melalui jalur organogenesis langsung dan tidak langsung memiliki jumlah tunas yang banyak yaitu 7 tunas eksplan⁻¹ pada media dengan BA 16 mg L⁻¹ dan 6.3 tunas eksplan⁻¹ pada media BA 8 mg L⁻¹.

BA merupakan zat pengatur tumbuh dalam golongan sitokinin yang mempunyai aktivitas lebih kuat dibandingkan kinetin. Pada percobaan perbanyak tanaman jarak pagar



Gambar 1. Pembentukan nodul bakal tunas pada minggu ke-4 setelah tanam

yang dilakukan oleh Lizawati *et al.* (2009) diperoleh tunas dari eksplan biji maupun mata tunas menggunakan media dasar WPM yang ditambahkan BA 2 mg L⁻¹.

Eksplan yang ditanam pada media tanpa BA tidak menghasilkan tunas tetapi hanya membengkak dan menghasilkan kalus, demikian pula penambahan adenin sulfat tidak memberikan respon yang lebih baik, pada media tersebut umumnya eksplan hanya membengkak (Tabel 1). Penambahan adenin sulfat 100 mg L⁻¹ pada media yang sudah mengandung BA 8 mg L⁻¹ hanya menghasilkan bakal tunas 3.2 buah eksplan⁻¹, sebaliknya pada penambahan adenin sulfat pada media yang mengandung 16 mg L⁻¹ BA tidak menghasilkan tunas. Hasil yang sama diperoleh pada penelitian Rahayu (2007) bahwa penambahan adenin sulfat ke dalam media yang sudah mengandung BA tidak meningkatkan kemampuan proliferasi tunas. Bakal tunas yang dihasilkan dari setiap keping biji pada media yang mengandung BA 8 mg L⁻¹ sebanyak 28.7 buah, setelah ditambahkan TDZ jumlah bakal tunas meningkat menjadi 30.2 buah eksplan⁻¹. Demikian pula pada media yang mengandung BA 16 mg L⁻¹ bakal tunas yang dihasilkan dari setiap keping biji adalah sebanyak 23.0 buah dan meningkat menjadi 52.0 buah eksplan⁻¹ jika ke dalam media ditambah TDZ (Tabel 1).

Dengan demikian penggunaan zat pengatur tumbuh BA ditambah dengan TDZ merupakan perlakuan yang terbaik untuk menginduksi pembentukan tunas, dibandingkan penambahan adenin sulfat atau perlakuan tunggalnya. Hasil yang optimal dalam penggandaan tunas dapat diperoleh menggunakan media dasar dan zat pengatur tumbuh yang tepat. Kombinasi media dasar dan zat pengatur tumbuh yang tepat akan meningkatkan aktivitas pembelahan sel dalam proses morfogenesis dan organogenesis sehingga dapat diperoleh biakan dalam jumlah banyak (Lestari, 2011).

Penggunaan TDZ untuk meningkatkan kemampuan proliferasi tunas dihasilkan antara lain pada tanaman *Hordeum vulgare* (Ganeshan *et al.*, 2003), *Oryza sativa*

(Gairi dan Rashid, 2004) dan tanaman sukun (Supriati *et al.*, 2006). Contoh lain tanaman yang memberikan respon lebih baik bila ditumbuhkan pada media dengan penambahan TDZ antara lain pada tanaman kencur (Lestari dan Hutami 2005), TDZ 0.1 mg L⁻¹ yang ditambahkan pada media MS + BA 5 mg L⁻¹, mampu meningkatkan kemampuan multiplikasi tunas, demikian pula pada tanaman pisang dan pembentukan tunas adventif tanaman *Hyosyamus niger* (Uranbey, 2005). Tidak semua tanaman memberikan respon proliferasi tunas optimal dengan adanya TDZ contohnya pada tanaman belimbing varietas Dewi tidak diperoleh adanya peningkatan jumlah tunas, TDZ yang ditambahkan cenderung meningkatkan tinggi tunas dan jumlah daun. Komposisi media terbaik untuk multiplikasi tunas pada belimbing varietas Dewi adalah media MS + 2 mg L⁻¹ zeatin + 0.5 mg L⁻¹ IAA (Supriati *et al.*, 2006).

Bakal tunas yang telah dihasilkan pada media induksi tunas tersebut diharapkan tumbuh memanjang, namun laju pemanjangan tunas sangat lambat. Oleh karena itu, dilakukan sub kultur pada media dengan formulasi yang sama untuk induksi tunas. Pertumbuhan tunas setelah dilakukan sub kultur menunjukkan respon yang lebih baik, eksplan yang semula berupa kalus pada media dengan penambahan adenin sulfat sudah berproliferasi menghasilkan tunas, demikian pula pada media MS 0 (tanpa penambahan zat pengatur tumbuh), kemungkinan ada adaptasi atau peningkatan kandungan sitokinin endogen di dalam jaringan.

Pertumbuhan tunas hasil sub kultur dapat dilihat pada Tabel 2, pada minggu ke-8 setelah sub kultur menunjukkan adanya peningkatan proliferasi tunas. Penggunaan BA 8 mg L⁻¹ menghasilkan tunas sebanyak 9.6 buah eksplan⁻¹, dengan penambahan adenin sulfat 100 mg L⁻¹ maka tunas yang dihasilkan meningkat menjadi 11.6. Penambahan TDZ 0.2 mg L⁻¹ pada media yang sudah mengandung 8 dan 16 mg L⁻¹ BA meningkatkan rata-rata jumlah tunas dari 9.6 menjadi 13 dan dari 18.3 menjadi 25.3 tunas eksplan⁻¹ (Tabel 2). pertumbuhan tinggi tunas pada formulasi media tersebut

Tabel 1. Pembentukan tunas dari eksplan biji pada minggu ke-6 setelah tanam

Konsentrasi ZPT dalam media (mg L ⁻¹)	Jumlah tunas per eksplan	Panjang tunas (cm)
Benzyl adenine 0	0.0d	0.0c
(+) TDZ 0.2	0.0d	0.0c
(+) Ads. 100	0.0d	0.0c
Benzyl adenine 8	28.7bc	0.83a
(+) TDZ 0.2	30.2b	0.15b
(+) Ads. 100	3.2d	0.07bc
Benzyl adenine 16	23.0c	0.30ab
(+) TDZ 0.2	52.0a	0.37ab
(+) Ads. 100	0.0d	0.0c

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom dan perlakuan yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT pada taraf $\alpha = 5\%$; TDZ = thidiazuron; Ads = Adenin Sulfat

Tabel 2. Pembentukan tunas setelah subkultur pada media yang sama, minggu ke-8 setelah tanam

Konsentrasi ZPT dalam media (mg L ⁻¹)	Jumlah tunas per eksplan	Panjang tunas (cm)
Benzyl adenine 0	4.0e	0.1ef
(+) TDZ 0.2	2.3f	0.1ef
(+) Ads. 100	0.0g	0.0f
Benzyl adenine 8	9.6d	0.1ef
(+) TDZ 0.2	13.0c	0.3cde
(+) Ads. 100	11.6c	0.4abc
Benzyl adenine 16	18.3b	0.5abc
(+) TDZ 0.2	25.3a	0.36bcde
(+) Ads. 100	12.3c	0.16def

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom dan perlakuan yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT pada taraf $\alpha = 5\%$; TDZ = thidiazuron; Ads = Adenin Sulfat

masih lambat, rataan tinggi tunas yang dihasilkan sampai minggu ke-8 setelah tanam berkisar antara 0.1-0.5 cm.

Multiplikasi Tunas

Tunas di dalam media sampai 12 minggu, yang mengandung TDZ dan BA konsentrasi tinggi tersebut, menjadi coklat dan mati karena diduga sudah makin berkurangnya nutrisi yang dibutuhkan organ atau adanya akumulasi etilen dalam botol kultur. Untuk menghindari kematian tunas maka dilakukan sub kultur pada media yang kandungan BA-nya setengah dan seperempatnya dari konsentrasi sebelumnya. Pengamatan terhadap banyaknya tunas yang dihasilkan menunjukkan bahwa jumlah tunas tertinggi dihasilkan pada perlakuan TDZ 0.05 mg L⁻¹ tanpa BA yaitu 11.25 buah eksplan⁻¹ (Tabel 3). Pembentukan tunas pada media dengan penambahan TDZ walaupun tanpa sitokinin BA tersebut dapat terjadi karena adanya kandungan sitokinin endogen sudah cukup memenuhi bagi proses multiplikasi tunas, kandungan auksin endogen yang tinggi dapat terjadi karena pada media awal diberikan BA konsentrasi tinggi.

Gambar 2 menunjukkan respon pembentukan tunas pada berbagai media multiplikasi tunas. Gambar 2C dan 2D menunjukkan tunas yang tingginya mencapai 1.5 cm. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa konsentrasi BA

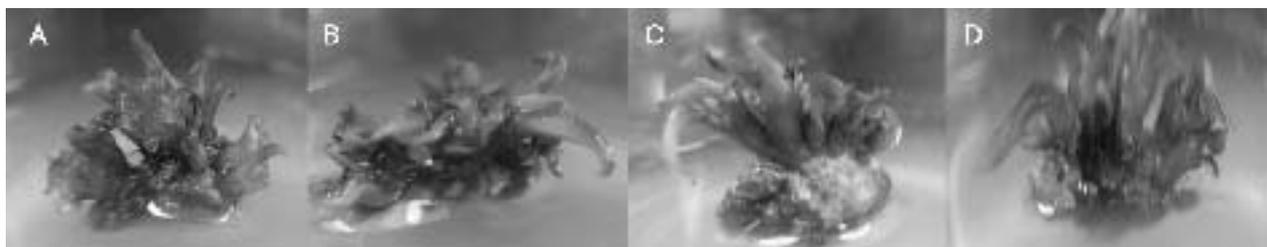
yang tinggi diperlukan untuk menginduksi pembentukan tunas awal, sedangkan untuk memacu multiplikasi tunas sebaiknya digunakan sitokinin lebih rendah menjadi setengah atau seperempat dari konsentrasi semula.

Konsentrasi BA dan TDZ yang lebih rendah pada media tersebut menghasilkan tunas yang lebih tinggi dibandingkan pada media dengan konsentrasi tinggi. Jumlah tunas per eksplan dan tinggi tunas pada sub kultur ke-3 dan ke-4 tidak dipengaruhi oleh komposisi media (Tabel 4).

Tabel 3. Jumlah dan tinggi tunas manggis pada media multiplikasi tunas, minggu ke-8 setelah tanam

Konsentrasi ZPT dalam media (mg L ⁻¹)	Jumlah tunas per eksplan	Panjang tunas (cm)
BA 0	1.25c	0.30c
TDZ 0.05	11.25a	0.70ab
BA 2	9.7b	0.51bc
BA 2 + TDZ 0.05	8.7b	0.70ab
BA 4	8.25b	0.85a
BA 4 + TDZ 0.05	9.8b	0.61ab

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT pada taraf $\alpha = 5\%$



Gambar 2. Pembentukan tunas pada media multiplikasi BA 0 + TDZ 0.05 mg L⁻¹ (A); BA 2 mg L⁻¹ (B); BA 2 mg L⁻¹ + TDZ 0.05 mg L⁻¹ (C) dan BA 4 + TDZ 0.05 mg L⁻¹ (D)



Gambar 3. Tunas memanjang dan multipel pada media pemanjangan yaitu MS + BA 1 mg L⁻¹ + kinetin 0.5 mg L⁻¹ (A); BA 1 mg L⁻¹ + kinetin 2 mg L⁻¹ (B)

Pemanjangan Tunas

Laju pemanjangan tunas sangat lambat, sampai minggu ke-4 setelah sub kultur menunjukkan tidak ada pemanjangan. Lambatnya laju pemanjangan tunas juga terjadi pada penelitian Roostika *et al.* (2005), bahwa pada

bulan ke-3 setelah tanam hanya diperoleh penambahan tinggi kultur sebesar 0.2 cm pada media MS + BA 1-5 mg L⁻¹ dan penambahan daun hanya 1.1-1.4 helai. Tabel 5 menunjukkan bahwa kisaran tinggi tunas pada minggu ke-6 setelah sub kultur hampir sama dengan hasil Roostika *et al.* (2005) yaitu 0.3-0.9 cm.

Tabel 4. Pertumbuhan tunas setelah subkultur ke- 2 pada media multiplikasi tunas, minggu ke- 6

Konsentrasi ZPT dalam media (mg L ⁻¹)	Jumlah tunas per eksplan		Tinggi tunas (cm)	
	Sub kultur ke-3	Sub kultur ke-4	Sub kultur ke-3	Sub kultur ke-4
BA 0	3.0	3.0	0.6	0.60
TDZ 0.05	12.9	13.6	0.8	0.50
BA 2	9.1	7.1	0.5	0.60
BA 2 + TDZ 0.05	8.4	10.8	0.7	0.73
BA 4	8.5	7.4	0.5	0.78
BA 4 + TDZ 0.05	9.5	8.6	0.5	0.65

Tabel 5. Pertumbuhan tunas pada media untuk pemanjangan, minggu ke-6 setelah tanam

Konsentrasi ZPT dalam media (mg L ⁻¹)	Jumlah tunas	Kisaran tinggi tunas (cm)
BA 0	4.6 ± 2.6	0.2-0.8
BA 1 + kinetin 0.5	2.9 ± 2.8	0.3-0.9
BA 1 + kinetin 1	3.1 ± 1.7	0.3-0.8
BA 1 + kinetin 2	4.2 ± 2.4	0.5-0.8

KESIMPULAN

Pembentukan tunas awal memerlukan zat pengatur tumbuh BA konsentrasi tinggi, yaitu 8-16 mg L⁻¹, sedangkan untuk memacu multiplikasi tunas lebih baik menggunakan sitokinin BA lebih rendah menjadi setengah atau seperempat dari konsentrasi semula, yaitu 2-4 mg L⁻¹. Komposisi media untuk pemanjangan tunas adalah media MS + BA 1 + kinetin 2 mg L⁻¹ menghasilkan rata-rata tinggi tunas 0.5-0.8 cm.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan pada Badan Litbang Pertanian dalam Program KKP3T dan Institut Pertanian Bogor atas dana dan kerjasamanya sehingga penelitian ini dapat dilaksanakan.

DAFTAR PUSTAKA

[BPS] Badan Pusat Statistik. 2009. Statistik Indonesia. Badan Pusat Statistik, Jakarta.

Cruz, F.S.D. 2001. Status Report on Genetic Resources of Mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) in Southeast Asia. IPGRI, India.

Gairi, A., A. Rashid. 2004. TDZ induced somatic embryogenic in non-responsive caryopsis of rice using shoot treatment with 2, 4-D. *Plant Cell. Tiss. Org. Cult.* 76:29-33.

Ganeshan, S., B, Monica, L.H. Brian, J.S. Graham, N.C. Ravindra. 2003. Production of multiple shoots from thidiazuron treated mature embryos and leaf-base/apical meristem of barley (*Hordeum vulgare*). *Plant Cell. Tiss. Org. Cult.* 73:57-64.

Hutchinson, M.J., R. Onanu, L. Kipkosgei S.D. Obukosia. 2010. Effect of thidiazuron, NAA and BAP on *in vitro* propagation of *Alstromeria aurantiaca* CV. "ROSITA" from shoot tip explants. *JAGST* 12:60-69.

Lestari, E.G., S. Hutami. 2005. Produksi bibit kencur melalui kultur jaringan. *Berita Biologi* 7:315-322.

Lestari, E.G. 2011. Peranan zat pengatur tumbuh dalam perbanyak tanaman melalui kultur jaringan. *J. AgroBiogen* 7:63-68.

Lizawati, T. Novita, R. Purnamaningsih. 2009. Induksi dan multiplikasi tunas jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) secara *in vitro*. *J. Agron. Indonesia* 37:78-85.

Nandagopal, S., B.D. Ranjithakumari. 2006. Adenine sulphate induced high frequency shoot organogenesis in callus and *in vitro* flowering of *Cichoriumintybus* L. cv. Focus - a potent medicinal plant. *Acta Agric. Slov.* 87:415-425.

Rahayu, S. 2007. Micropropagation of mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) by direct and indirect organogenesis. Thesis. Universiti Putra Malaysia. Kuala Lumpur.

- Rajore, S., A. Batra. 2005. Efficient plant regeneration via shoot tip explant in *Jatropha curcas* L. J. Plant Biochem. Biotechnol. 14:73-75.
- Roostika, I., N. Sunarlim, I. Mariska. 2005. Mikropropagasi tanaman manggis (*Garcinia mangostana*). J. Agrobiogen 1:20-25.
- Sajid, Z.A., F. Aftab. 2009. Effect of thidiazuron (TDZ) on *in vitro* micropropagation of *Solanum tuberosum* L. CVS, desire and cardinal. Pak. J. Bot. 41:1811-1815.
- Supriati, Y., I. Mariska, S. Hutami. 2006. Mikropropagasi sukun (*Artocarpus communis* Forst) tanaman sumber karbohidrat alternatif. Berita Biologi 7:207-214.
- Supriati, Y., I. Mariska, Mujiman. 2006. Multiplikasi tunas belimbing dewi (*Averhoa carambola*) melalui kultur *in vitro*. Bul. Plasma Nutfah12:50-55.
- Satyavathi, V.V., P.P. Jauhar, E.M. Elias, M.B. Rao. 2004. Genomics, molecular genetic and biotechnology effects of growth regulators on *In vitro* plant regeneration. Crop Sci. 44:1839-1846.
- Uranbey, S. 2005. Thidiazuron induced adventitious shoot regeneration in *Hyosyamus niger*. Biol. Plantarum 49:427-430.