



EMBRIOGENESIS SOMATIK DARI KALUS MANGGIS (*Garcinia mangostana* L.) ASAL BENGKALIS DENGAN PEMBERIAN BAP DAN MADU SECARA *IN VITRO*

SOMATIC EMBRIOGENESIS OF CALLUS MANGOSTEN (*Garcinia mangostana* L.) FROM BENGKALIS WITH THE ADDITION OF BAP AND HONEY IN VITRO

Tirtha Juliana, Mayta Novaliza Isda*, Dyah Iriani

Jurusan Biologi Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Riau,
Kampus Binawidya Pekanbaru, Riau, Indonesia

*Corresponding author: maytaisda@yahoo.com

Naskah Diterima: 12 Juli 2017; Direvisi: 09 November 2017; Disetujui: 11 November 2017

Abstrak

Garcinia mangostana L. dikenal dengan sebutan *queen of the tropical fruits*. Buah manggis terbentuk secara apomiksis yang bersifat rekalsitran. Salah satu cara perbanyak tanaman manggis adalah dengan teknik kultur *in vitro* melalui embriogenesis somatik. Embriogenesis somatik manggis dilakukan dengan pembentukan kalus terlebih dahulu. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan konsentrasi terbaik BAP dan madu secara tunggal serta kombinasinya dalam pembentukan embriogenesis somatik pada kalus biji manggis asal Bengkalis. Penelitian ini menggunakan rancangan acak kelompok (RAK) dengan pemberian konsentrasi BAP (3 dan 7 mg/L) dan madu (3, 6, dan 9 mL/L), secara baik tunggal maupun kombinasi, pada media *Murashige-Skoog* (MS) dengan 3 ulangan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian BAP dan madu dalam seluruh perlakuan tersebut berpengaruh terhadap pembentukan fase-fase embriogenesis somatik kalus manggis. Konsentrasi terbaik dalam pembentukan fase embriogenesis somatik diperoleh dari perlakuan 3 mg/L BAP + 9 mL/L madu dengan presentase pembentukan kalus 100%, waktu muncul kalus 10,67 hst, volume kalus 1,33 dan adanya fase embriogenesis somatik berupa globular, hati, dan torpedo.

Kata kunci: Embriogenesis somatik; *Garcinia mangostana* L.; Globular; Hati; Kalus; Torpedo

Abstract

Garcinia mangostana L. was known as the *queen of the tropical fruits*. Mangosteen was formed by apomixis which is recalcitrant. One of the methods of mangosteen propagation is by using a tissue culture technique through somatic embryogenesis. Mangosteen somatic embryogenesis occurs preceded by callus formation. This study aimed to determine the best concentration of BAP and honey in single as well as in combination for the formation phase of somatic embryogenesis in the callus of mangosteen from Bengkalis. The study used a randomized block design with the addition of BAP (3 and 7 mg/L) and honey (3; 6; and 9 mL/L) either single or combination in *Murashige-Skoog* (MS) medium with 3 replications. The results of this study indicated that the addition of BAP and honey in all treatments affected the phases of somatic embryogenesis of mangosteen callus. The best concentration in the formation of somatic embryogenesis was obtained from, the treatment of 3 mg/L BAP + 9 mL/L which produced 100% of callus formation, with callus emergence time of 10.67 days after plantation, callus volume of 1.33 and the presence of somatic embryogenesis in the form of globular, heart, and torpedo.

Keywords: Callus; *Garcinia mangostana* L.; Globular; Heart; Somatic embryogenesis; Torpedo

Permalink/DOI: <http://dx.doi.org/10.15408/kauniyah.v12i1.5667>

PENDAHULUAN

Buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) termasuk ke dalam famili Guttiferae. Manggis dikenal sebagai *queen of the tropical fruits* (Nugroho, 2013). Periode 2011–2015 produksi buah manggis di Provinsi Riau cukup tinggi, yaitu mencapai 76,99% dan layak untuk diekspor ke luar negeri (Badan Pusat Statistik, 2015). Manggis asal Bengkalis memiliki musim buah yang unik dan dipengaruhi oleh iklim yang ada, karena musim buah manggis asal Bengkalis tidak serentak dengan daerah lain. Masa panen terjadi pada bulan Juli hingga Agustus berbeda dengan daerah lain yang terjadi pada bulan November hingga Maret. Keunggulan manggis asal Bengkalis yaitu toleran terhadap tanah masam (gambut), dapat tumbuh pada daerah rawa gambut dan tanah liat.

Manggis mempunyai sifat biji yang rekalsitran, sehingga harus segera ditanam sesudah dikeluarkan dari buah (Sunarjono, 2000). Teknik *in vitro* merupakan salah satu teknologi perbanyakan yang menjadi solusi untuk memecahkan masalah kekurangan bibit manggis, karena dapat menyediakan bibit dalam jumlah banyak, seragam dan tidak tergantung musim (Harahap *et al.*, 2014). Eksplan biji selain untuk pembentukan tunas juga digunakan untuk proses terbentuknya kalus. Kalus digunakan untuk mendapatkan keanekaragaman genetik yang tinggi termasuk pada tanaman manggis.

Keberhasilan perbanyakan kalus dipengaruhi oleh zat pengatur tumbuh (ZPT). ZPT yang biasanya digunakan untuk meningkatkan pertumbuhan serta perkembangan tanaman adalah golongan auksin atau sitokinin. Golongan sitokinin yang sering dikombinasikan adalah *6-benzyl amino purine* (BAP). BAP berperan dalam menstimulasi pematangan sel dan proliferasi kalus (Noggle & Fritz, 1983). Keberhasilan embriogenesis somatik, selain ditentukan oleh ZPT, juga dapat diketahui dengan penambahan senyawa organik lain. Salah satu senyawa organik yang digunakan adalah madu. Madu sebagai sumber karbon yang memiliki kandungan seperti karbohidrat, vitamin, garam mineral yang berpengaruh terhadap pertumbuhan kalus dan regenerasi pembentukan sel.

Embriogenesis somatik merupakan salah satu teknik regenerasi yang juga digunakan pada tanaman manggis secara kultur *in vitro* yang memiliki tahapan perkembangan fase globular, fase hati, fase torpedo, dan planlet. Hasil penelitian (Rineksane *et al.*, 2012) bahwa subkultur pada media $\frac{1}{2}$ LS dengan penambahan 1 mg/L BAP didapatkan fase embriogenesis tipe jantung. Penelitian Elviana *et al.* (2011) menyatakan, penambahan 0,7 mg/L BAP menggunakan eksplan daun manggis pada media *Murashige-Skoog* (MS) menghasilkan fase globular.

Hasil penelitian Isda *et al.* (2016) bahwa penggunaan media MS dengan penambahan 3 mg/L BAP dan 7 mg/L BAP serta kombinasi 7 mg/L BAP dengan 9 mL/L madu diperoleh persentase tertinggi pembentukan kalus yang remah (100%) pada eksplan biji manggis yang dipotong tiga secara membujur. Tujuan dari penelitian ini adalah menentukan konsentrasi terbaik BAP dan madu tunggal serta kombinasi terbaik dalam pembentukan fase embriogenesis somatik pada kalus biji manggis asal Bengkalis.

MATERIAL DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2016 sampai Januari 2017 di Laboratorium Biologi Terpadu dan Studio Fotomikrografi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Riau, Pekanbaru. Bahan tanaman yang digunakan adalah biji dari buah yang masak asal Bengkalis. Buah yang sudah masak diambil dari pohon kemudian diambil bijinya dengan cara dibersihkan daging buahnya. Selanjutnya disterilisasi di dalam *Laminar Air Flow* (LAF) berturut-turut menggunakan larutan *Nahipoklorit* 20% + Tween-80 selama 10 menit dan disterilisasi dengan alkohol 70% selama 5 menit. Setiap pergantian larutan sterilisasi dibilas dengan akuades sebanyak 3 kali. Biji diletakkan dalam cawan petri yang berisi campuran larutan akuades dan iodine kemudian dibelah menjadi tiga bagian secara melintang. Hal ini karena, tipe pemotongan membujur memiliki area penyerapan nutrisi yang lebih luas sehingga penyerapan sitokinin eksogen dan nutrisi yang ada dalam media menjadi optimal untuk memicu pemotongan sel-sel meristem dalam

membentuk jaringan atau organ baru (Isda *et al.*, 2016). Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAK). Konsentrasi BAP dan madu yang digunakan terdiri dari 12 taraf perlakuan, yaitu: K1; (0 mg/L atau kontrol); K2 (3 mg/L BAP), K3; (7 mg/L madu), K4; (3mL/L madu), K5; (6 mg/L madu); K6; (9 mg/L madu), K7; (3 mg/L BAP + 3 mL/L madu), K8; (3 mg/L BAP + 6 mL/L madu), K9; (3 mg/L BAP + 9 mL/L madu), K10; (7 mg/L BAP + 3 mL/L madu), K11; (7 mg/L BAP + 6 mL/L madu), K12; (7 mg/L BAP + 9 mL/L madu) (Isda *et al.*, 2016). Parameter dalam penelitian meliputi persentase eksplan hidup (%), persentase pembentukan kalus (%) waktu muncul kalus (hst), volume kalus, morfologi kalus dan fase embriogenesis somatik. Data hasil pengamatan selanjutnya dianalisis menggunakan ANOVA. Jika terjadi pengaruh nyata dilakukan dengan uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf kepercayaan 5% dengan menggunakan aplikasi SPSS.

HASIL

Berdasarkan hasil penelitian pembentukan kalus dengan penambahan BAP dan madu baik tunggal maupun kombinasi pada

media MS pada 28 hst. Hasil ANOVA dan DMRT dengan taraf 5% terhadap persentase eksplan hidup, persentase terbentuknya kalus, waktu muncul kalus, volume kalus, morfologi kalus, dan fase perkembangan embriogenesis somatik disajikan pada Tabel 1, 2, dan 3.

Hasil penelitian menggunakan eksplan biji selain pembentukan kalus (Gambar 1.A) juga diperoleh pembentukan nodul dan tunas (Gambar 1.B dan 1.C). Pembentukan kalus ditandai dengan adanya kumpulan atau massa sel yang tidak beraturan pada bagian eksplan.

Struktur kalus merupakan salah satu penanda yang dipergunakan untuk menilai kualitas suatu kalus. Tekstur kalus pada penelitian didapatkan dua macam yaitu remah (*friable*) dan kompak (*non friable*) terdapat pada (Gambar 2).

Morfologi warna pada penelitian ini didapatkan 4 warna yaitu putih, putih kekuningan, putih kehijauan, putih kecoklatan (Gambar 3). Keberhasilan kalus embrio somatik dapat diketahui melalui fase-fase pembentukan sel seperti globular, hati, torpedo dan planlet. Pada penelitian ini didapatkan tiga fase embriogenesis somatik yaitu fase globular, fase hati dan fase torpedo (Gambar 4).

Tabel 1. Rerata persentase eksplan hidup dan pembentukan kalus manggis (*Garcinia mangostana* L.) asal Bengkulu pada media *Murashige-Skoog* (MS) 28 hst

| Kode perlakuan | Perlakuan | | Persentase | |
|----------------|------------|-------------|-------------------|-----------------------|
| | BAP (mg/L) | Madu (mg/L) | Eksplan hidup (%) | Pembentukan kalus (%) |
| K1 | 0 | | | |
| K2 | 3 | 0 | 100 | 77,73 ^{bc} |
| K3 | 7 | 0 | 100 | 55,5 ^{ab} |
| K4 | 0 | 3 | 100 | 77,73 ^{bc} |
| K5 | 0 | 6 | 100 | 44,4 ^a |
| K6 | 0 | 9 | 100 | 88,86 ^c |
| K7 | 3 | 3 | 100 | 88,86 ^c |
| K8 | 3 | 6 | 100 | 77,73 ^{bc} |
| K9 | 3 | 9 | 100 | 100 ^c |
| K10 | 7 | 3 | 100 | 55,5 ^{ab} |
| K11 | 7 | 6 | 100 | 44,4 ^a |
| K12 | 7 | 9 | 100 | 44,4 ^a |

Keterangan: K1= 0 mg/L atau kontrol, K2= 3 mg/L BAP, K3= 7 mg/L madu, K4= 3mL/L madu, K5= 6 mg/L madu, K6= 9 mg/L madu, K7= 3 mg/L BAP + 3 mL/L madu, K8= 3 mg/L BAP + 6 mL/L madu, K9= 3 mg/L BAP + 9 mL/L madu, K10= 7 mg/L BAP + 3 mL/L madu, K11= 7 mg/L BAP + 6 mL/L madu, K12= 7 mg/L BAP + 9 mL/L madu

Tabel 2. Rerata waktu pembentukan kalus dan volume kalus manggis (*Garcinia mangostana* L.) asal Bengkalis pada 28 hst

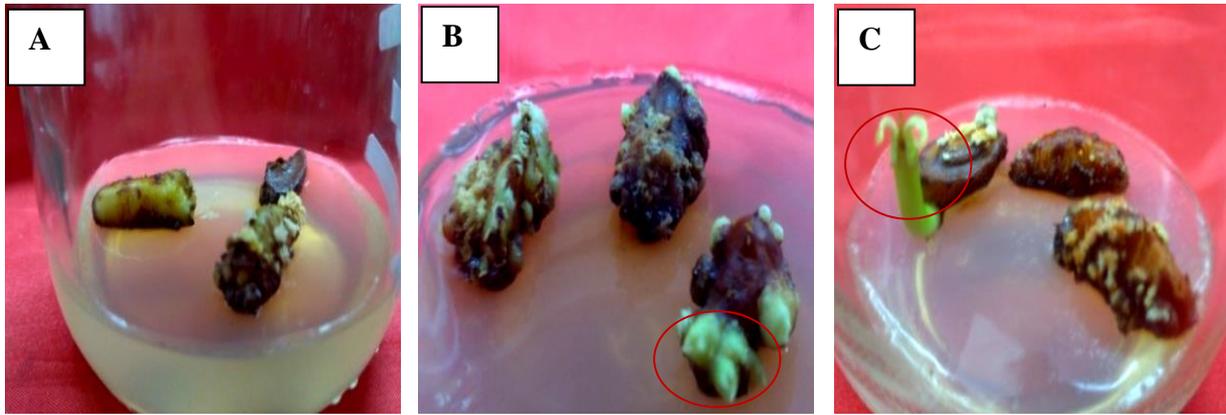
| Kode perlakuan | Perlakuan | | Parameter pengamatan | |
|----------------|------------|-------------|--------------------------|--------------|
| | BAP (mg/L) | Madu (mg/L) | Waktu muncul kalus (hst) | Volume Kalus |
| K1 | | | | |
| K2 | 3 | 0 | 10,67 ^{ab} | 1,67 |
| K3 | 7 | 0 | 13 ^b | 1,33 |
| K4 | 0 | 3 | 10,33 ^{ab} | 1 |
| K5 | 0 | 6 | 10,67 ^{ab} | 1,33 |
| K6 | 0 | 9 | 9 ^a | 1,67 |
| K7 | 3 | 3 | 8,67 ^a | 2 |
| K8 | 3 | 6 | 11,33 ^{ab} | 1,67 |
| K9 | 3 | 9 | 10,67 ^{ab} | 1,33 |
| K10 | 7 | 3 | 8,67 ^a | 1,33 |
| K11 | 7 | 6 | 10,33 ^{ab} | 1,67 |
| K12 | 7 | 9 | 11,33 ^{ab} | 1,33 |

Keterangan: K1= 0 mg/L atau kontrol, K2= 3 mg/L BAP, K3= 7 mg/L madu, K4= 3mL/L madu, K5= 6 mg/L madu, K6= 9 mg/L madu, K7= 3 mg/L BAP + 3 mL/L madu, K8= 3 mg/L BAP + 6 mL/L madu, K9= 3 mg/L BAP + 9 mL/L madu, K10= 7 mg/L BAP + 3 mL/L madu, K11= 7 mg/L BAP + 6 mL/L madu, K12= 7 mg/L BAP + 9 mL/L madu

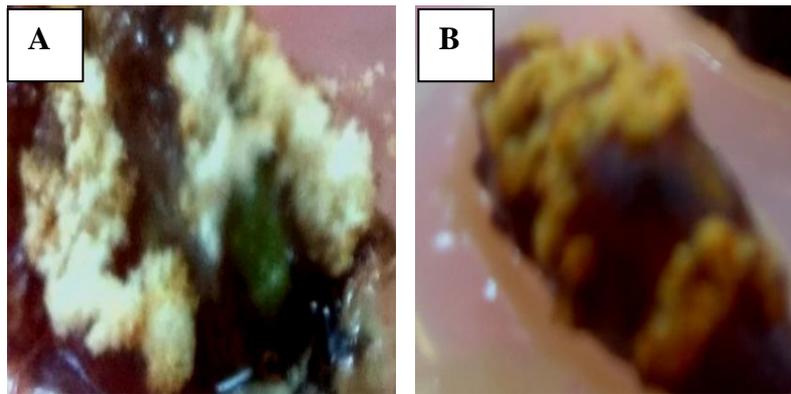
Tabel 3. Tekstur kalus, warna kalus dan fase embriogenesis somatik dari eksplan biji manggis (*Garcinia mangostana* L.) asal Bengkalis secara *in vitro* dengan penambahan BAP dan madu tunggal serta kombinasi selama 28 hst

| Kode perlakuan | Perlakuan | | Tekstur | Warna kalus | Fase embriogenesis somatic |
|----------------|------------|-------------|---------|------------------------------------|----------------------------|
| | BAP (mg/L) | Madu (mL/L) | | | |
| K1 | 0 | 0 | Remah | Putih - putih kekuningan | Globular, hati, torpedo |
| K2 | 3 | 0 | Kompak | Putih - putih kecoklatan | - |
| K3 | 7 | 0 | Remah | Putih - putih kekuningan | Globular, hati, torpedo |
| K4 | 0 | 3 | Remah | Putih kehijauan - putih kecoklatan | - |
| K5 | 0 | 6 | Kompak | Putih | - |
| K6 | 0 | 9 | Remah | Putih - putih kekuningan | Globular, hati |
| K7 | 3 | 3 | Kompak | Putih - putih kekuningan | - |
| K8 | 3 | 6 | Remah | Putih - putih kekuningan | Globular, hati |
| K9 | 3 | 9 | Remah | Putih - putih kekuningan | Globular, hati, torpedo |
| K10 | 7 | 3 | Kompak | Putih - putih kekuningan | - |
| K11 | 7 | 6 | Remah | Putih - putih kekuningan | Hati |
| K12 | 7 | 9 | Kompak | putih | - |

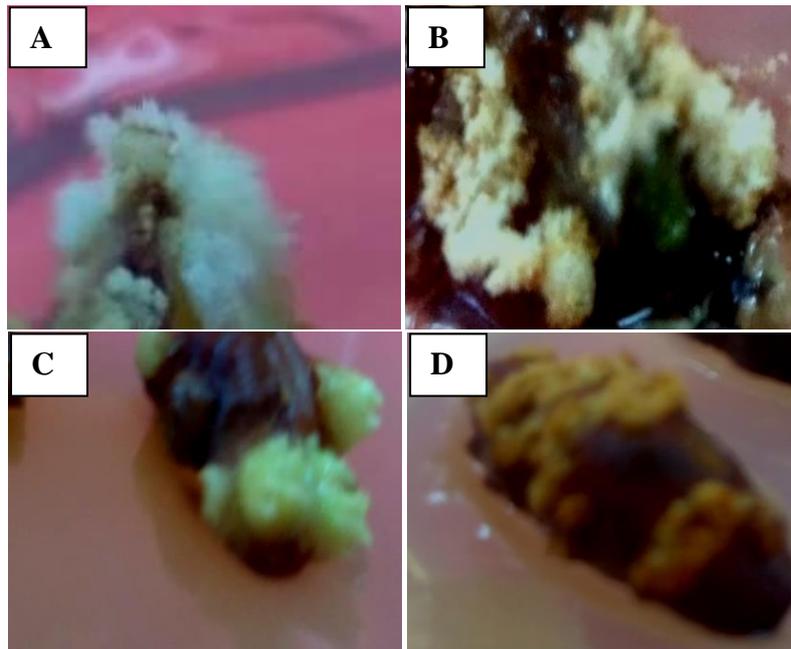
Keterangan: K1= 0 mg/L atau kontrol, K2= 3 mg/L BAP, K3= 7 mg/L madu, K4= 3mL/L madu, K5= 6 mg/L madu, K6= 9 mg/L madu, K7= 3 mg/L BAP + 3 mL/L madu, K8= 3 mg/L BAP + 6 mL/L madu, K9= 3 mg/L BAP + 9 mL/L madu, K10= 7 mg/L BAP + 3 mL/L madu, K11= 7 mg/L BAP + 6 mL/L madu, K12= 7 mg/L BAP + 9 mL/L madu



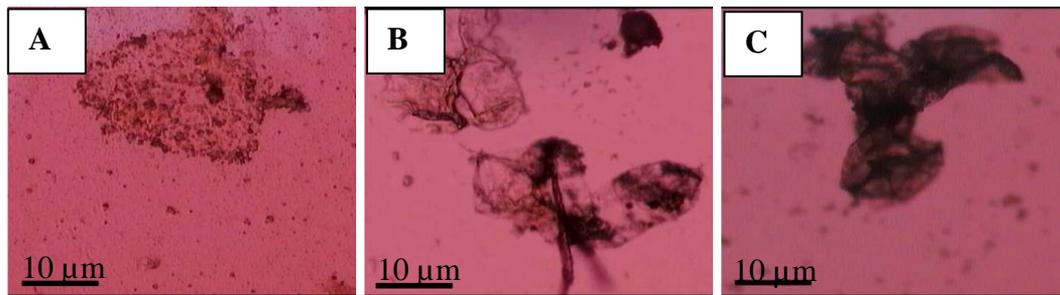
Gambar 1. Respon eksplan biji manggis (*Garcinia mangostana* L.) asal Bengkulu dengan tipe pemotongan membujur pada 28 hst. (A) kalus pada perlakuan 3 mg/L BAP + 9 mL/L madu, (B) nodul pada perlakuan 7 mg/L BAP + 6 mL/L madu, (C) tunas pada perlakuan 7 mg/L BAP + 3 mL/L madu



Gambar 2. Tekstur kalus eksplan biji manggis (*Garcinia mangostana* L.) asal Bengkulu secara membujur pada 28 hst. (A) struktur kalus remah, (B) struktur kalus kompak



Gambar 3. Warna kalus eksplan biji manggis (*Garcinia mangostana* L.) asal Bengkulu pada 28 hst. (A) P (putih) pada perlakuan (K5) 6 mL/L madu, (B) PKu (putih kekuningan) pada perlakuan (K3) 7 mg/L BAP (C) PKh (putih kehijauan) pada perlakuan (K4) 3 mL/L madu, (D) PKc (putih kecoklatan) pada perlakuan (K2) 3 mg/L BAP



Gambar 4. Perkembangan embriogenesis somatik eksplan biji kalus manggis (*Garcinia mangostana* L.) asal Bengkalis dengan tipe pemotongan secara membujur pada 28 hst menggunakan metode Whoul Mant pada perlakuan (K9) 3 mg/L BAP + 9 mL/L madu. (A) fase globular, (B) fase Hati, (C) fase torpedo perbesaran 100x mikroskop cahaya

PEMBAHASAN

Induksi kalus tanaman manggis dari eksplan biji telah dilakukan di Laboratorium Biologi Terpadu Jurusan Biologi FMIPA Universitas Riau dengan waktu pengamatan 28 hari. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan didapatkan bahwa pemberian BAP dan madu baik tunggal maupun kombinasi pada media MS mampu memberikan respons pembentukan persentase eksplan hidup, persentase pembentukan kalus, waktu muncul kalus, volume kalus, morfologi kalus dan fase embriogenesis somatik biji manggis.

Persentase Eksplan Hidup dan Persentase Pembentukan Kalus

Tabel 1 menunjukkan bahwa semua perlakuan baik perlakuan BAP dan madu tunggal serta kombinasi pada eksplan biji manggis mampu hidup 100%. Tingginya persentase hidup dipengaruhi oleh beberapa faktor meliputi tingkat kematangan biji, ukuran eksplan dan tipe pemotongan (Zulkarnain, 2009). Tingkat kematangan biji yang berbeda mempengaruhi viabilitas eksplan yang dikulturkan karena kondisi fisiologi biji yang belum matang memengaruhi cadangan makanan dan kombinasi embrio dalam biji (Isda *et al.*, 2015). Selain kematangan biji tipe pemotongan biji juga mendukung keberhasilan hidup eksplan. Penelitian yang telah dilakukan oleh (Isda *et al.*, 2016) biji manggis yang dibelah tiga dengan tipe pemotongan membujur pada induksi tunas yang menghasilkan persentase hidup (100%). Hal ini diduga karena tipe pemotongan membujur memiliki area penyerapan nutrisi yang lebih luas

sehingga penyerapan sitokinin eksogen dan nutrisi yang ada dalam media menjadi optimal untuk memicu pemotongan sel-sel meristem dalam membentuk jaringan atau organ baru.

Pemberian perlakuan BAP dan madu tunggal maupun kombinasi berpengaruh nyata terhadap persentase pembentukan kalus pada eksplan biji manggis dengan tipe pemotongan secara membujur. Pemberian BAP dan madu tunggal maupun kombinasi menunjukkan bahwa pembentukan kalus pada perlakuan madu tunggal (K5) 6 mL/L madu, dan kombinasi (K11) 7 mg/L BAP + 6 mL/L madu, (K12) 7 mg/L BAP + 9 mL/L madu menghasilkan pembentukan kalus terendah yaitu 44,4%. Pembentukan kalus yang rendah, diduga karena penambahan ZPT yang akan membentuk kalus berpengaruh terhadap hormon endogen pada eksplan yang belum mampu menginduksi kalus. Pemberian hormon eksogen yang terlalu tinggi akan memperlambat pembentukan kalus. Adanya penambahan auksin dan sitokinin yang tepat, maka eksplan akan diarahkan untuk membentuk kalus.

Perlakuan kombinasi BAP dan madu (K9) 3 mg/L BAP + 9 mL/L madu menghasilkan kalus terbanyak sebesar 100%. Kalus akan terbentuk jika kandungan hormon endogen dan eksogen mencukupi untuk proses pemotongan sel dan diferensiasi sel. Menurut Salisbury dan Ross (1995) penambahan sitokinin eksogen akan mengubah kadar hormon endogen yang terkandung di dalam eksplan. Penambahan ZPT yang sesuai akan memengaruhi dan meningkatkan pemotongan sel pada proses morfogenesis maupun

organogenesis pada tanaman (Lestari, 2011). Hal ini sesuai dengan (Wattimena *et al.*, 1992) bahwa ZPT merupakan salah satu faktor penentu dalam keberhasilan kultur *in vitro*. Keberhasilan pembentukan kalus juga dapat ditentukan oleh pemberian senyawa organik seperti pemberian madu. Madu mengandung beberapa mineral dan vitamin yang dibutuhkan dalam kultur *in vitro*. Ajibola *et al.* (2012) menyatakan bahwa madu mengandung beberapa vitamin seperti niasin, asam askorbat, asam pantotenat dan riboflavin. Kandungan mineral yang ada di madu menurut Bogdanov *et al.* (2008) antara lain magnesium, kalsium, fosfor, potassium, sodium dan zat besi.

Hasil penelitian menggunakan eksplan biji selain pembentukan kalus (Gambar 1.A) juga diperoleh pembentukan nodul dan tunas (Gambar 1.B dan 1.C). Terbentuknya nodul dan tunas diduga dipengaruhi oleh pemberian ZPT dan pemberian senyawa organik. Perlakuan (K11) 7 mg/L BAP + 6 mL/L madu dan (K10) 7 mg/L BAP + 3 mL/L diperoleh pembentukan nodul dan tunas. Nodul yang muncul pada eksplan manggis merupakan calon tunas. Menurut Joni *et al.* (2014) pembentukan tunas diawali dengan pembentukan nodul terlebih dahulu pada perbanyakan *in vitro* tanaman manggis. Induksi tunas ditandai dengan terdapatnya nodul yang mengalami pembengkakan pada eksplan dan selanjutnya berkembang menjadi tunas disekitar eksplan (Kasutjiani *et al.*, 2010).

Hal ini juga sesuai dengan penelitian Lestari *et al.* (2013) yang menyatakan bahwa induksi tunas manggis menghasilkan tonjolan-tonjolan atau nodul yang merupakan bakal tunas yang dihasilkan berasal dari bekas irisan, kemudian membengkak dan membentuk bulatan-bulatan. Konsentrasi sitokinin yang ditambahkan akan mempengaruhi kandungan hormon endogen yang terdapat pada eksplan, sehingga penambahan sitokinin dalam konsentrasi yang tepat akan meningkatkan pembentukan tunas.

Waktu Muncul Kalus dan Volume Kalus

Pertumbuhan dan perkembangan sel pada kultur *in vitro* yang terjadi ditandai dengan berkembangnya eksplan secara terus

menerus hingga membentuk organ berupa kalus. Salah satu indikator adanya pertumbuhan dalam kultur *in vitro* adalah waktu munculnya kalus pada eksplan. Hasil uji lanjut menunjukkan bahwa pemberian perlakuan BAP dan madu tunggal maupun kombinasi berpengaruh nyata terhadap waktu muncul kalus pada eksplan biji manggis dengan tipe pemotongan secara membujur.

Perlakuan pada madu tunggal (K6) 9 mL/L madu menghasilkan waktu muncul kalus yang cepat yaitu pada 9 hst dibandingkan dengan perlakuan madu tunggal lainnya. Hal ini diduga penambahan madu tunggal memengaruhi waktu muncul kalus, semakin tinggi penambahan konsentrasi madu maka semakin cepat waktu muncul kalus. Sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Isda dan Amin (2016) yang menyatakan waktu muncul kalus tercepat pada perlakuan madu tunggal dengan konsentrasi 9 mL/L madu umumnya eksplan membentuk kalus terlebih dahulu sehingga membutuhkan waktu yang lama dalam pembentukan tunas. Penambahan kadar gula yang tinggi akan menyebabkan pembentukan kalus semakin meningkat (Winarto *et al.*, 2009), sedangkan pada perlakuan kombinasi BAP dan madu pada perlakuan (K7) 3 mg/L BAP + 3 mL/L madu dan (K10) 7 mg/L BAP + 3 mL/L menghasilkan waktu muncul kalus yang cepat yaitu pada 8,67 hst. Pemberian zat pengatur tumbuh yang dikombinasikan menghasilkan waktu muncul kalus lebih cepat dibandingkan dengan BAP dan madu tunggal. Pemberian konsentrasi BAP yang semakin rendah pada media akan mempercepat waktu pembentukan kalus. Hal ini diduga pada penelitian ini penambahan konsentrasi BAP rendah yang dikombinasikan dengan madu merupakan konsentrasi optimum dalam pembentukan kalus sehingga waktu muncul kalus lebih cepat.

Hasil uji lanjut menunjukkan bahwa pemberian perlakuan BAP dan madu tunggal maupun kombinasi tidak berbeda nyata terhadap rata-rata volume kalus yang disajikan pada Tabel 2. Hasil penelitian dengan pemberian BAP dan madu tunggal maupun kombinasi menunjukkan bahwa kalus umumnya

sudah terbentuk pada 12 hst dengan volume yang masih sedikit. Pengamatan dilakukan selama 28 hst, pengukuran volume kalus menggunakan sistem skoring. Pada hasil penelitian menunjukkan pemberian kombinasi BAP dan madu (K7) 3 mg/L BAP + 3mL/L madu menghasilkan volume kalus terbanyak (skor 3) yang menandakan lebih dari 50% keseluruhan eksplan telah diselubungi oleh kalus yang tidak berbeda nyata dengan kontrol dan perlakuan lainnya serta berhubungan dengan waktu muncul kalus tercepat (8,67 hst) serta menghasilkan jumlah kalus terbanyak (88,86%). Kombinasi konsentrasi ZPT diduga berpengaruh dalam pembentukan waktu muncul kalus, volume kalus, dan pembentukan kalus yang diberikan.pada eksplan.

Salah satu faktor utama dalam mengontrol volume kalus adalah pemberian zat pengatur tumbuh dalam media kultur. Kombinasi penggunaan hormon auksin dan sitokinin dapat memberikan pengaruh yang baik terhadap pembentukan dan pertumbuhan kalus (Bustami, 2011). Menurut Mahadi *et al.* (2016) dalam meningkatkan pertumbuhan kalus, maka perlu dilakukan penambahan hormon pada media kultur.

Morfologi Kalus dan Tahapan Fase Embryogenesis Somatik dari Kalus Biji Manggis

Tekstur kalus pada penelitian didapatkan dua macam yaitu remah (*friable*) dan kompak (*non friable*) (Gambar 2). Kalus remah didapatkan pada perlakuan (K1) Kontrol, (K4) 3 mL/L madu, (K6) 9 mL/L madu, (K8) 3 mg/L BAP + 3 mL/L madu, (K9) 3 mg/L BAP + 9 mL/L madu, dan (K11) 7 mg/L BAP + 9 mL/L madu. Tekstur kalus remah memiliki ciri-ciri yaitu mudah terurai, warna kalus putih hingga kuning dan ditandai menghasilkan kalus yang embriogenik. Kalus yang kompak didapatkan pada perlakuan (K2) 3 mg/L BAP, (K3) 7 mg/L BAP, (K5) 6 mL/L madu, (K7) 3 mg/L BAP + 3 mL/L madu, (K10) 7 mg/L BAP + 3 mL/L madu, dan (K12) 7 mg/L BAP + 9 mL/L madu. Kalus dikatakan kompak jika memiliki struktur sel yang rapat padat, sulit untuk dipisahkan dan mempunyai vakuola yang besar di dalam selnya. Kalus yang

kompak mempunyai tekstur yang sulit untuk dipisahkan, terlihat padat dan tidak menunjukkan ciri embriogenesis somatik (Fitriani, 2008). Menurut Rivai *et al.* (2014) kalus kompak tidak pernah ada yang berkembang menjadi embrio somatik, namun kalus kompak tersebut berpotensi untuk berkembang ke arah organogenesis (pembentukan nodul dan tunas).

Morfologi warna (Gambar 3) seperti warna putih-putih kekuningan pada kalus dalam penelitian ini terdapat pada perlakuan (K1) kontrol, (K3) 7 mg/L BAP, (K5) 6 mL/L madu, (K6) 9 mL/L madu,(K7) 3 mg/L BAP + 3 mL/L madu (K8) 3 mg/L BAP + 6 mL/L madu, (K9) 3 mg/L BAP + 9 mL/L madu, (K11) 7 mg/L BAP + 6 mL/L madu dan (K12) 7 mg/L BAP + 9 mL/L madu. Kalus yang berwarna putih merupakan massa atau kumpulan sel yang masih terus aktif membelah dan dapat membentuk kalus lebih banyak. Ariati *et al.* (2012) menyatakan kalus yang berwarna putih merupakan jaringan embrionik yang memiliki kandungan butir pati yang tinggi, sedangkan morfologi kalus putih-putih kecoklatan terdapat pada perlakuan (K2) 3 mg/L BAP dan (K4) 3 mL/L madu. Warna kalus yang semakin gelap (menjadi cokelat) berarti pertumbuhan kalus semakin menurun. Hal ini karena tidak adanya BAP dalam media, sehingga mempercepat terjadinya proses penuaan (senesen) sel (Palupi *et al.*, 2004). Perlakuan yang menunjukan ciri embrio somatik pada Tabel 3 diperoleh pada (K1) Kontrol, (K4) 3 mL/L madu, dan (K9) 3 mg/L BAP + 9 mL/L madu, fase yang berkembang adalah fase globular, hati dan torpedo. Pada perlakuan (K6) 9 mL/L madu dan (K8) 3 mg/L BAP + 6 mL/L madu fase yang berkembang adalah fase globular dan hati, sementara pada perlakuan (K11) 7 mg/L BAP + 6 mL/L madu fase yang adalah hati.

Organogenesis dapat terbentuk melalui dua jalur, yaitu secara langsung maupun tidak langsung (melewati fase kalus). Pembentukan kalus secara tidak langsung memiliki sifat untuk dikembangkan menjadi embrio somatik. Penelitian ini didapatkan tiga fase pembentukan embriogenesis somatik yaitu fase globular, hati dan torpedo (Gambar 4).

Perlakuan yang menunjukkan ciri embrio somatik pada Tabel 3 diperoleh pada (K1) Kontrol, (K4) 3 mL/L madu, dan (K9) 3 mg/L BAP + 9 mL/L madu, fase yang berkembang adalah fase globular, hati dan torpedo (Gambar 4). Perlakuan (K6) 9 mL/L madu dan (K8) 3 mg/L BAP + 6 mL/L madu fase yang berkembang adalah fase globular dan hati sementara pada perlakuan (K11) 7 mg/L BAP + 6 mL/L madu fase yang adalah hati. Embrio somatik dapat dicirikan dari strukturnya yang bipolar, yaitu mempunyai dua calon meristem, yaitu meristem akar dan meristem tunas (Purnamaningsih, 2002). Di samping strukturnya, tahap perkembangan embrio somatik menyerupai embrio zigotik. Secara spesifik tahap perkembangan tersebut dimulai dari fase globular, fase hati, fase torpedo, dan planlet. Keberhasilan embriogenesis somatik, selain ditentukan oleh ZPT, juga ditentukan oleh penggunaan senyawa organik lainnya, misalnya pemberian madu. Penggunaan konsentrasi zat pengatur tumbuh yang berbeda akan mempengaruhi fase embriogenesis somatik secara kultur *in vitro*.

SIMPULAN DAN SARAN

Konsentrasi terbaik dalam pembentukan fase embriogenesis somatik diperoleh pada perlakuan (K9) 3 mg/L BAP + 9 mL/L menghasilkan pembentukan kalus 100% dengan waktu kalus 10,67 hst, volume kalus 1,33 dan adanya fase embriogenesis somatik yaitu globular, hati dan torpedo. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait persentase pembentukan fase embriogenesis somatik dan waktu pembentukan planlet dengan berbagai sumber ZPT sehingga dapat meningkatkan pertumbuhan kalus terutama pada karakter fisik kalus untuk diarahkan kepada pembentukan kalus embriogenik. Hal tersebut mungkin dapat dilakukan dengan menambahkan auksin dalam media MS pada penelitian lanjutan sehingga dapat menghasilkan embrio somatik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada DIPA Universitas Riau tahun 2016 yang telah mendanai

penelitian ini terselenggara atas nama Dr. Mayta Novaliza Isda, M.Si.

REFERENSI

- Ajibola, A. J. P., Chamunorwa, K. H., & Erlwanger. (2012). Nutraceutical values of natural honey and its contribution to human health and wealth. *Nutrition & Metabolism*, (61), 1-12.
- Ariati, S. K., Waeniati., Muslimin, I. N., & Suwastika. (2012). Induksi kalus tanaman kakao (*Theobroma cacao* L.) pada media MS dengan penambahan 2,4-D, BAP dan air kelapa. *Jurnal Natural Science*, 1(1), 74-84.
- Badan Pusat Statistik. (2015). Data ekspor impor. (2017, May 5). Retrieved from <http://www.bps.go.id/exim-frame.php?kat=2>.
- Bogdanov, S. T., Jurendic, R., Sieber, P., & Gallmann. (2008). Honey for nutrition and health: a review. *American Journal of The College of Nutrition*, 27(6), 677-689
- Bustami, M. U. (2011). Penggunaan 2,4-D untuk induksi kalus kacang tanah. *Media Litbang Sulawesi Tengah*, 4(2), 137-14.
- Elviana, M., Rohani, E. R., Ismanizan, I., & Normah, M. N. (2011). Morphological and histological changes during the somatic embryogenesis of mangosteen. *Biologia Plantarum*, 55(4), 731-736.
- Fitriani, H. (2008). Kajian konsentrasi BAP dan NAA terhadap multiplikasi tanaman *Artemisia annua* L. secara *in vitro* (Skripsi). Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Harahap, F. R., Poerwanto, Suharsono, Suriani, C., & Rahayu, S. (2014). *In vitro* growth and rooting of mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) on medium with different concentration of plant growth regulator. *HAYATI Journal of Biociences*, 21(4), 151-158.

- Isda, M. N., Fatonah, S., & Rahmawati, R. Y. (2015). Induksi tunas dari eksplan biji manggis (*Garcinia mangostana* L.) asal Bengkulu secara *in vitro* dengan perlakuan BAP (benzylaminopurine) pada medium MS. In (Ed.), . Prosiding Semirata 2015 bidang MIPA BKS-PTN Barat (pp. 166-172). Universitas Tanjungpura, Pontianak, Indonesia.
- 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. Di dalam: strategi pemuliaan dalam mengantisipasi perubahan iklim global. In (Ed.), . Prosiding Seminar Perhimpunan Pemuliaan Indonesia (PERIPI) Komda Riau (pp. 268-275). Pekanbaru .
- Joni, Y. Z., Efendi, D., & Roostika, I. (2014). Morfogenesis eksplan keping biji dari tiga klon manggis (*Garcinia mangostana* L.) pada tiga jenis media dasar. *Jurnal Hortikultura*, 24(2), 94-101.
- Kasutjaniangati., 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. (2011). Peranan zat pengatur tumbuh dalam perbanyakan tanaman melalui kultur jaringan. *Jurnal Agrobiogen*, 7(1), 63-68.
- Lestari, E. G., Rahmad, M. S., Ani, K., & Suci, R. (2013). Inisiasi tunas ganda tanaman manggis Malinau melalui kultur *in vitro* untuk perbanyakan klonal. *Jurnal Agronomi Indonesia*, 41(1), 40-46.
- Mahadi, I., Syafi'I, Y., & Sari, Y. (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.
- Nugroho, A. E. (2013). Manggis (*Garcinia mangostana* L.): dari kulit buah yang terbuang hingga menjadi kandidat suatu obat (Bibliografi). Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Noggle, G. R., & Fritz, G. J. (1983). *Introductory plant physiology: second edition*. New Jersey: Prentice-Hall, Inc.
- Palupi, A. D., Solichatun, & Marlina, S. D. (2004). Pengaruh asam 2,4-diklorofenoksiasetat (2,4-D) dan benziladenin (BA) terhadap kandungan minyak atsiri kalus daun nilam (*Pogostemon cablin* Benth.). *BioSMART*, 6(2), 99-103.
- Purnamaningsih, R. (2002). Regenerasi tanaman melalui embriogenesis somatik dan beberapa gen yang mengendalikannya. *Buletin AgroBio*, 5(2), 51-58.
- Rineksane, I. A., Kadir, M. A., Kadzimin, S., & Zaman, F. Q. (2012). *In vitro* development of embryogenic calli and embryogenic stage in suspension culture of mangosteen. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(13), 2549-255.
- Rivai, R. R., Husni, A., & Purwito, A. (2014). Induksi kalus dan embrio somatik jambu biji merah (*Psidium guajava* L.). *Buletin Agrohorti*, 2(1), 49-58.
- Salisbury, F. B., & Ross, C. W. (1995). *Fisiologi tumbuhan I*. Diterjemahkan oleh Lukman D. R dan Sumaryono. Bandung: ITB.
- Sunarjono, H. H. (2000). *Prospek berkebun buah*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Wattimena, G. A., Gunawan, W. L., Mattjik, A. N., Syamsudin, E., Wiendi, A. M. N., & Erawatib, A. (1992). *Bioteknologi tanaman*. Bogor: Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman, Institut Pertanian Bogor.
- Zulkarnain. (2009). *Kultur jaringan tanaman solusi perbanyakan tanaman budidaya*. Jakarta: Bumi Aksara.