

PENGARUH PEMBERIAN HORMON 2,4 D TERHADAP PERTUMBUHAN EKSPLAN DAUN RAMANIA (*Bouea macrophylla Griffith*) SECARA *IN VITRO*

*Effect of 2,4 D Hormone on The Growth of Ramania (Bouea macrophylla Griffith)
Leaf Explants in Vitro*

Yuda Agus Pratama,¹⁾ Adistina Fitriani,¹⁾ Damaris Payung,¹⁾ Yulianto Syahid,²⁾
dan Sigit Kristyanto²⁾

1) Program Studi Kehutanan Fakultas Kehutanan Universitas Lambung Mangkurat
2) Laboratorium Kultur Jaringan BPDAS Barito

ABSTRACT. *Ramania* as known as Gandaria (*Bouea macrophylla Griffith*), belonging to the Anacardiaceae family. *Ramania* is a tropical fruit plant native to Southeast Asia and has been commercially grown in the ASEAN region. This research aims to determine the effect of the addition of 2,4 D hormone and the appropriate concentration growth regulator of 2,4 D hormone on the growth of *Ramania (Bouea macrophylla Griffith)* leaf explants tissue culture Methodology used in this riset was to go directly to the field. The first treatment of hormone 2,4 D with a tissue concentration of 0.8 g for 5 weeks of observation of the size of the callus produced was small and could not last long, and the callus formed from ramania leaf explants on MS tissue culture media (*Murasihge* and *Skoog*) with 2,4 D treatment all produced a compact textured callus. The use of auxin 2,4 D can affect callus growth in ramania leaf explants (*Bouea macrophylla Griffith*). The right concentration of 2,4 D hormone for the growth of *Ramania* leaf explants is the first treatment with a concentration of 0.8 g, the callus produced is the most and fastest growth (day 24).

Keywords: *Ramania*; Explant, 2,4 D Hormone; In Vitro

ABSTRAK. *Ramania* atau yang dikenal Gandaria (*Bouea macrophylla Griffith*), termasuk famili Anacardiaceae. *Ramania* merupakan tanaman buah tropis yang berasal dari Asia Tenggara dan secara komersial telah ditanam di wilayah ASEAN. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan hormon 2,4 D dan konsentrasi zat pengatur tumbuh 2,4 D yang tepat terhadap pertumbuhan eksplan daun *Ramania (Bouea macrophylla Griffith)* dengan kultur jaringan. Metodologi yang dilakukan didalam pengamatan dan penelitian ini dengan cara turun langsung ke lapangan.. Pertumbuhan kalus yang cepat muncul pada hari ke 24. Perlakuan pertama pada hormon 2,4 D dengan konsentrasi jaringan 0,8 gr selama 5 minggu pengamatan ukuran kalus yang dihasilkan berukuran kecil dan tidak dapat bertahan lama , dan Kalus yang terbentuk dari eksplan daun ramania pada media kultur jaringan MS (*Murasihge dan Skoog*) dengan perlakuan 2,4 D semua menghasilkan kalus yang bertekstur kompak. Penggunaan auksin 2,4 D dapat mempengaruhi pertumbuhan kalus pada eksplan daun ramania (*Bouea macrophylla Griffith*). Konsentrasi hormon 2,4 D yang tepat untuk pertumbuhan eksplan daun *Ramania* adalah perlakuan pertama dengan konsentrasi 0,8 gr, kalus yang dihasilkan paling banyak dan paling cepat pertumbuhannya (hari ke 24).

Kata Kunci: *Ramania*; Eksplan; Hormon 2,4 D; In Vitro

Penulis untuk korespondensi, surel: yudaagus792@gmail.com

PENDAHULUAN

Ramania atau dikenal dengan nama Gandaria dengan nama latinnya (*Bouea macrophylla Griffith*), tumbuhan ini merupakan bagian dari famili Anacardiaceae. *Ramania* adalah pohon buah tropis asli Asia Tenggara dan dibudidayakan di kawasan ASEAN yaitu (Malaysia, Thailand, dan Indonesia). *Ramania* di Indonesia terletak didaerah di Kalimantan,

Jawa, Sumatera dan juga Ambon (Indiyani, 2018). Daerah yang masih bisa menemukan buah ramania ini salah satunya Kalimantan Selatan. Buah *Ramania* sering dimakan segar, digunakan sebagai bahan sambal, untuk bahan sirup atau juga manisan (Tanasale, 2011). Buah ini memiliki khasiat yang sangat baik untuk dikonsumsi dan mengandung antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa yang memiliki fungsi untuk menghalang dan memperbaiki kerusakan sel dalam tubuh (Tri, 2017).

Ekstrak metanol buah *Ramania* memiliki kaya akan vitamin C, alkaloid, antrakuinon, flavonoid, fenol total, saponin tanin, dan sterol triterpen (Sukalingam, 2018). Menurut Sheeba (2010) pada penelitiannya menyebutkan bahwa, senyawa kimia dalam jaringan tanaman seperti alkaloid, flavonoid, glikosida, tanin, resin, minyak atsiri, asam lemak, senyawa karbon, hidrogen, oksigen dan garam nitrogen memiliki efek fisiologis pada tubuh manusia. *Ramania* memiliki khasiat dan manfaat bagi tubuh dan kesehatan, sehingga perlu dibudidayakan dan diproduksi. Kultur jaringan adalah cara untuk menghasilkan anakan tanaman atau bibit, dalam angka jumlah yang banyak dan memiliki kualitas yang sehat dan baik.

Perbanyak tanaman dengan cara *in vitro* termasuk proses mempertahankan dan menumbuhkan suatu jenis (protoplas, sel, kalus) dengan bagian dari tanaman yang meliputi (pucuk/lateral, daun, batang, embrio, dan akar) dalam keadaan steril atau aseptik (Hartmann *et al.*, 1997; George *et al.*, 2007). Metode *in vitro* sering dipakai untuk suatu keperluan, seperti: Reproduksi tanaman, perubahan genotipe tanaman, metabolit sekunder dan produksi biomassa, konservasi plasma nutfah, penelitian penyakit tanaman, dan penelitian ilmiah lainnya.

Zat pengatur pertumbuhan dan pemilihan tanaman yang ditanam pada media kultur merupakan keterampilan penting yang dimiliki pertumbuhan dan perkembangan eksplan sebagai bibit baru. (Suryowinoto, 2011). Zat penumbuh auksin yang digunakan adalah 2,4 D (*Asam Dikloropenoksiasetat*) karena memiliki tingkat pembentukan kalus dan pertumbuhan kultur embrio yang lebih tinggi dibandingkan dengan auksin lainnya (Sianipar *et al.*, 2007). Konsentrasi 2,4 D pada tanaman dikotil yang menunjukkan pertumbuhan kalus adalah 0,001 hingga 2,0 mg/L (George and Sherrington, 1984 and Imam Mahadi 2014).

Hormon 2,4 D termasuk salah satu hormon auksin yang merangsang pembelahan sel dan proliferasi sel (Mahadi, 2014). Auksin memiliki

peran untuk menginspirasi pembagian sel yang terlihat pada tunas kayu dan mengakibatkan pertumbuhan seni baru. Penambahan auksin yang stabil seperti 2,4-D membuat pertumbuhan menjadi meningkat (Wetherell, 2010). Penggunaan Zat Pengatur Tumbuh 2,4-D dalam pertumbuhan atau disebut juga penginduksian kalus embriogenik telah diujicobakan pada beberapa spesies tanaman.

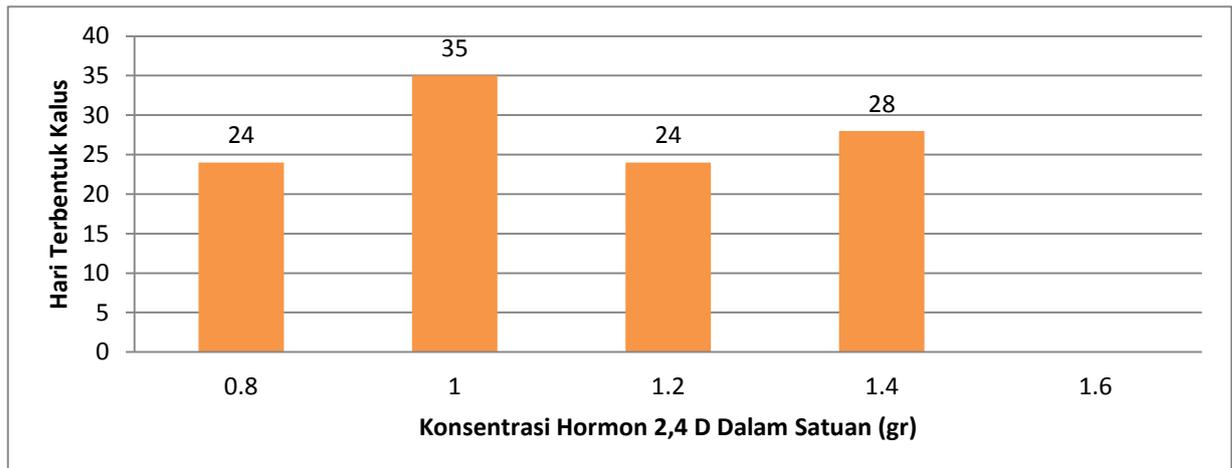
METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium kultur jaringan BPDASHL BARITO kota Banjarbaru Provinsi Kalimantan Selatan. Waktu yang diperlukan \pm 4 bulan dari bulan September – Desember 2022, yang meliputi kegiatan persiapan, pelaksanaan penelitian, pengolahan data dan membuat laporan. Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Gelas *becker* / *erlenmeyer*, Gelas piala, Neraca analitik, Spatula, Indikator pH / lakmus, Pipet ukur/pipet tetes, Kompor, *Autoclave*, oven, Botol untuk kultur, LAF (*Laminar Air Flow*) / Enkas, Pinset, Petridish, Api bunsen, *Hot plate* dan *magnetic stirrer*, Sprayer. Bahan yang diperlukan untuk penelitian ini ialah eksplan daun *ramania*, media kultur MS (*Murasihge dan Skoog*), hormon atau zat pengatur tumbuh 2,4-D (*Asam Dikloropenoksiasetat*), dan bahan kimia lain.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hari Mulai Terbentuknya Kalus

Berdasarkan penelitian yang sudah dijalankan selama ini memperoleh hasil dari pengamatan yaitu pada hari 24–35 dari penanaman eksplan daun *Ramania* (*Bouea macrophylla Griffith*), data tersebut dapat dilihat dalam Gambar 1 yang berada dibawah ini.

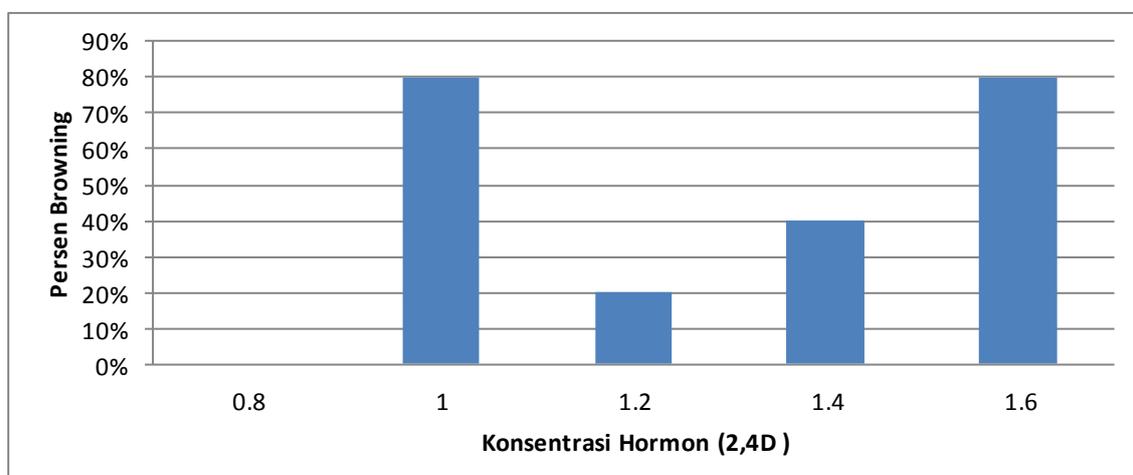


Gambar 1. Hari Terbentuk Kalus

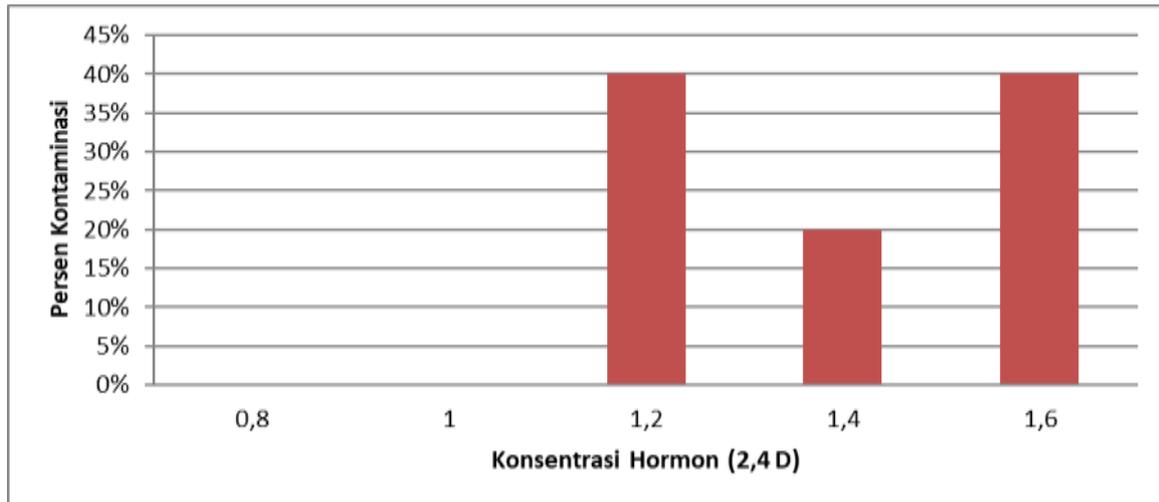
Pertumbuhan dan Perkembangan Kalus Pada Eksplan Ramania

Pengamatan yang dilakukan mendapatkan hasil bahwa perkembangan dan pertumbuhan mulai terlihat pada minggu ke 5 setelah penanaman. Menurut penelitian yang telah dilakukan Chairani Siregar (2006), ataupun pada penelitian sebelumnya rata-rata kalus mulai tumbuh pada minggu ke 2 atau ke 3, maka dari itu pengamatan dilakukan selama 5 minggu atau 35 hari. Pada penelitian yang sudah dilakukan ini kalus yang merespon tumbuh dipengaruhi oleh penambahan hormon 2,4-D yang digunakan dengan konsentrasi 0,8 gr dan 1,2 gr dapat menumbuhkan kalus cukup cepat jika dibandingkan dengan konsentrasi hormon yang lain. Meskipun demikian tidak semua eksplan yang dikulturkan dapat membentuk kalus. Hal ini menunjukkan bahwa untuk

induksi kalus dibutuhkan 2,4-D dengan konsentrasi yang relatif tinggi, namun tidak semua tanaman yang dikultur membutuhkan auksin yang tinggi. Hasil dari penelitian ini pada eksplan daun ramania hanya membutuhkan konsentrasi hormon yang sedikit untuk merangsang pertumbuhan kalus. eksplan daun ramania mulai merespon dari pembentangan eksplan sudah masuk ke-14 hari sampai ke-24 hari setelah melakukan tanam, pada hari ke-24 adalah munculnya kalus pada eksplan. Pembentukan kalus eksplan ramania terbentuk dari inisiasi sel-sel disekitar jaringan pengangkut yang mengalami pembelahan dan multiplikasi. Kalus pada penelitian ini berbentuk bulat dan ada memanjang, serta ukurannya yang sangat kecil. Terdapat juga eksplan yang mengalami *Browning* dibagian sisi daun, dan *Browning* pada seluruh permukaan daun.



Gambar 2. Persentase Browning



Gambar 3. Persentase Kontaminasi

Berdasarkan perlakuan kedua gambar di atas dapat dilihat perbandingan dari gambar 2 dan gambar 3 bahwa tingkat *Browning* sangat tinggi dibandingkan dengan tingkat kontaminasi. Pemberian hormon 2,4 D dengan konsentrasi 1,2 gr termasuk yang terbaik selain dari konsentrasi 0,8 gr dan dibandingkan dengan konsentrasi lainnya, karna pertumbuhannya termasuk paling cepat pada hari ke 24, dan memiliki tingkat *Browning* yang rendah, karna genetik, penggunaan bahan kimia yang berlebihan, dan kandungan getah yang banyak, meskipun tingkat kontaminasinya paling tinggi yaitu 40%. Kontaminasi tersebut diakibatkan dari eksplan tersebut ataupun dipengaruhi dari lingkungan sekitar yang tidak bersih atau tidak steril.

Menurut Lestari Admojo dan Ari Indrianto (2016) *Browning* biasanya disebabkan oleh senyawa fenolik yang sering muncul dan terakumulasi ketika bahan-bahan tersebut berbahaya, yang biasanya dilakukan dengan aktivasi enzim *Polyphenol Oxidase* (PPO). Kerusakan organ dapat menyebabkan ketidakseimbangan metabolisme ROS (*Reactive Oxygen Species*), peroksidasi membran lipid, dan hilangnya integritas membran sel yang dapat memicu akumulasi senyawa fenolik dan menyebabkan perubahan warna menjadi coklat.

Mengatasi *Browning* pada kultur dengan jenis tanaman berkayu dapat dilakukan antara lain dengan menambahkan senyawa antioksidan seperti asam askorbat, memodifikasi lingkungan kultur dengan menempatkannya di ruang gelap total, subkultur berulang kali atau dengan

merendamnya dalam cairan seperti karbon aktif dan sukrosa. Dalam beberapa kasus, satu jenis perawatan pencegah pencoklatan seringkali tidak cukup efektif, sehingga terkadang perlu dilakukan kombinasi perawatan.

Tingkat kontaminasi ada eksplan paling tertinggi hanya 40% yaitu pada perlakuan ketiga dan 20% pada perlakuan keempat dan kelima. Kontaminasi muncul pada 1 eksplan dan menyebar ke seluruh tanaman dalam botol, tidak hanya itu kontaminasi juga muncul pada media. Kontaminasi dapat berasal dari eksplan (internal dan eksternal), partikel kecil yang masuk ke media, labu atau alat kultur kecil yang tidak bersih, area kerja kecil yang tidak bersih di ruang kultur (spora dan udara). Spesies jamur mengendalikan kontaminasi dalam kultur jaringan lebih dari mikroba lainnya. (Lestari Admojo et Ari Indrianto, 2016).

Ciri Morfologis Kalus Yang Terbentuk

Perlakuan pertama dengan menggunakan hormon 2,4-D pada konsentrasi 0,8 g selama 5 minggu, memastikan bahwa kalus yang dihasilkan berukuran kecil dan tidak dapat bertahan lama, meskipun pada konsentrasi ini kalus yang dihasilkan aplikasi cepat dan banyak. Hal ini juga berlaku pada konsentrasi 1,2 g yang menghasilkan pertumbuhan kalus lebih cepat jika dibandingkan dari ketiga perlakuan lainnya. Oleh karena itu, menunjukkan bahwa kalus dengan penambahan hormon 2,4-D dengan takaran 0,8 g dan 1,2 g, dihasilkan perkembangan pertumbuhan kalus yang lebih baik dan yang

lebih cepat dari perlakuan lainnya, meskipun tidak bertahan lama karena kurangnya hormon yang diberikan untuk dapat tumbuh dan berkembang, bahwa kalus yang tumbuh tidak maksimal.

Kalus yang terbentuk dari daun ramania pada media (*Murasihge dan Skoog*) dengan menambahkan zat pengatur tumbuh atau hormon 2,4-D dengan 5 perlakuan, semuanya mendapatkan kalus dengan bertekstur yang sama yaitu bertekstur kompak dan memiliki warna putih. Kondisi *in vitro* yang mendukung pertumbuhan tanaman yaitu adanya unsur hara dan sukrosa dalam jumlah yang tinggi, kelembaban yang tinggi dan suhu yang hangat dapat merangsang pertumbuhan mikroorganisme yang berkembang biak dan tumbuh dengan cepat sehingga menurunkan pH dan akhirnya mati. Kontaminasi yang kadang terjadi ketika banyak biakan negatif karena kontaminasi yang tetap berada di dalam jaringan sampai kondisinya baik untuk pertumbuhannya. Kontaminasi juga dapat disebabkan karna tutup pada botol yang digunakan pada saat tanam yang tidak kencang atau rapat sehingga mengakibatkan mikroorganisme masuk kedalam botol (Zulkarnain, 2014).

Media kultur dan sumber makanan bagi tumbuhan juga sangat bermanfaat untuk perkembangan jamur dan bakteri. Mikroorganisme akan dimulai dengan penyebaran yang cepat dan segera akan menutup bagian media pada kultur dan eksplan tersebut. Mikroorganisme tersebut menyerang eksplan dengan adanya luka akibat dari pemotongan dan penanganan pada waktu sterilisasi yang mengakibatkan eksplan mati. Berikut sumber kontaminasi akibat mikroorganisme yang terjadi dalam kultur jaringan adalah:

1. Proses sterilisasi eksplan atau alat yang tidak memadai,
2. Tempat kerja di sistem pabrik tidak berhati-hati dan efisien,
3. Eksplan, internal dan eksternal,

Serangga atau mahluk kecil yang berhasil masuk ke dalam botol kultur setelah ditempatkan di ruang kultur (Zulkarnain, 2014). Berdasarkan penelitian yang dilakukan terdapat kendala salah satunya adanya kontaminasi dari sebagian eksplan yang telah dilakukan secara *in vitro*, tetapi mengalami kegagalan sehingga harus menguji ulang.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Pengamatan dari penelitian yang sudah dilakukan dapat disimpulkan seperti berikut ini, Penggunaan hormon 2,4 D pada eksplan daun ramania dengan konsentrasi hormon 0,8 gr dan 1,2 gr dapat cepat tumbuh dibandingkan dari pemberian hormon yang lainnya. Eksplan mulai merespon pada minggu ke 5 dan mulai hari ke 24 sampai 35. Tingkat *Browning* lebih tinggi daripada tingkat kontaminasi, yang menyebabkan ketidakeseimbangan metabolisme pada eksplan dan juga terdapat adanya eksplan yang terkontaminasi sehingga harus melakukan pengujian ulang.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap pengembangan budidaya ramania (*Bouea macrophylla Griffith*) dengan penambahan konsentrasi yang dapat dikombinasikan dengan hormon yang lain. Perlunya lingkungan yang harus steril sehingga eksplan tidak mengalami *browning* dan kontaminasi yang menyebabkan pengujian ulang.

DAFTAR PUSTAKA

- George, Edwin F., Michael A. Hall, and Geert-Jan De Klerk, eds. 2007. *Plant propagation by tissue culture: volume 1. The background*. Vol. 1. Springer Science & Business Media
- Harsono Tri. 2017. *Tinjauan Ekologi Dan Etnobotani Gandaria (Bouea macrophylla Griffith)*. Jurnal Biosains Vol. 3 No. 2. Jurusan Biologi FMIPA Unimed, Jl. Willem Iskandar Psr V Medan Estate. Sumatera Utara.
- Indrianto, A, & Lestari, A. 2016. *Pencegahan Browning Fase Inisiasi Kalus Pada Kultur Midrib Daun Klon Karet (Hevea Brasiliensis Muell. Arg) Pb 330*. Jurnal Penelitian Karet, 2016, 34 (1) : 25-34..
- Mahadi Imam, dan Syafi'i Wan, Sari Yeni. 2016. Pengaruh Pemberian Hormon 2,4-D Dan Bap Terhadap Pertumbuhan Kalus

- Jeruk Kasturi (*Citrus microcarpa*). *Jurnal Biogenesis* Vol. 12 (2): 99 – 104.
- Sheeba, E. 2010. Antibacterial activity of *Solanum surattense* Burm. F. *Kathmandu University Journal of Science, Engineering and Technology*, 6(1), 1–4.
- Siregar, C. 2006. Penggunaan 2,4 D Untuk Inisiasi Kalus Jaringan Nucellus (*Mangifera odorata* Griff). Melalui Budidaya Jaringan. *J. Floratek 2* :69 – 77.
- Sukalingam, K. 2018. Preliminary phytochemical analysis and in vitro antioxidant properties of Malaysian 'Kundang' (*Bouea macrophylla* Griffith). *Journal of Food Biochemistry*, 43(6), 261–266.
- Vilma L. Tanasale. 2011. Kajian Agronomi Dan Pemanfaatan Buah Gandaria (*Bouea macrophylla*.Griff). *Jurnal Ilmiah agribisnis dan Perikanan (agrikan UMMU-Ternate) Volume 4 Edisi 2*.
- Wetherell. D.F. 1982. *Pengantar Propagasi Tanaman secara In Vitro*. Terjemahan Koensoemardiyah S. Wayne, New Jersey: Avery Publishing Group inc.
- Zulkarnain, 2014. *Dasar-dasar Hortikultura*. Jakarta: Bumi Aksara