

PENGARUH PERMBERIAN HORMON IBA TERHADAP PERTUMBUHAN EKSPLAN DAUN TANAMAN KASTURI (*Mangifera casturi*) SECARA *IN VITRO*

*The Effect of IBA Hormone Permission of Kasturi (Mangifera casturi) Plant Leaf
Exploan in Vitro*

Akhmad Noor Hidayat¹⁾, Adistina Fitriani¹⁾, Damaris Payung¹⁾, Yulianto Syahid²⁾,
dan Sigit Kristyanto²⁾

Program Studi Kehutanan

1) Fakultas Kehutanan Universitas Lambung Mangkurat

2) Labolatorium Kultur Jaringan BPDAS Barito

ABSTRACT. *Kasturi (Mangifera casturi) is an identity manga plant of South Kalimantan flora that is almost extinct. Kasturi preservation can be done in vitro, which is an efficient species propagation technique. The in vitro method is an aseptic culture of cells, tissues, organs and their components that have the same function and form. This study aims to determine the effect of IBA hormone administration and the right concentration of IBA (Indole Butyris Acid) hormone on the explants of kasturi (Mangifera casturi) leaf growth in vitro. The dose of IBA hormone used is 0.8 mg; 1.0 mg; 1.2 mg; 1.4 mg; and 1.6 mg with 5 replicates each. The results of the study are quantitative data and qualitative data. Quantitative data are the days of callus formation on explants obtained from observations in the laboratory, recorded and recapitulated. As for qualitative data in the form of explant characteristics which include (color, texture, and size) are described based on the results of the study. The results of this study are the use of auxin IBA gives a response to callus growth in kasturi leaf explants (Mangifera casturi) and the fastest concentration of IBA hormone that is appropriate for the growth of kasturi leaf explants is the first treatment with a concentration of 1 gram with the most callus produced, the fastest growth and free from browning.*

Keywords: IBA Hormone; Kasturi (*Mangifera casturi*) Explants; In Vitro

ABSTRAK. Kasturi (*Mangifera casturi*) merupakan tumbuhan manga identitas flora Kalimantan Selatan yang hampir punah. Pelestarian kasturi dapat dilakukan secara *in vitro* yaitu teknik perbanyakan spesies secara efisien. Metode *in vitro* adalah kultur aseptik sel, jaringan, organ dan komponennya yang memiliki fungsi dan bentuk yang sama. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian hormon IBA dan konsentrasi hormon IBA (*Indole Butyris Acid*) yang tepat terhadap eksplan pertumbuhan daun kasturi (*Mangifera casturi*) secara *in vitro*. Takaran hormon IBA yang digunakan yaitu 0,8 mg; 1,0 mg; 1,2 mg; 1,4 mg; dan 1,6 mg dengan masing-masing 5 ulangan. Hasil penelitian berupa data kuantitatif dan data kualitatif. Data kuantitatif merupakan hari mulai terbentuknya kalus pada eksplan yang diperoleh dari pengamatan di laboratorium, dicatat dan direkapitulasi. Sedangkan untuk data kualitatif berupa karakteristik eksplan yang meliputi (warna, tekstur, dan ukuran) dideskripsikan berdasarkan hasil penelitian. Hasil dari penelitian ini yaitu penggunaan auksin IBA memberikan respon pertumbuhan kalus pada eksplan daun kasturi (*Mangifera casturi*) dan Konsentrasi hormon IBA yang tercepat yang tepat untuk pertumbuhan eksplan daun kasturi adalah perlakuan pertama dengan konsentrasi 1 gram dengan kalus yang dihasilkan paling banyak, paling cepat pertumbuhannya dan bebas dari *browning*.

Kata kunci: Hormon IBA; Eksplan kasturi (*Mangifera casturi*); In Vitro

Penulis untuk korespondensi, surel: afitriani@ulm.ac.id

PENDAHULUAN

Kasturi (*Mangifera casturi*) merupakan jenis tumbuhan manga yang menjadi identitas flora Kalimantan Selatan. Spesies kasturi diklasifikasikan menjadi *red list categories* oleh *International Union for Conservation of*

Nature (IUCN). Menurutnya kasturi berada dalam kondisi punah in situ atau *Extinct in the wild* (EW). Kasturi banyak dimanfaatkan sebagai bahan bangunan dan maraknya eksploitasi hutan menyebabkan penurunan jumlah individu, populasi dan keanekaragaman genetic di habitat aslinya.

Pelestarian kasturi dapat dilakukan secara *in vitro* yaitu teknik perbanyakan spesies dengan efisien. Metode *in vitro* adalah kultur aseptik sel, jaringan, organ dan komponennya yang menghasilkan fungsi dan bentuk yang sama. Tujuan kultur jaringan yaitu untuk melestarikan jenis tanaman baru dengan sifat seperti induknya (Suryowinoto, 1991). Oleh sebab itu teknik kultur jaringan sering disebut kultur *in vitro* dasar kultur jaringan dengan adanya totipotensi sel. Totipotensi meruakan kemampuan yang dimiliki sel apabila diletakkan dalam lingkungan yang cocok akan berkembang menjadi tanaman yang sempurna (Suryowinoto, 1996).

Berdasarkan teori diatas maka penelitian pemberian hormon IBA terhadap eksplan daun kasturi secara *in vitro* dilakukan. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh pemberian hormon IBA (*Indole Butyris Acid*) terhadap pertumbuhan eksplan daun kasturi (*Mangifera casturi*) secara *in vitro*.

METODE PENELITIAN

Pelaksanaan penelitian ini di labolatorium kultur jaringan BPDASHL Barito Kota Banjarbaru Provinsi Kalimantan Selatan dalam periode September-Desember 2022. Alat yang dibutuhkan yaitu gelas *becker*, gelas piala, neraca analitik, spatula, indkator pH, pipet ukur, kompor, *autoklaf*, oven, botol kultur, Laf/Enkras, pinset, petridish, api Bunsen, hot plate dan magnetic sterir dan sprayer. Bahan yang digunakan antara lain eksplan (daun kasturi yang dipotong dengan ukuran ± 1 cm²), media (Medium murashige dan skoog dengan penambahan 30 g/l sukrosa dan 7 g/l agar), bahan kimia (*aquadest*, IBA, deteren, bayclin, tween, bakterisida, fungisida, ppm, alkohol 70%, KOH, HCL dan spritus).

Penelitian ini menggunakan alat dan bahan dalam keadaan steril dengan larutan stok menggunakan komposisi pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi Bahan Kimia pada Larutan Murshage dan Skoog

No	Larutan	Bahan Kimia	Konsentrasi Per liter media(g/l)
1	Makro	NH ₄ NO ₃	1,65
		KNO ₃	1,90
		MgSO ₄ .7H ₂ O	0,37
		KH ₂ PO ₄	0,17
		CaCl ₂ .2H ₂ O	0,44
		H ₃ BO ₃	0,62
2	Mikro	MnSO ₄ .H ₂ O	1,69
		ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,86
		KL	0,083
		Na ₂ MoO ₄ .7H ₂ O	0,025
		CuSO ₄ .5H ₂ O	0,0025
		CoCl ₂ .6H ₂ O	0,0025
3	FeEDTA	FeSO ₄ .7H ₂ O	2,78
		Na ₂ EDTA	3,73
4	Vitamin	Thyamine-HCL	40
		Glycine	200
		Nicotinic Acid	50
		Pyridoxine	50

Langkah berikutnya yaitu persiapan media tanam. Komposisi media Murshage dan

Skoog yang digunakan disajikan dalam Tabel 2.

Tabel 2. Komposisi Media Murshage dan Skoog

No	Nama Larutan Stok/Bahan	Jumlah Pemakaian Larutan Stok Dalam 1 Liter
1	Makro	100 ml
2	Mikro	10 ml
3	FeEDTA	10 ml
4	Vitamin	1 ml
5	Myo Inositol	1 ml
6	Gula	30 g
7	PvP	0.02 g
8	Agar	7 g

Setelah media, maka langkah selanjutnya yaitu pengambilan eksplan yaitu bagian daun kedua atau ketiga dengan daun yang tidak terlalu tua dan muda serta bebas hama penyakit. Sebelum diambil akan dilakukan penyemprotan fungisida dan bakterisida setiap 3 hari sekali. Dilanjutkan dengan sterilisasi eksplan untuk menghindari mikroorganisme.

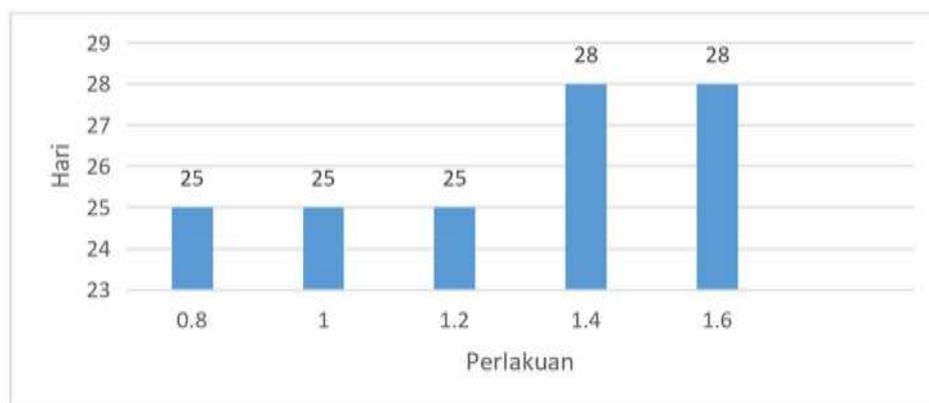
Penelitian ini dilakukan dengan 5 perlakuan menggunakan hormon 2,4 D dan BAP dengan masing-masing 5 kali ulangan. Penambahan hormon IBA yang digunakan yaitu 0,8 mg; 1,0 mg; 1,2 mg; 1,4 mg; dan 1,6 mg. Analisis data menggunakan analisis kuantitatif dan kualitatif. Data kuantitatif berupa hari mulai terbentuknya kalus pada eksplan yang diperoleh dari pengamatan di

laboratorium, dicatat dan direkapitulasi. Sedangkan untuk data kualitatif berupa karakteristik eksplan yang meliputi (warna, tekstur, dan ukuran) dideskripsikan berdasarkan hasil penelitian..

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hari Terbentuknya Kalus

Pengamatan terbentuknya kalus selama 5 minggu pada eksplan daun kasturi (*Mangifera casturi*) dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Hari tercepat terbentuknya Kalus

Setelah melewati tiga minggu pertama respon pertumbuhan mulai terjadi pada beberapa eksplan daun. Kalus muncul pada area bekas potongan daun. Pembentukan kalus eksplan kasturi terbentuk dari inisiasi sel-sel disekitar jaringan pengangkut yang mengalami pembelahan dan multiplikasi. Kalus yang tumbuh dalam penelitian ini berbentuk bulat hingga oval menyerupai tabung serta ukurannya sangat kecil. Berdasarkan Gambar 1 dapat dilihat bahwa

setiap perlakuan memiliki waktu pertumbuhan kalus yang berbeda. Hari tecepat munculnya kalus terdapat pada perlakuan 0,8; 1 dan 1,2 dengan waktu 25 hari sedangkan perlakuan 1,4 dan 1,6 kalus muncul pada hari ke 28. Menurut Rostiana dan Seswita (2007) penambahan IBA yang sesuai dengan keseimbangan kadar auksin yang diperlukan tanaman akan mengoptimalkan pertumbuhan akar. Pemberian zaT pengatur tumbuh (ZPT) yang mengandung auksin akan mempercepat

sintesis protein dan asam nukleat serta mempengaruhi percepatan pembentukan akar baru (Santoso dan Nursandi, 2001). Gambar

1 menunjukkan kalus yang terbentuk pada eksplan daun kasturi selama 5 minggu pengamatan.



Gambar 2. Respon pertumbuhan kalus

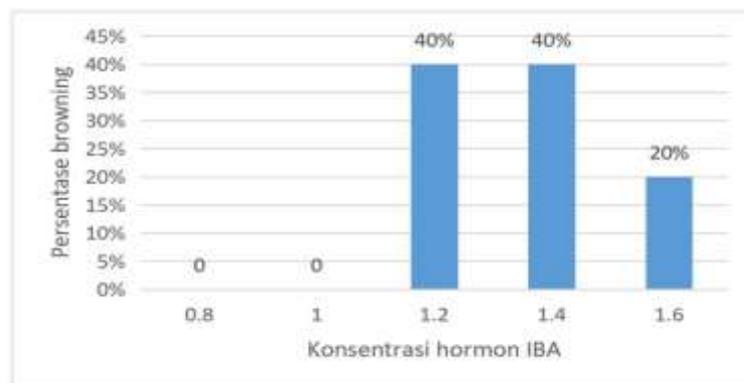
Respon tanaman terhadap pemberian hormon akan berbeda sesuai dengan konsentrasi yang diberikan. Konsentrasi yang terlalu rendah mengakibatkan kerja hormon tidak efektif sedangkan konsentrasi yang terlalu tinggi akan menghambat. Pertumbuhan Kalus setelah pemberian hormon menunjukkan bahwa ZPT IBA memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan kalus dari potongan daun kasturi. Terbentuknya kalus pada hari ke 25 tergolong lambat karena jenis kasturi merupakan jenis tumbuhan *slow growing*. Selain itu, kurang sesuai jenis dan konsentrasi ZPT yang digunakan dalam proses dediferensiasi, pembentangan, pembelahan serta proliferasi sel-sel. Kecepatan proliferasi sel-sel sangat bervariasi yang dipengaruhi oleh jenis dan varietasnya selain pemberian ZPT dan kondisi fisik media (Wilkins dan Dodds, 1983).

Respon pertumbuhan kalus dalam penelitian ini juga dipengaruhi oleh media

tumbuh. Karena media berperan dalam menyediakan unsur hara. Disamping itu, kesterilan dalam proses penanaman akan mempengaruhi pertumbuhan kalus. Menurut Doods dan Roberts (1983) faktor fisik seperti cahaya, temperatur mampu mempengaruhi aktivitas dan ketersediaan hormon yang berakibat dalam proses perkembangan kalus.

Browning pada Kalus

Permasalahan yang umum terjadi dalam kultur jaringan tanaman berkayu adalah *browning* atau pencoklatan pada jaringan. *Browning* terjadi karena senyawa fenolik yang diproduksi dan terakumulasi saat eksplan dirusak. *Browning* di percobaan ini ditemukan pada perlakuan ke-3, perlakuan ke-4 dan perlakuan ke-5. Persentase terjadinya *browning* dalam setiap perlakuan tersaji pada Gambar 3.



Gambar 3. Persentase *browning*

Penambahan senyawa antioksidan seperti asam askorbat mampu meminimalisir terjadinya *browning*. Selain itu, pengurangan *browning* dapat dilakukan dengan penempatan media eksplan dalam ruangan kedap cahaya serta perendaman dalam cairan

arang aktif dan sukrosa. Namun dalam beberapa percobaan satu jenis penanggulangan *browning* saja tidaklah cukup sehingga dibutuhkan kombinasi dari beberapa pencegahan. Eksplan yang terkena *browning* dapat dilihat pada Gambar 4.

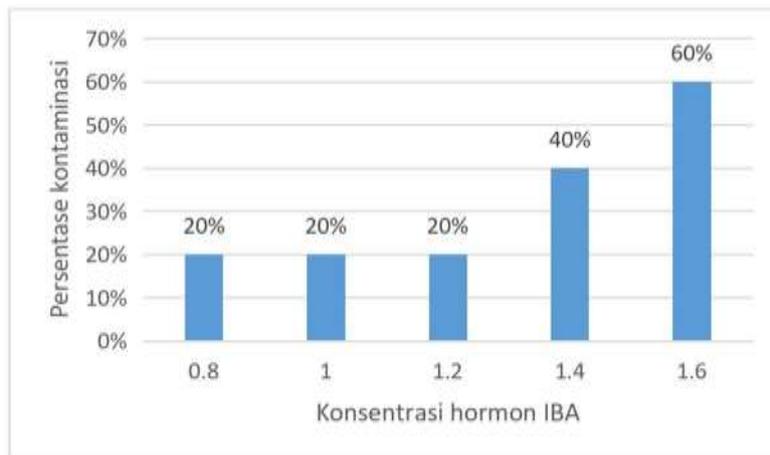


Gambar 4. Eksplan Daun Kasturi mengalami *Browning*

Kontaminasi pada Kalus

Kontaminasi diartikan sebagai terganggunya kondisi lingkungan sekitar akibat kontaminasi dari jamur maupun bakteri

(Adihaningrum & Rahayu, 2019). Kondisi ini merupakan salah satu hampatan yang umum ditemui dalam proses kultur jaringan. Persentase terjadi kontaminasi dalam penelitian ini disajikan di Gambar 5.



Gambar 5. Persentasi kontaminasi

Selain dari eksplan tanaman, kontaminasi dapat berasal dari media kultur, peralatan yang kurang steril dan udara langsung yang masuk saat proses inisiasi. Mikroorganisme utama penyebab kontaminasi yaitu jenis jamur dan bakteri yang terdapat pada permukaan dan dalam jaringan tanaman.

Kondisi *in vitro* yang mendukung pertumbuhan tanaman melalui unsur hara, sukrosa, kelembaban dan suhu yang tinggi mampu mendorong pertumbuhan mikroorganisme sehingga mampu menurunkan pH dan akhirnya eksplan yang dikulturkan mati. Kontaminasi eksplan dapat

terjadi selama proses subkultur maupun melalui tutup wadah yang kurang rapat (Zulkarnain, 2011). eksplan yang

terkontaminasi mikroorganismenya dapat dilihat dalam Gambar 6.



Gambar 6. Eksplan terkontaminasi mikroorganismenya

Media tumbuh yang kurang steril akan menguntungkan mikroorganismenya dalam menyerang eksplan. Melalui luka potongan dan penanganan pada saat sterilisasi, mikroorganismenya akan menutupi media permukaan dan eksplan yang ditanam dan berakibat pada kematian eksplan. Disamping itu, terdapat beberapa mikroorganismenya yang mampu melepaskan senyawa beracun yang dapat menyebabkan kematian jaringan. Sehingga tidak jarang kultur jaringan gagal karena adanya kontaminasi pada eksplan dan media tanam.

Ciri Morfologis Kalus Yang Terbentuk

Terbentuknya kalus dari eksplan daun kasturi pada media MS dengan pemberian hormon IBA menghasilkan kalus yang bertekstur kompak. Kalus dikatakan kompak apabila bentuk kalus yang terbentuk tidak bertumpuk-tumpuk dan apabila diangkat menggunakan pinset tidak akan hancur. Kalus yang terbentuk dalam penelitian ini disajikan dalam Gambar 4.



Gambar 7. Kalus Bertekstur Kompak

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan bahwa penambahan hormon IBA terbaik yaitu sebanyak 1 gr. Takaran hormon tersebut menghasilkan eksplan yang paling cepat tumbuh dan bebas dari *browning* tetapi masih bisa terkontaminasi mikroorganismenya jamur dan bakteri. Namun, kontaminasi dapat dicegah dengan cara sterilisasi yang lebih intens lagi seperti penyemprotan bakterisida

dan fungisida pada tanaman yang ingin diambil, penggojokan menggunakan fungisida dan bakterisida pada eksplan, perendaman ataupun pencegahan lainnya sehingga eksplan dapat terhindar dari kontaminasi jamur dan bakteri.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian ini yaitu penggunaan auksin IBA memberikan respon pada pertumbuhan kalus eksplan daun kasturi (*Mangifera casturi*) dan Konsentrasi hormon IBA sebesar 1 gr adalah yang terbaik, karena kalus yang dihasilkan paling banyak, paling cepat pertumbuhannya dan bebas dari browning.

Saran

Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengetahui berapa takaran IBA yang paling sesuai agar eksplan kasturi (*Mangifera casturi*) dapat tumbuh lebih baik. Sterilisasi eksplan yang lebih mendalam diperlukan untuk menghindari kontaminasi dan pemberian kombinasi perlakuan agar eksplan tidak mengalami browning, selain itu sub kultur terhadap kalus yang sudah tumbuh ke media baru agar dapat berkembang dan diteliti lebih lanjut.

DAFTAR PUSTAKA

- Adihaningrum, H., & Rahayu, T. 2019. *Potensi Biosida Serbuk Pelepah Pisang Kepok Pada Kultur in Vitro Benih Beras Hitam*. Seminar Nasional Pendidikan
- Dodds, J. H., dan Roberts, L. W. 1983. *Experiment in Plants Tissue Culture*. Cambridge University Press. London.
- Rostiana, O., & Seswita, D. 2007. *Pengaruh Indole Butyric Acid Dan Naphtaleine Acetic Acid Terhadap Induksi Perakaran Tunas Piretrum Chrysanthemum cinerariifolium (Trevir.) Vis. Secara in vitro*. Biodiversitas, 8(3), 225-227.
- Santoso. U dan Nursandi, F. 2001. *Kultur Jaringan Tanaman*. Universitas Muhammadiyah Malang. Malang
- Suyowinoto. 1996. *Pemuliaan Tanaman Secara In Vitro*. Yogyakarta: Kanisius
- Suryawinoto. 1991. *Budidaya Jaringan Tanaman Terombosan Bermanfaat dalam Bioteknologi*. Fakultas Biologi. UGM. Yogyakarta
- Wilkins, C. P. and Dodds, J. H. 1983. *Tissue Culture Propagation Of Temperate Fruit Trees dalam J. H. Dodds. Tissue culture of tree*. Avi pub. Co. Inc. Connecticut. Pp. 65, 69
- Zulkarnain, 2011. *Kultur Jaringan Tanaman*. Jakarta: Bumi Aksara.