

**PENGARUH UMUR BUAH DAN JENIS MEDIA TERHADAP INDUKSI EMBRIO SOMATIK  
BIJI MANGGIS (*Garcinia mangostana* L.) DALAM KULTUR *IN VITRO***

*The Effect of Fruit Age and Media on Mangosteen (*Garcinia mangostana* L.)  
Somatic Embryo Induction In vitro Culture*

Fajri Helmi<sup>1</sup> dan Darda Efendi<sup>2</sup>

1) Mahasiswa Departemen Agronomi dan Hortikultura, IPB

2) Staf Pengajar Departemen Agronomi dan Hortikultura, IPB

**Abstract**

*The objective of this research was to study the effect of fruit age as source of mangosteen seed as explants in somatic embryo induction at in vitro culture. The research was conducted at Laboratory of Tissue Culture in Agronomy and Horticulture Department. The first experiment was arranged in a complete randomized two factorial. The first factor was three different medium (MS, B5, and WPM). The second factor was three kinds of fruit age (1½, 2, and 2½ month after antesis). Each medium was combine with picloram 0,1 µM/L. The second experiment was arranged in a complete randomized one factorial. A factor was three different medium (MS, B5, and WPM). This experiment used 3 month old fruit age as source of seed. The result of this experiment showed that MS medium gives the optimal value for embryogenic callus induction. Direct somatic embryo was formed by MS medium + picloram 0,1 µM/L with seed explant from fruit 2½ month old.*

*Keywords : mangosteen seed, somatic embryo, embryogenic callus*

---

**PENDAHULUAN**

**Latar Belakang**

Manggis (*Garcinia mangostana* L.) merupakan tanaman buah berupa pohon yang berasal dari hutan tropis yang teduh di kawasan Asia Tenggara, yaitu hutan belantara Malaysia atau Indonesia. Buahnya dikenal dengan julukan "*Queen of Tropical Fruits*" karena aroma dan rasanya yang lezat serta bentuknya yang eksotis. Tanaman ini memiliki prospek yang cerah sebagai komoditas ekspor. Berdasarkan data dari Badan Pusat Statistik volume ekspor manggis Indonesia pada tahun 2004 adalah 3.045.379 kg dengan nilai US\$ 3.291.855 dan berdasarkan data Departemen Pertanian ekspor manggis Indonesia pada tahun 2005 8.472.770 kg dengan nilai US\$ 6.386.091 (<http://www.rusnasbuah.or.id>).

Pada umumnya tanaman manggis diperbanyak dengan biji. Biji manggis termasuk biji apomiksis sehingga bersifat *true to type* atau identik dengan genetic induknya. Biji apomiksis juga bersifat rekalsitran, sehingga harus segera ditanam sesudah dikeluarkan dari buahnya. Sifat yang rekalsitran ini menyebabkan manggis tidak bisa diperbanyak sepanjang tahun. Masa juvenil tanaman manggis yang berasal dari biji sangat panjang yaitu 12 – 20 tahun (Ashari, 1995).

Perbanyakan manggis dengan cara *in vitro* diharapkan dapat menyediakan bibit manggis secara masal, seragam, dan sepanjang tahun. Telah banyak dilakukan penelitian mengenai mikropropagasi terhadap tanaman manggis ini, baik dalam tahap induksi tunas dari biji, multiplikasi tunas aksilar, induksi perakaran, dan aklimatisasi. Penelitian untuk menguji penggunaan ZPT dan jenis eksplan juga telah dilakukan.

Salah satu teknik *in vitro* yang dapat digunakan untuk penggandaan bibit bermutu dalam jumlah banyak adalah embriogenesis somatik (Purnamaningsih, 2002). Menurut William dan Maheswara (1986), embriogenesis somatik merupakan suatu proses dimana sel-sel somatik (baik haploid maupun diploid) berkembang membentuk tumbuhan baru melalui tahapan perkembangan embrio yang spesifik tanpa melalui fusi gamet.

Mariska (1996), menyatakan bahwa regenerasi melalui embriogenesis somatik memberikan banyak keuntungan, antara lain: waktu perbanyakan lebih cepat, pencapaian hasil dalam mendukung program perbaikan tanaman lebih cepat, dan jumlah bibit yang dihasilkan tidak terbatas jumlahnya. Te-chato *et al.* (2005) menyatakan bahwa penelitian embrio somatik pada manggis sangat penting dalam aplikasi teknik rekayasa sel untuk meningkatkan hasil produksi.

Pertumbuhan kultur dan laju pembentukan tunas dipengaruhi oleh keadaan fisik dari media tanam. Media yang memenuhi syarat adalah media yang mengandung nutrisi makro dan mikro dalam kadar dan perbandingan tertentu serta sumber energi yang pada umumnya menggunakan sukrosa (Wetherel, 1982). Keberhasilan dalam penggunaan metode kultur jaringan sangat bergantung pada media yang digunakan (Gunawan, 1992).

Penelitian terhadap pengaruh berbagai tipe biji manggis berdasarkan umur atau perkembangan buah sebagai sumber eksplan biji pada embriogenesis kultur *in vitro* belum pernah dilaporkan. Secara biologis akan ada perbedaan biji pada setiap tahap perkembangan buah yang dipengaruhi oleh umur buah. Oleh karena itu, perlu diadakan penelitian mengenai pengaruh umur buah terhadap pertumbuhan dan perkembangan eksplan biji manggis dalam kultur *in vitro* untuk menginduksi embrio somatik.

**Tujuan**

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pengaruh umur atau perkembangan buah sebagai sumber eksplan biji manggis dalam induksi embrio somatik pada kultur *in vitro* dengan menggunakan media MS (Murashige dan Skoog), B5, dan WPM (*Woody Plant Medium*).

**Hipotesis**

1. Ada umur buah yang didekati dengan ukuran diameter buah, yang optimal untuk pembentukan dan perkembangan embrio somatik biji manggis.
2. Media MS, B5, dan WPM berpengaruh terhadap pembentukan dan perkembangan embrio somatik biji manggis.

**BAHAN DAN METODE**

**Waktu dan Tempat**

Penelitian dilakukan di laboratorium kultur jaringan tanaman Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor. Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari sampai dengan Agustus 2008.

**Bahan dan Alat**

Bahan yang digunakan sebagai bahan eksplan dalam penelitian ini adalah biji manggis yang berasal dari buah yang diambil langsung dari pohonnya di daerah Wanayasa-Purwakarta, Jawa Barat, media tumbuh MS (Murashige dan Skoog), B5, dan WPM (*Woody Plant Medium*), agar sebagai bahan pematat, sukrosa, zat pengatur tumbuh tanaman picloram, zat anti pencoklatan polyvinylpyrrolidone (PVP), sterilan (klorox, alkohol 70%, agrept, dithane, dan air steril).

Alat yang digunakan terdiri dari peralatan gelas (botol kultur, botol ukur, gelas piala, cawan petri, gelas ukur, dan corong gelas), kompor, autoklaf, *laminar airflow cabinet*, peralatan diseksi seperti pinset, gunting, dan scalpel, pH meter, lampu spiritus, botol sprayer, rak kultur, dan karet gelang. Pada saat kultur tanaman diperlukan rak dan ruang kultur bersuhu 18-21°C.

### Metode Penelitian

Penelitian ini tersusun dalam dua percobaan sebagai berikut:

#### Percobaan I. Pengaruh Umur Buah dan Jenis Media terhadap Induksi Embrio Somatik

Rancangan percobaan yang digunakan dalam percobaan I adalah rancangan perlakuan dua faktor dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL). Faktor pertama adalah umur buah yang didekati dengan ukuran diameter buah, dengan 3 taraf yaitu: (A) 1½ bulan ( $2,5 \leq D < 3,5$  cm), (B) 2 bulan ( $3,5 \leq D < 4,5$  cm), dan (C) 2½ bulan ( $4,5 \leq D < 5,5$  cm). Faktor kedua adalah jenis media dengan 3 taraf yaitu : media **MS**, **B5**, dan **WPM**. Jadi terdapat 9 kombinasi perlakuan dengan 6 ulangan untuk masing-masing perlakuan dengan tiap ulangan (1 botol kultur) terdiri dari 4 eksplan, sehingga terdapat 54 satuan percobaan.

Uji statistik yang digunakan yaitu analisis sidik ragam dan uji lanjut Duncan's Multiple Range Test (DMRT).

Model rancangan yang digunakan adalah :

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

$Y_{ijk}$  = respon pengaruh umur buah taraf ke-i dan jenis media pada taraf ke-pada ulangan ke-k

$\mu$  = pengaruh rata-rata umum

$\alpha_i$  = pengaruh perlakuan umur buah pada taraf ke-i

$\beta_j$  = pengaruh perlakuan jenis media pada taraf ke -j

$(\alpha\beta)_{ij}$  = pengaruh interaksi antara umur buah taraf ke-i dan jenis media taraf ke-j

$\epsilon_{ijk}$  = galat pada perlakuan umur buah taraf ke-i dan jenis media taraf ke-j pada ulangan ke-k

$i = 1,2,3$

$j = 1,2,3$

$k = 1,2,3,4,5,6$

#### Percobaan II. Pengaruh Jenis Media terhadap Induksi Embrio Somatik

Percobaan II disusun menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) faktor tunggal yaitu jenis media terdiri dari 3 taraf, media **MS**, **B5**, dan **WPM**. Jadi terdapat 3 perlakuan dengan 10 ulangan (1 botol kultur) untuk masing-masing perlakuan dengan tiap ulangan terdiri dari 4 eksplan, sehingga terdapat 30 satuan percobaan. Eksplan diperoleh dari buah berumur 3 bulan yang didekati dengan ukuran diameter lebih dari atau sama dengan 5,5 cm. Model rancangan yang digunakan adalah :

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \epsilon_{ij}$$

$Y_{ij}$  = respon pengaruh umur buah taraf ke-i pada ulangan ke-j

$\mu$  = pengaruh rata-rata umum

$\alpha_i$  = pengaruh perlakuan umur buah pada taraf ke-i

$\epsilon_{ij}$  = galat pada perlakuan umur buah taraf ke-i pada ulangan ke-j

$i = 1,2,3$

$j = 1-10$

### Pelaksanaan

#### Sterilisasi Botol dan Alat Tanam

Botol dan alat tanam yang akan dipergunakan sebelumnya dicuci bersih dengan menggunakan air bersih kemudian disterilkan dalam autoklaf pada temperatur 121°C dengan tekanan 17,5 Psi selama 1 jam. Perhitungan waktu pemanasan dimulai setelah tekanan yang diinginkan tercapai. Alat-alat tanam yang perlu disterilkan sebelum penanaman adalah pinset, scalpel, pisau tanam, dan cawan petri.

### Pembuatan Larutan Stok

Pembuatan larutan stok bertujuan untuk memudahkan pembuatan media. Larutan stok dibuat sesuai dengan komposisi media MS, WPM, dan B5 yang disimpan dalam erlenmeyer dengan konsentrasi yang lebih pekat dalam suhu kamar. Pembuatan larutan stok zat pengatur tumbuh picloram (golongan auksin) menggunakan NaOH 1 N sebagai pelarut awal. Selanjutnya ditambahkan aquades sesuai volume yang diinginkan. Larutan stok ini disimpan dalam lemari es.

#### Pembuatan Media Kultur

Media MS, B5, dan WPM dibuat dari larutan stok yang sudah tersedia ditambah picloram 0,1 µM/L media, PVP 1,39 mM/L media, dan gula 30 g/L media, kemudian ditambahkan aquades hingga volume mencapai 1L. Media diatur hingga derajat kemasamannya (pH) 5,8. Penambahan dan pengurangan pH dilakukan dengan penambahan KOH 1N atau HCL 1N hingga mencapai pH yang diinginkan. Media yang telah diatur pHnya ditambahkan agar-agar sebanyak 7 g/L lalu dimasak hingga larut. Media dituangkan ke dalam botol-botol kultur steril yang telah dipersiapkan masing-masing 20 ml untuk setiap botolnya. Botol segera ditutup rapat dengan menggunakan plastik dan diikat dengan karet gelang lalu disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 17,5 Psi selama 30 menit. Selanjutnya botol-botol media tadi disimpan dalam ruang penyimpanan media yang telah dilengkapi dengan pendingin ruangan.

#### Pemilihan buah

Buah yang digunakan adalah yang masih segar, langsung dari pohon sesuai dengan taraf perlakuan. Buah harus berpenampilan baik, dan tidak cacat

#### Sterilisasi buah

Buah manggis muda terlebih dahulu dibuang cupatnya. Kemudian dicuci bersih dan disikat dengan detergen, lalu direndam dalam detergen selama 1 jam. Buah kemudian dicuci kembali dengan air mengalir selama 1 jam. Buah tersebut kemudian direndam dalam dithane dan agrept masing-masing 2 gram/liter selama 1 jam.

Selanjutnya buah dipindahkan ke dalam *Laminar Air Flow Cabinet* dan direndam dalam alkohol selama 10 menit. Kemudian buah direndam ke dalam clorox 25% selama 15 menit, dibilas dengan aquades steril sebanyak 2 kali.

#### Penanaman biji

Penanaman eksplan dilakukan dalam *Laminar Air Flow Cabinet* yang sebelumnya telah dibersihkan dengan menggunakan alkohol 70 % dan disterilkan dengan lampu UV selama 1 jam sebelum penanaman. Semua alat-alat yang akan digunakan dalam proses penanaman, sebelum dimasukkan kedalam laminar disemprot terlebih dahulu dengan menggunakan alkohol 70 %.

Buah dibelah melintang tepat di tengah-tengah sehingga biji di dalam juga ikut terbelah. Kemudian belahan biji yang berukuran besar dibelah dua sehingga diperoleh Empat potongan biji sebagai eksplan dari setiap biji. Empat potongan biji tersebut segera ditanam dalam satu botol media yang telah disiapkan beberapa hari sebelumnya.

Kultur disimpan dalam ruang kultur yang gelap dan bertemperatur 18-24°C. Setiap bulan dilakukan subkultur terhadap semua eksplan. Subkultur dilakukan dengan menggunakan jenis media yang sama setiap perlakuannya.

### Pengamatan

Pengamatan dilakukan terhadap beberapa peubah yaitu :

1. Waktu kalus embriogenik pertama kali terdeteksi
2. Jumlah eksplan yang membentuk kalus embriogenik
3. Jumlah eksplan yang membentuk embrio somatik

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Keadaan Umum

Pada percobaan I, biji pada buah yang berumur 1½ bulan sebagian besar masih sangat kecil berwarna putih dan belum memenuhi seluruh mantel biji. Sedangkan pada buah berumur 2, 2½ dan 3 bulan (percobaan II) biji umumnya sudah memenuhi mantel biji secara penuh. Pada buah berumur 1½ dan 2 bulan mantel biji belum menempel dengan daging buah sedangkan pada buah yang berumur 2½ dan 3 bulan mantel biji umumnya telah menempel dengan daging buah.

Pada beberapa ulangan pencoklatan media dan eksplan mulai terjadi pada 1 MST sehingga dilakukan subkultur pada ulangan-ulangan tersebut. Kontaminasi juga mulai terjadi pada 1 minggu setelah tanam (MST). Penyebab kontaminasi diduga berasal dari cendawan dan bakteri yang tumbuh pada media dan eksplan. Kontaminasi oleh bakteri terlihat oleh perubahan warna media menjadi putih keruh seperti susu. Kontaminasi yang disebabkan oleh cendawan ditandai dengan adanya spora pada media dan eksplan. Kontaminasi oleh bakteri terjadi pada 1 MST sampai 2 MST. Mulai 3 MST kontaminasi disebabkan oleh cendawan.

Pada percobaan I, peubah jumlah eksplan yang diindikasikan membentuk kalus embriogenik menunjukkan bahwa media memberikan pengaruh sangat nyata. Umur buah serta interaksi antara media dan umur buah tidak memberikan pengaruh nyata (Tabel 1). Indikasi pembentukan embrio somatik hanya terjadi pada perlakuan media MS dengan umur buah 2½ bulan ulangan kedua.

Pada percobaan I maupun percobaan II cukup banyak eksplan yang membentuk kalus seperti kapas yang berwarna putih namun kemudian setelah beberapa waktu berubah menjadi coklat. Hal ini juga dilaporkan oleh Qosim (2006), menyatakan bahwa pada kultur biji manggis terdapat kalus yang muncul dari bagian segmen biji bekas pelukaan, kalus berwarna putih, strukturnya sangat remah, rapuh dan cepat mengering. Induksi akar juga terjadi pada beberapa perlakuan. Pada percobaan II perlakuan B5 dan WPM menunjukkan adanya induksi mirip tunas setelah 5 MST.

Tabel 1. Rekapitulasi Sidik Ragam Pengaruh Media dan Umur Buah terhadap Peubah Jumlah Eksplan Yang Diindikasikan Membentuk Kalus Embriogenik pada Percobaan I

Peubah	Waktu (MST)	Media	Umur Buah	Interaksi	KK (%)
∑ Eksplan yang diindikasikan membentuk kalus embriogenik	6	**	tn	tn	35,58
	12	**	tn	tn	48,75
	18	**	tn	tn	49,64
	23	**	tn	tn	47,51
Waktu kalus embriogenik pertama kali terdeteksi***		tn	tn	tn	84,95
∑ Eksplan membentuk embrio somatik***					

Keterangan :

data di atas ditransformasi dengan  $\sqrt{(x + 3/8)}$

tn = tidak nyata berdasarkan uji F pada taraf 5 %

\* = nyata berdasarkan uji F pada taraf 5 %

\*\* = sangat nyata berdasarkan uji F pada taraf 1 %

\*\*\* = data pengamatan tidak diuji dengan analisis ragam/uji lanjut

### Waktu Kalus Embriogenik Pertama Kali

#### Terdeteksi

#### Percobaan I

Perlakuan dengan menggunakan media MS pada semua umur buah telah mengindikasikan terbentuknya kalus embriogenik lebih cepat yaitu pada 3 MST (Tabel 2). Perlakuan dengan menggunakan media B5 juga memperlihatkan induksi kalus yang diindikasikan embriogenik pada 3 MST, namun hanya pada satu ulangan yaitu ulangan ke-2 pada umur buah 1½ bulan. Pada perlakuan media WPM induksi kalus yang diindikasikan sebagai kalus embriogenik mulai terlihat pada 14 MST, yaitu pada umur buah 2½ bulan ulangan ke-4.

Media MS lebih baik dalam mempercepat waktu munculnya kalus yang diindikasikan sebagai kalus embriogenik. Dodds & Robert (1985) menyebutkan bahwa faktor kimia terpenting dalam media induksi embriogenesis somatik adalah auksin dan nitrogen tereduksi. Diduga karena nitrogen pada media MS lebih tinggi konsentrasinya dibandingkan media B5 dan WPM maka media MS mampu mempercepat waktu munculnya kalus yang diindikasikan sebagai kalus embriogenik.

Tabel 2. Pengaruh Media dan Umur Buah terhadap Waktu (MST) Kalus yang Diindikasikan sebagai Embriogenik Pertama Kali Terdeteksi pada Percobaan I

Media	Ulangan	Umur Buah (Bulan)		
		1½	2	2½
MS	1	4	4	4
	2	6	-	4
	3	-	4	4
	4	19	19	4
	5	3	3	3
	6	-	-	3
B5	1	-	-	9
	2	3	-	7
	3	-	-	-
	4	-	-	-
	5	-	-	-
	6	-	-	-
WPM	1	-	-	18
	2	-	-	-
	3	-	-	-
	4	-	-	14
	5	-	-	-
	6	19	19	-

### Percobaan II

Percobaan II menggunakan biji yang berasal dari buah berumur 3 bulan, kalus yang diindikasikan sebagai kalus embriogenik sudah mulai terlihat pada 2 MST, yaitu pada perlakuan media MS dan B5. Media WPM baru mulai terlihat pada 4 MST. Hal ini menunjukkan bahwa pada perlakuan umur buah 3 bulan, ternyata kalus lebih cepat terbentuk dibandingkan umur buah 1½, 2, dan 2½ bulan, hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Vesco dan Guerra (2001) yang menunjukkan bahwa penggunaan embrio zigotik dewasa/*mature zygotic embryogenesis* (MZE) pada tanaman Feijoa (*Feijoa sellowiana* Berg) dapat menghasilkan embrio somatik yang lebih banyak dalam waktu yang lebih cepat daripada embrio zigotik muda/*immature zygotic embryogenesis* (IZE).

### Jumlah Eksplan yang Membentuk Kalus Embriogenik

Kalus embriogenik dicirikan oleh sel yang berukuran kecil, sitoplasma padat, inti besar, vakuola kecil-kecil dan mengandung butir pati (Wiendi *et al.*, 1991). Purnamaningsih (2002) menyebutkan bahwa embriogenesis somatik mengalami proses perkembangan morfologi seperti yang terjadi pada embrio zigotik.

**Percobaan I**  
**Pengaruh Media**

Pada percobaan I berdasarkan jumlah eksplan yang diindikasikan membentuk kalus embriogenik (Tabel 3), pengaruh media MS menunjukkan hasil yang paling banyak, mampu menginduksi kalus embriogenik pada semua taraf umur buah. Media MS sangat nyata menginduksi lebih banyak eksplan untuk membentuk kalus yang diduga embriogenik dibandingkan dengan media B5 dan WPM. Hal tersebut diduga karena media MS mengandung nitrogen yang lebih tinggi daripada media B5 dan WPM.

Tabel 3. Pengaruh Media terhadap Rata-rata Jumlah Eksplan yang Diindikasikan Membentuk Kalus Embriogenik

Media	Waktu Pengamatan			
	6 MST	12 MST	18 MST	23 MST
MS	1,222 <sup>a</sup>	2,056 <sup>a</sup>	2,056 <sup>a</sup>	2,278 <sup>a</sup>
B5	0,056 <sup>b</sup>	0,222 <sup>b</sup>	0,278 <sup>b</sup>	0,333 <sup>b</sup>
WPM	0,000 <sup>b</sup>	0,000 <sup>b</sup>	0,056 <sup>b</sup>	0,222 <sup>b</sup>

Ket: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom dan baris yang sama tidak berbeda nyata pada taraf uji 5 % DMRT. Data merupakan hasil Transformasi dengan  $\sqrt{(x + 3/8)}$

**Pengaruh Umur Buah**

Perbedaan umur buah tidak menunjukkan pengaruh nyata terhadap jumlah kalus embriogenik yang terbentuk. Pada eksplan biji yang diambil dari umur buah 1½, 2, dan 2½ bulan tidak menunjukkan induksi kalus embriogenik yang berbeda nyata pada semua jenis media. Pada penelitian Sukmadjaja (2005) pada tanaman cendana memperlihatkan bahwa persentase embrio somatik sekunder yang dihasilkan relatif sama antara embrio zigotik muda dan dewasa, namun perlakuan umur buah 2½ bulan cenderung menghasilkan eksplan yang membentuk kalus embriogenik lebih banyak dibandingkan yang berumur 1½ dan 2 bulan.

**Pengaruh Interaksi**

Kombinasi media MS dan umur buah 2½ bulan menghasilkan jumlah eksplan yang diindikasikan membentuk kalus embriogenik terbanyak pada setiap waktu pengamatan (Tabel 4). Kombinasi media B5 dan umur buah 2 bulan tidak menginduksi pembentukan kalus yang diindikasikan sebagai kalus embriogenik sampai akhir pengamatan (23 MST).

Tabel 4. Pengaruh Interaksi antara Media dan Umur Buah terhadap Rata-rata Jumlah Eksplan yang Diindikasikan Membentuk Kalus Embriogenik pada Percobaan I

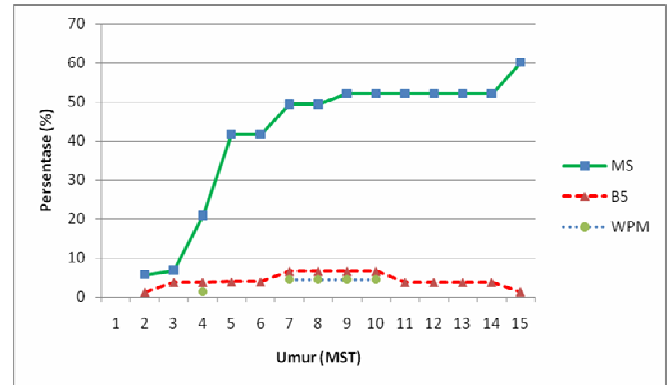
Perlakuan	Umur Buah		
	1½ Bulan	2 Bulan	2½ Bulan
Media	Jumlah Eksplan (6 MST)		
MS	1,00	1,00	<b>1,67</b>
B5	1,67	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>
WPM	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>
Media	Jumlah Eksplan (12 MST)		
MS	1,67	1,83	<b>2,67</b>
B5	0,17	<b>0,00</b>	0,50
WPM	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>
Media	Jumlah Eksplan (18 MST)		
MS	1,67	1,83 <sup>a</sup>	<b>2,67</b>
B5	0,33	<b>0,00</b>	0,50
WPM	<b>0,00</b>	<b>0,0</b>	0,1
Media	Jumlah Eksplan (23 MST)		
MS	1,83	2,33	<b>2,67</b>
B5	0,33	<b>0,00<sup>c</sup></b>	0,50 <sup>b</sup>
WPM	0,33	0,33	0,33 <sup>b</sup>

Ket : angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada setiap waktu pengamatan tidak berbeda nyata pada taraf uji

5 % DMRT. Data merupakan hasil Transformasi dengan  $\sqrt{(x + 3/8)}$

**Percobaan II**

Pada percobaan II yang menggunakan eksplan biji dari buah berumur 3 bulan, seperti halnya percobaan I media MS memperlihatkan hasil yang paling banyak. Media MS menghasilkan jumlah kalus lebih banyak dibandingkan dengan media B5 dan WPM. Pada media MS kenaikan jumlah eksplan berkalus embriogenik yang cukup nyata adalah dari 4 MST ke 5 MST (Gambar 8). Pada 5 MST persentase eksplan berkalus embriogenik telah mencapai 41,6 % dan pada 9 MST menjadi 52,1 %, sedikit berbeda dengan percobaan I dimana persentase eksplan berkalus embriogenik mencapai lebih dari 50 % diperoleh pada 8 MST yaitu pada perlakuan MS dengan umur buah 2½ bulan.



Gambar 1. Kurva Pengaruh Media terhadap Persentase Eksplan yang Diindikasikan Membentuk Kalus Embriogenik pada Percobaan II

Purnamaningsih (2002) menyebutkan bahwa faktor yang penting dalam induksi dan perkembangan embriogenesis somatik adalah komposisi nutrisi pada media kultur. Nitrogen merupakan faktor utama dalam memacu morfogenesis secara invitro. Menurut Dodds & Robert (1985) faktor kimia terpenting dalam media induksi embriogenesis somatik adalah auksin dan nitrogen tereduksi, variasi sumber nitrogen tidak spesifik untuk embriogenesis, walaupun konsentrasi bentuk-bentuk organik lebih efektif dibandingkan komponen nitrogen anorganik.

Dari percobaan I dan percobaan II terlihat bahwa media MS berpengaruh sangat nyata, mampu menginduksi kalus embriogenik pada semua taraf umur buah. Pada dasarnya kelebihan media MS dibanding media induksi B5 dan WPM, adalah konsentrasi nitrogen. Media MS mengandung konsentrasi NO<sub>3</sub><sup>-</sup> dan konsentrasi NH<sub>4</sub><sup>+</sup> lebih besar dibanding dengan media B5 dan WPM. Sedangkan kandungan auksin pada semua perlakuan memiliki jumlah yang sama, yaitu 0,1 µM/L dalam bentuk picloram. Pada percobaan ini tidak dilakukan penambahan asam amino sama sekali pada masing-masing perlakuan. Sehingga diduga pengaruh kandungan N dan auksin saja sudah mampu merangsang pertumbuhan kalus embriogenik secara optimal, namun berbeda-beda pengaruhnya sesuai dengan jenis eksplan tanaman dan kombinasi media serta konsentrasi auksin.

Dari kedua percobaan dapat dinyatakan bahwa media MS lebih baik dalam menginduksi kalus yang diduga sebagai embriogenik. Hal ini didukung oleh fakta bahwa media B5 dan WPM pada perlakuan umur buah 2 dan 2½ bulan menghasilkan akar sedangkan media MS tidak menginduksi pembentukan akar. Pada embriogenesis somatik pembentukan akar tidak diharapkan.

Percobaan I dan percobaan II juga memperlihatkan bahwa pada manggis perbedaan kematangan biji berdasarkan umur buah tidak berpengaruh nyata terhadap pembentukan kalus yang diindikasikan sebagai kalus embriogenik. Hal ini berbeda dengan hasil penelitian Vesco dan Guerra (2001) yang menunjukkan bahwa penggunaan embrio zigotik

## DAFTAR PUSTAKA

dewasa pada tanaman Feijoa (*Feijoa sellowiana* Berg) dapat menghasilkan embrio somatik yang lebih banyak dalam waktu yang lebih cepat daripada embrio zigotik muda/*immature zygote embryogenesis* (IZE). Perbedaan ini menunjukkan bahwa eksplan yang digunakan dapat berbeda tergantung jenis tanaman dan tahap perkembangan (*developmental stage*) dari eksplan.

### Pembentukan Embrio Somatik

Embrio somatik dapat terbentuk melalui dua jalur, yaitu secara langsung maupun tidak langsung (melewati fase kalus) (Wiendi *et al.*, 1991). Indikasi pembentukan embrio somatik hanya terjadi pada perlakuan media MS dengan umur buah 2½ bulan ulangan kedua pada **percobaan I**. Induksi embrio somatik mulai terlihat pada 10 MST. Embrio somatik yang diduga terbentuk adalah melalui induksi langsung.

Perlakuan media MS pada umur buah 2, 2½, dan 3 bulan (percobaan II), serta Media B5 dan WPM pada semua taraf umur buah tidak mengalami induksi embrio somatik. Namun pada penelitian Laxmi *et al.* (1999) pada ovul muda tanaman mangga (*Mangifera indica* L.) cv. Amrapalli dengan kombinasi sitokinin yang sama yaitu 20 µM/L BAP perlakuan media B5 menginduksi embrio somatik fase globular yang lebih banyak dibanding media MS.

Hal tersebut berbeda dengan hasil penelitian Thengane *et al.* (2006) bahwa media WPM + BAP 4,44-22,19 µM dan WPM + BAP 4,44-22,19 µM + NAA 2,69 µM dapat menginduksi embrio somatik langsung dari biji muda pada *Garcinia indica* Choiss. Indikasi terjadinya induksi embrio somatik terjadi pada 2-3 MST. Hal ini memperlihatkan bahwa induksi embrio somatik dipengaruhi oleh jenis eksplan tanaman dan kombinasi antara media dan konsentrasi serta jenis auksin.

Pada kedua percobaan, induksi kalus embriogenik jauh lebih dominan dibandingkan induksi embrio somatik. Sehingga masih dibutuhkan pemindahan kalus embriogenik ke media pendewasaan dan penelitian untuk menemukan zat pengatur tumbuh yang tepat untuk menginduksi pembentukan embrio somatik. Namun indikasi munculnya embrio somatik pada perlakuan media MS dengan umur buah 2½ bulan memperlihatkan bahwa induksi langsung embrio somatik masih dimungkinkan pada media MS dengan umur buah 1½ bulan, walaupun membutuhkan waktu sampai 10 MST, sehingga dengan konsentrasi auksin yang berbeda induksi embrio somatik secara langsung kemungkinan dapat terjadi lebih lebih optimal.

## KESIMPULAN DAN SARAN

### Kesimpulan

Umur buah tidak berpengaruh terhadap peubah jumlah eksplan yang membentuk kalus embriogenik. Jenis media memberikan pengaruh sangat nyata terhadap peubah jumlah eksplan yang membentuk kalus embriogenik. Media MS (Murashige and Skoog) pada semua umur buah menghasilkan jumlah eksplan yang diindikasikan membentuk kalus embriogenik lebih banyak dari media B5 dan WPM (Woody Plant Medium). Interaksi media MS dan umur buah 2½ bulan menghasilkan jumlah eksplan yang diindikasikan membentuk kalus embriogenik terbanyak. Respon untuk terjadinya pembentukan embrio somatik secara langsung hanya terlihat pada perlakuan media MS dengan umur buah 2½ bulan.

### Saran

Penelitian lanjut untuk menentukan media yang tepat bagi fase pendewasaan embriogenesis setelah fase induksi kalus embriogenik perlu dilakukan.

- Ashari, S. 2006. Hortikultura Aspek Budidaya. Edisi Revisi. Universitas Indonesia Press. Jakarta. 490 hal.
- Dodds, J.H. and L.W. Roberts. 1985. Experiments In Plant Tissue Culture. 2<sup>nd</sup> edition. Cambridge University Press, Cambridge. 232 p.
- Gunawan, L. W. 1992. Teknik Kultur Jaringan Tumbuhan. Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman. PAU Bioteknologi IPB. Bogor. 252 hal.
- <http://www.rusnasbuah.or.id>. [08 Januari 2008].
- <http://www.cropsoil.uga.edu>. Somatic embryogenesis of soybean. [6 April 2008]
- Laxmi, D. V., H. C. Sharma, P. B. Kirti, and M. L. Mohan. 1999. Somatic embryogenesis in mango (*Mangifera indica* L.) cv. Amrapali. Current Science. 77(10):1355-1358.
- Mariska, I. 1996. Embriogenesis somatik tanaman kehutanan. Prosiding Kursus Bioteknologi, 4-9 November 1996. Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi. Serpong. 13 hal.
- Purnamaningsih, R. 2002. Regenerasi tanaman melalui embriogenesis somatik dan beberapa gen yang mengendalikannya. Buletin AgroBio 5(2):51-58.
- Qosim, W. A. 2006. Studi iradiasi sinar gamma pada kultur kalus nodular manggis untuk meningkatkan keragaman genetic dan morfologi regenerasi. Disertasi. Program Pasca Sarjana, Institut Pertanian Bogor. 148 hal.
- Roostika, I., N. Sunarlim, dan I. Mariska. 2005. Mikropropagasi tanaman manggis (*Garcinia mangostana*). Jurnal AgroBiogen 1(1):20-25.
- Sterling T.M., and J. C. Hall. 1997. Mechanism of action of natural auxins and the auxinic herbicides. In: Roe R.M., J.D. Burton, and R.J. Kuhr (eds). Herbicide activity: toxicology, biochemistry and molecular biology. IOS Press. Amsterdam.
- Te-chato, S. dan M. Lim. 2005. *Garcinia mangostana* Mangosten, p 211-220. Dalam: Litz, R. E. (Ed). Biotechnology of Fruit and Nut Crop. CABI Publishing. USA.
- Thengane, S. R., S. R. Deodhar, S. V. Bhosle dan S. K. Rawal. 2006. Direct Somatic embryogenesis and plant regeneration in *Garcinia indica* Choiss. Current Science 91(8):1076-1078.
- Vesco, L.L.D. and M.P. Gurerra. 2001. The effectiveness of nitrogen sources in Feijoa somatic embryogenesis. Plant Cell and Organ Culture 64:19-25.
- Wiendi, N.M.A., G.A. Wattimena, dan L.W. Gunawan. 1991. Perbanyakan tanaman. Bioteknologi Tanaman I. PAU IPB. 507 hlm.
- William, E. G. and Maheswara. 1986. Somatic Embryogenesis Factor Influencing Coordinated Behavior of Cell as on Embriogenic Group. Ann. Bot. 68: 443-462.