



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar Unand.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Unand.

Pertumbuhan Embrio Biji Mangga Marapalam (*Mangifera indica*) Secara In Vitro Pada Beberapa Media Basal

SKRIPSI



**AZHARI FADLI ARDINAL
98111031**

**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG
2005**

Pertumbuhan Embrio Biji Mangga Marapalam (*Mangifera indica*)
Secara *In Vitro* Pada Beberapa Media Basal

OLEH

AZHARI FADLI ARDINAL
98111031

• •
SKRIPSI
SEBAGAI SALAH SATU SYARAT
UNTUK MEMPEROLEH GELAR
SARJANA PERTANIAN

FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG
2005

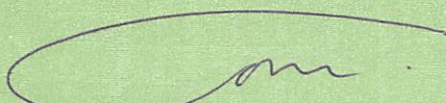
Pertumbuhan Embrio Biji Mangga Marapalam (*Mangifera indica*)
Secara *In Vitro* Pada Beberapa Media Basal

OLEH

AZHARI FADLI ARDINAL
98111031

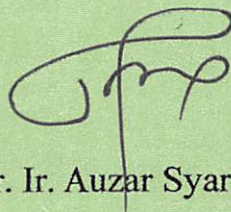
MENYETUJUI

Dosen Pembimbing I



(Dr. Ir. Irfan Suliansyah, MS)

Dosen Pembimbing II



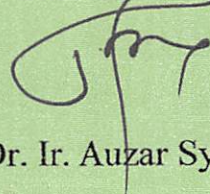
(Dr. Ir. Auazar Syarif, MS)

Dekan Fakultas Pertanian
Universitas Andalas



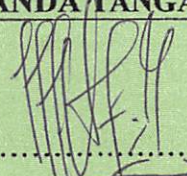
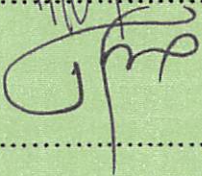
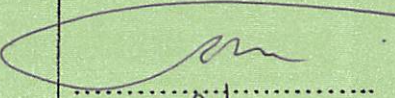

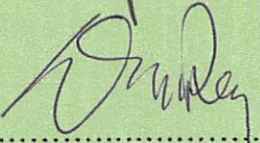
(Dr. Ir. Masrul Djalal, MS)

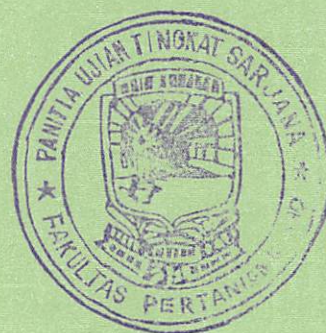
Ketua Jurusan BDP
Fakultas Pertanian
Universitas Andalas



(Dr. Ir. Auazar Syarif, MS)

Skripsi ini telah diuji dan dipertahankan di depan Sidang Paitia Ujian Sarjana Fakultas Pertanian Universitas Andalas, pada tanggal 22 Agustus 2005.

NO	NAMA	TANDA TANGAN	JABATAN
1	Ir. Muhsanati, MS		Ketua
2	Dr. Ir. Auzar Syarif, MS		Anggota
3	Dr. Ir. Irfan Suliansyah, MS		Anggota
4	Ir. Istino Ferita, MS		Anggota
5	Ir. Dasril Jahja, MS		Anggota



Waktu SD aku bilang sama mama .. Hari bercita-cita jadi Insinyur Pertanian
Masuk SMP aku bilang sama papa .. Hari akan berangkat ke Padang untuk Bertani
Selepas SMU aku berniat balik ke Sorowako untuk mereklamasi lahan tambang INCO
Semasa kuliah aku sisakan waktu untuk mengolah Pupuk Organik dan Phospat Alam di perumdos
Sekarang sengaja aku tinggal dekat IPB agar aku tetap ingat bahwa cita-citaku adalah PETANI
Dan aku ingin mengakhiri karir ku dengan mengatakan kepada Istri dan Anak-anakku bahwa Aku

.... **PETANI SUKSES**

Azhari Fadli Ardinal

KATA PENGANTAR

Syukur Alhamdulillah penulis ucapkan kehadiran Allah SWT, yang telah senantiasa melimpahkan rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini yang merupakan salah satu syarat dalam menyelesaikan studi pada jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Andalas, Padang.

Skripsi ini disusun berdasarkan hasil penelitian dalam mata ajaran Kultur Jaringan, dengan judul "Pertumbuhan Embrio Biji Mangga Marapalam (*Mangifera indica*) Secara *In Vitro* Pada Beberapa Media Basal.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada Bapak Irfan Suliansyah dan Bapak Auzar Syarif yang dengan sabar dan penuh pengertian memberikan bimbingan dan motivasi terhadap penyelesaian skripsi ini. Terima kasih juga penulis haturkan kepada Bapak dan Ibu Dosen serta Karyawan di lingkungan Jurusan Budidaya Pertanian terutama Ibu Yurnawilis yang telah membantu penulis dalam melaksanakan penelitian.

Melalui penyelesaian skripsi ini penulis mendapatkan pelajaran mendalam tentang arti amanah dan tanggung jawab di balik gelar keserjanaan bagi seorang mahasiswa. Atas segala kebaikan yang telah diberikan, penulis haturkan Jazakumullah Khoiron Katsiron.

Padang, Agustus 2005

Penulis

ABSTRAK

Penelitian tentang “Pertumbuhan Embrio Biji Mangga Marapalam (*Mangifera indica*) Secara *In Vitro* Pada Beberapa Media Basal” telah dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Andalas, Padang pada bulan April sampai Juli 2004. Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak lengkap (RAL) dengan perlakuan jenis medium pertumbuhan sebanyak 3 jenis, yaitu media MS, WPM dan B5. Masing-masing perlakuan diulang 3 kali dan setiap satuan percobaan terdiri atas tiga botol. Data-data hasil penelitian di analisa dengan sidik ragam dan F hitung yang berbeda nyata dilanjutkan dengan uji DNMRT pada taraf nyata 5%.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa Pertumbuhan eksplan embrio mangga marapalam yang diekspresikan dalam bentuk persentase eksplan membentuk akar dan tunas, Waktu pemunculan akar dan tunas, jumlah tunas dan akar, dan panjang akar sama baiknya pada media MS, WPM, dan B5.

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	i
ABSTRAK	ii
DAFTAR LAMPIRAN	iii
I. PENDAHULUAN	1
II. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1. Tanaman Mangga Marapalam	5
2.2. Konservasi	6
2.3. Media Kultur Jaringan Tanaman	9
2.3.1. Unsur Makro	9
2.3.2. Unsur Mikro	12
2.3.3. Vitamin	12
2.3.4. Zat Pengatur Tumbuh	13
2.3.5. Bahan Pekat	13
2.3.6. Arang Aktif	14
2.4. Eksplan (bahan tanaman)	14
2.5. Faktor Lingkungan	15
2.6. Sterilisasi	17
III. BAHAN DAN METODE	19
3.1. Waktu dan Tempat	19
3.2. Bahan dan Alat	19
3.3. Rancangan Penelitian	19
3.4. Pelaksanaan Penelitian	20
3.4.1. Sterilisasi Alat	20
3.4.2. Persiapan Media Kultur	21
3.4.3. Pembuatan Media	21
3.4.4. Persiapan dan Sterilisasi Eksplan	22
3.4.5. Penanaman Eksplan	22
3.4.6. Pemeliharaan	23
3.5. Pengamatan	23
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	25
4.1. Persentase Terbentuknya Akar dan Tunas Eksplan	25
4.2. Waktu Pemunculan Akar dan Tunas Eksplan	27
4.3. Pertumbuhan Eksplan Embrio Biji Mangga Marapalam 60 HST ...	30
V. KESIMPULAN DAN SARAN	35
5.1. Kesimpulan	35
5.2. Saran	35
DAFTAR PUSTAKA	36
LAMPIRAN	38

DAFTAR LAMPIRAN

1.	Komposisi Nutrisi Media Dasar MS	38
2.	Komposisi Nutrisi Media Dasar WPM	39
3.	Komposisi Nutrisi Media Dasar B5	40
4.	Tabel Sidik Ragam	41
5.	Gambar Denah RAL	43
6.	Gambar Mangga Marapalam	44
7.	Gambar Tunas	45
8.	Gambar Akar	46
9.	Jadwal Kegiatan Penelitian	47
10.	Deskripsi Mangga Marapalam	48

I. PENDAHULUAN

Plasma nutfah memiliki peran yang luas dalam kehidupan manusia dan kelestarian alam. Dari sekian banyak keanekaragaman hayati, baru sebagian kecil saja yang dimanfaatkan oleh manusia, sedangkan yang lainnya masih banyak yang belum diketahui, bahkan belum teridentifikasi jenisnya. Wattimena dan Anshori (1992) melaporkan bahwa baru 10% kekayaan flora yang termanfaatkan untuk berbagai kepentingan, seperti sumber bahan makanan, obat-obatan, dan perhiasan.

Pada saat ini keanekaragaman hayati plasma nutfah disadari telah banyak mengalami degradasi dan kepunahan. Hal ini disebabkan oleh berbagai faktor, seperti kerusakan hutan (lingkungan hidup), serangan hama dan penyakit, serta introduksi varifas unggul. Salah satu tanaman buah yang populasinya semakin berkurang adalah tanaman mangga. Menurut Kantor Kementerian Lingkungan Hidup (1992), jumlah pohon mangga di seluruh Pulau Jawa kira-kira 5 juta. Namun pada saat ini jumlah tersebut hanya tinggal 30 – 40 % saja. Hal ini disebabkan oleh menyempitnya ladang dan banyaknya pohon tua yang mati dan usaha untuk meremajakan kembali begitu lambat.

Menurut Rukmana (1997) bahwa hampir seluruh daerah di Indonesia merupakan sentra produksi mangga dan setiap daerah memiliki jenis mangga yang spesifik yang sesuai dengan kondisi ekosistemnya. Mangga marapalam merupakan salah satu komoditas buah-buahan indigenous Sumatera Barat yang dulu cukup dikenal luas. Dulu mangga ini banyak terdapat di daerah Sumatera

Barat, namun jenis mangga yang hampir serupa dengan mangga ambacang ini juga mengalami penurunan jumlahnya.

Untuk menyelamatkan serta mempertahankan keberadaan mangga marapalam harus diadakan upaya pelestarian (konservasi). Konservasi merupakan upaya untuk melindungi dan melestarikan keanekaragaman hayati plasma nutfah dari kerusakan dan kepunahan. Dengan berkembangnya bioteknologi saat ini, permasalahan keterbatasan sistem konservasi konvensional dapat diatasi melalui metoda *in vitro*. Kelebihan metode *in vitro* diantaranya adalah individu tanaman dapat disimpan dalam jumlah yang banyak pada botol yang bebas hama dan penyakit, kebutuhan ruang tumbuh yang relatif kecil, tidak tergantung pada musim, sewaktu-waktu dapat diperbanyak dengan cepat dan memudahkan pertukaran plasmanutfah serta hemat biaya pemeliharannya (Gunawan, 1988).

Keberhasilan dari teknik kultur *in vitro* sangat tergantung pada media tumbuh yang digunakan. Media kultur *in vitro* yang memenuhi syarat adalah media yang mengandung sumber energi, unsur hara makro dan mikro nutrisi dengan kadar dan perbandingan tertentu. Kadang-kadang juga mengandung senyawa tambahan seperti *yeast*, *ekstrak malt* atau air kelapa sebagai sumber perangsang tumbuh. Di samping itu perlu juga ditambahkan agar atau materi penyangga lainnya, sehingga dapat terjadi kontak antara jaringan spesies tanaman dengan media dan udara (Wetherell, 1982). Menurut Taji, Dodd, dan Williams, (1992), salah satu yang sulit dalam teknik *in vitro* adalah menentukan kebutuhan nutrisi yang sesuai dan optimum untuk pertumbuhan eksplan. Kondisi ini sangat berbeda untuk setiap spesies tanaman, sehingga sulit merekomendasikan satu

macam media baku untuk penggunaan pada berbagai spesies dan bagian tanaman sebagai eksplan.

Pada awalnya hanya ada media MS (Murashige dan Skoog) saja yang digunakan untuk kultur *in vitro* yang dikembangkan oleh Murashige dan Skoog pada tahun 1962. Sesuai dengan perkembangan teknik kultur *in vitro* maka telah dikembangkan pula beberapa modifikasi dari media MS yang disesuaikan dengan spesies tanaman yang akan dikulturkan. Media MS ini lebih luas penggunaannya terutama untuk regenerasi tanaman (Gamborg, 1991).

George dan Sherrington (1984), mengemukakan untuk tanaman berkayu sebaiknya digunakan *Woody Plant Medium* (WPM). Media WPM ini merupakan media dengan konsentrasi ion yang rendah, namun kandungan sulfatnya lebih tinggi dari media MS. Media B5 yang dikembangkan oleh Gamborg pada tahun 1968 pada mulanya pada kultur suspensi kedele menggunakan konsentrasi NH_4^+ yang rendah, karena konsentrasi yang lebih tinggi dari 2 mM akan menghambat pertumbuhan sel. Fosfat yang diberikan adalah 1 mM, Ca^{2+} antara 1 sampai 4 mM, sedangkan Mg^{2+} antara 0.5 sampai 3 mM. Media B5 digunakan lebih luas untuk spesies tanaman dengan tujuan yang berbeda.

Berdasarkan perbedaan tujuan pemakaian berbagai media ini, maka dirasa perlu untuk mengkaji perbedaan respons pertumbuhan tanaman secara *in vitro* pada beberapa media basal, melalui pengkajian tersebut akan dapat diketahui jenis media yang paling tepat untuk budidaya tanaman mangga secara *in vitro* karena tingkat keberhasilan kultur embrio tanaman mangga marapalam ini sangat ditentukan oleh media yang digunakan.

Berdasarkan permasalahan tersebut telah dilaksanakan penelitian dengan judul **“Pertumbuhan Embrio Biji Mangga Marapalam (*Mangifera indica*) Secara *In Vitro* Pada Beberapa Media Basal”**. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengkaji jenis media basal terbaik untuk pertumbuhan embrio biji mangga marapalam secara *in vitro*. Diharapkan dari hasil penelitian ini dapat bermanfaat sebagai bahan informasi bagi penelitian selanjutnya dalam upaya pemuliaan tanaman mangga marapalam secara *in vitro* untuk keperluan konservasi.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2. 1. Tanaman Mangga Marapalam

Mangga marapalam (*Mangifera indica*) adalah spesies tropik, termasuk family *Anacardiaceae*. Penyebaran mangga marapalam yang memiliki daging buah berwarna putih kekuningan dan rasanya yang asam manis ini meliputi kawasan Malaysia dan Indonesia, khususnya di Kalimantan dan Sumatera. Tanaman ini tumbuh secara alami, terutama di hutan-hutan dataran rendah, kadang-kadang juga di hutan campuran *Dipterocarpaceae* (meranti-merantian). Jenis ini dapat tumbuh baik pada dataran antara 0 – 525 m di atas permukaan laut. Musim buah mangga marapalam terutama pada bulan April. Nama Marapalam berasal dari salah satu bukit yang ada di Sumatera Barat (Departemen Pertanian, 2004).

Mangga marapalam mempunyai daun yang terletak disepanjang ranting, bergantian, dan jaraknya tidak teratur. Daun-daun tersebut ada yang memiliki tangkai panjang dan ada yang pendek. Bentuk daun jorong meruncing, kaku, kedua permukaannya halus dan panjang daun antara 10 sampai 40 cm dengan lebar 2 sampai 10 cm, tergantung dari jenis dan kesuburan pertumbuhannya. Bunganya termasuk kedalam bunga majemuk tidak terbatas, dengan cabang-cabang yang mempunyai susunan *acropetal* (semakin muda semakin dekat dengan ibu tangkai), mekar berturut-turut dari bawah ke atas (Rukmana, 1997).

Buah mangga termasuk kelompok buah batu berdaging. Panjang buah berkisar antara 2,5 – 30 cm. Buahnya memiliki biji yang terletak dalam kulit biji

yang keras dan terdiri dari dua keping yang berdaging. Biji ada yang monoembrional dan ada yang poliembrional (Pracaya, 2001).

2. 2. Konservasi

Indonesia merupakan salah satu pusat keanekaragaman sumber daya hayati (biodiversitas) terbesar di dunia. Menurut Kantor Kementerian Lingkungan Hidup (1992), kekayaan hayati Indonesia termasuk nomor dua terbesar di dunia setelah negara Brazil. Walaupun luas daratan Indonesia hanya 1.3% dari luas daratan dunia, namun Indonesia memiliki 17% spesies yang dimiliki dunia. Rahman (2003) menambahkan bahwa sekitar 11% dari total tumbuhan berbunga dunia terdapat di Indonesia. Disamping itu, Indonesia juga memiliki tingkat endemik spesies yang cukup tinggi, terutama di pulau-pulau Sulawesi, Papua, dan Sumatera Kawasan Barat.

Kekayaan keanekaragaman hayati ini merupakan suatu sumber kekayaan plasma nutfah yang sangat berharga dalam upaya pemuliaan. Menurut Abdullah (1991), plasmanutfah merupakan substansi yang terdapat dalam setiap kelompok makhluk hidup yang merupakan sumber sifat keturunan yang dapat dirakit untuk menciptakan jenis unggul atau kultivar baru.

Plasma nutfah memiliki peran yang luas dalam kehidupan manusia dan kelestarian alam. Menurut Rahman (2003), dari sekian banyak biodiversitas, baru sebagian kecil saja yang dimanfaatkan oleh manusia untuk berbagai kegunaannya. Masih banyak lagi yang belum diketahui manfaatnya bahkan belum teridentifikasi jenisnya. Rahman (2003) menjelaskan bahwa baru 10% kekayaan flora yang dimanfaatkan untuk berbagai kepentingan, seperti sumber bahan makanan, obat-obatan, dan perhiasan.

Di bidang pertanian dan agroforestri khususnya dalam upaya pemuliaan tanaman, keberadaan plasmanutfah memegang peranan sangat penting dalam usaha menjamin hasil pertanian yang berkelanjutan dan meningkatkan produksi. Keberadaan plasma nutfah ini sangat berperan sebagai sumber keragaman genetik dalam upaya perakitan jenis tanaman atau varitas-varitas unggul. Menurut Wattimena (1991), salah satu prinsip dalam pemuliaan tanaman ialah komoditas yang akan dikembangkan harus memiliki kerabat yang banyak yang membawa berbagai sifat genetik. Dengan semakin tingginya keragaman genetik akan lebih mendukung dan mempermudah pemuliaan tanaman. Rahman (2003) menambahkan bahwa melalui perakitan sifat-sifat unggul dapat diperoleh jenis tanaman yang lebih unggul baik secara kualitas maupun secara kuantitas.

Pada saat ini keanekaragaman hayati plasma nutfah disadari telah banyak mengalami degradasi dan kepunahan. Hal ini disebabkan oleh berbagai faktor, seperti kerusakan hutan (lingkungan hidup), serangan hama dan penyakit, introduksi varietas unggul (Rahman, 2003).

Upaya konservasi sangat diperlukan dalam rangka mempertahankan keberadaan plasma nutfah sebagai sumber daya genetik ini. Menurut Sharrock dan Engels (1997), secara konvensional upaya pelestarian plasmanutfah tersebut dapat dilakukan secara *in situ* (di habitat aslinya) atau secara *ex situ* (diluar habitat aslinya, seperti di kebun raya dan kebun koleksi).

Pelestarian plasma nutfah secara *in situ* merupakan suatu teknik konservasi yang sangat kuno yang dilakukan dengan memelihara tanaman di tempat dimana tanaman tersebut tumbuh. Dengan cara ini tanaman tidak akan mengalami

cekaman terhadap kondisi lingkungan yang baru, serta dengan cara ini tumbuhan akan tumbuh dan berkembang secara sendiri-sendiri bahkan tanpa ada keterlibatan manusia dalam pengelolaannya. Di sisi lain, pelestarian plasma nutfah secara *ex situ* dilakukan dengan cara memindahkan tanaman dari tempat asal tumbuhnya ke tempat yang lain. Cara ini merupakan cara konservasi konvensional yang paling umum dilakukan, seperti dalam bentuk biji ortodok, stek, maupun kultur jaringan (Wattimena, 1991).

Menurut Bhojwani (1990), sistem konservasi plasma nutfah secara konvensional merupakan konservasi yang sangat mudah, namun memiliki kendala yang cukup berarti. Kendala-kendala tersebut antara lain : sangat bergantung pada kondisi lingkungan, tidak semua tanaman memiliki organ generatif (berbiji steril), berbiji heterozigot maupun rekalsitran. Dhanutirto (1990) menambahkan bahwa sistem konvensional ini juga membutuhkan banyak waktu, tenaga, tempat, biaya serta kestabilan plasmanutfah sulit dijamin. Oleh karena itu, dibutuhkan teknik alternatif yang dapat mengatasi kendala-kendala konvensional ini, yakni melalui konservasi *in vitro*.

Konservasi plasmanutfah biasanya dilakukan secara *in vivo*, baik dalam bentuk biji maupun tanaman hidup di dalam kebun koleksi, kebun raya ataupun di hutan lindung. Saat ini cara konvensional ini dirasakan memiliki banyak keterbatasan, yaitu selain membutuhkan areal yang luas, tergantung pada lingkungan dan musim, membutuhkan banyak biaya, tenaga dan waktu, cara ini juga masih memiliki resiko serangan hama dan penyakit yang relatif tinggi. Oleh

karena itu dibutuhkan teknik alternatif yang memiliki efektivitas yang tinggi dalam upaya konservasi, yaitu secara *in vitro*.

Konservasi plasmanutfah secara *in vitro* merupakan suatu metode perbanyakan (propagasi) dan penyimpanan plasmanutfah dalam bentuk jaringan atau organ tanaman di laboratorium (Bajaj, 1986). Menurut Bhojwani (1990), berkembangnya metode *in vitro* ini dilandasi oleh teori totipotensi yang dikemukakan oleh Schleiden dan Schwann, yang mengemukakan bahwa setiap sel tanaman memiliki potensi untuk tumbuh dan berkembang menjadi individu tanaman yang utuh.

Gunawan (1988) menambahkan bahwa keberhasilan konservasi secara *in vitro* ini sangat dipengaruhi oleh faktor-faktor yang saling berkait, yaitu eksplan, media tumbuh, zat pengatur tumbuh (ZPT), serta lingkungan. Gunawan (1988) menyatakan bahwa dengan metode konservasi konvensional ini, individu tanaman dapat disimpan dalam jumlah yang besar dalam botol yang bebas hama dan penyakit, kebutuhan ruang tumbuh yang relatif kecil, tidak tergantung pada musim, sewaktu-waktu dapat diperbanyak dengan cepat, memudahkan pertukaran plasmanutfah serta hemat biaya pemeliharaan.

2.3. Media Kultur Jaringan Tanaman

2.3.1. Unsur makro

Pada awalnya, unsur-unsur makro pada media kultur jaringan tanaman dibuat berdasarkan larutan untuk hidroponik. Unsur-unsur hara yang dibutuhkan tanaman dilapangan merupakan kebutuhan pokok yang disediakan dalam media. Unsur-unsur hara diberikan dalam bentuk garam-garam anorganik. Komposisi

media dan perkembangannya didasarkan pada pendekatan masing-masing peneliti. Selama periode tahun 1930–1940, formulasi media terutama ditujukan untuk menumbuhkan akar. Pada masa itu, diperoleh suatu hasil yang menyatakan bahwa larutan garam-garam makro dengan konsentrasi rendah, lebih baik daripada media dengan konsentrasi tinggi. Penemuan ini banyak diterapkan untuk tujuan menginduksi pembentukan akar pada pucuk-pucuk yang diperoleh melalui kultur *in vitro*. Media yang paling sering digunakan untuk induksi akar adalah media White (Gunawan, 1988).

Kultur kalus berhasil dikembangkan pada tahun 1937. Kultur kalus tersebut juga ditumbuhkan pada media dengan konsentrasi garam-garam rendah seperti dalam kultur akar. Dengan menggunakan setengah konsentrasi dari larutan knop yang biasa digunakan untuk hidroponik, dapat pula menumbuhkan kalus tanaman wortel (George dan Sherrington, 1984).

Dalam kultur jaringan bunga matahari, ditemukan bahwa unsur makro yang dibutuhkan kultur tersebut, lebih tinggi dari pada yang dibutuhkan oleh kultur tembakau. Level dari unsur P, Ca, Mg dan S pada media untuk bunga matahari ini, ternyata sama dengan media untuk jaringan normal yang dikembangkan kemudian. Konsentrasi NO_3^- dan K^+ yang digunakan Hildebrandt ini memang lebih tinggi dari media White, tetapi masih lebih rendah daripada media-media lain yang umumnya digunakan sekarang. Perbaikan yang paling penting adalah pengembangan komposisi unsur makro yang universal, yang mendukung pertumbuhan semua jaringan. Dalam media ini ditambahkan ammonium, dan konsentrasi NO_3^- dan K^+ ditingkatkan. Media ini tidak saja

menunjang pertumbuhan kalus, tetapi juga mendukung pembentukan pucuk dan embriogenesis pada banyak jenis tanaman yang dikulturkan secara *in vitro* (Gunawan, 1988).

Penelitian perbaikan komposisi media di laboratorium Skoog, dikulminasikan dalam publikasinya tentang kebutuhan garam anorganik yang mendukung pertumbuhan optimum pada kultur jaringan tembakau. Media baru yang sudah diperbaiki itu disebut media Murashige dan Skoog yang biasa dituliskan sebagai media MS. Pada awalnya hanya ada media MS (Murashige dan Skoog) saja yang digunakan untuk kultur *in vitro* yang dikembangkan oleh Murashige dan Skoog pada tahun 1962. sesuai dengan perkembangan teknik kultur *in vitro* maka telah dikembangkan dan diciptakan pula beberapa modifikasi dari media MS yang disesuaikan dengan spesies tanaman yang akan dikulturkan. Media MS ini lebih luas penggunaannya terutama untuk regenerasi tanaman (Gamborg, 1991).

Untuk tanaman berkayu, sebaiknya digunakan *Woody Plant Medium* (WPM). Media WPM ini merupakan media dengan konsentrasi ion yang rendah, namun kandungan sulfatnya lebih tinggi dari media MS. Sedangkan media B5 yang dikembangkan oleh Gamborg pada tahun 1968, awalnya digunakan pada kultur suspensi kedele dengan konsentrasi NH_4^+ yang rendah, karena konsentrasi yang lebih tinggi dari 2 mM akan menghambat pertumbuhan sel. Fosfat yang diberikan adalah 1 mM, Ca^{2+} antara 1 sampai 4 mM, sedangkan Mg^{2+} antara 0.5 sampai 3 mM. Media B5 digunakan lebih luas untuk spesies tanaman dengan tujuan yang berbeda. Media SH yang dikembangkan oleh Schenk dan Hildebrandt

merupakan media yang diintroduksi untuk kultur kalus tanaman baik tanaman monokotil maupun tanaman dikotil (George dan Sherrington, 1984).

2. 3. 2. Unsur mikro

Hara mikro yang terdiri atas Fe, Mn, Zn, B, Cu, Co, dan Mo adalah komponen protein sel tanaman yang penting dalam proses metabolisme dan poses fisiologi lain. Pentingnya Fe untuk tanaman telah diketahui sejak akhir abad yang lalu, sedangkan unsur-unsur lainnya baru diketahui pada tahun antara 1914 – 1939. Dalam kultur jaringanpun demikian pula. Pada mulanya, unsur mikro juga diragukan. Pada tahun 1922, Knudson yang menambahkan Fe dan Mn dalam media untuk perkecambahan anggrek, mendapatkan hasil yang sangat baik. Pemakaian Cu, Co, Ni, Ti, dan Be juga dianjurkan dalam media kultur. Pada tahun 1946, Hildebrant dan kawan-kawannya menentukan kebutuhan B, Mn, Zn, dan Fe yang optimum, untuk pertumbuhan kalus tanaman tembakau dan bunga matahari. Mo diperkenalkan oleh Buerk Holder dan Nickel, pada tahun 1949 (Gunawan, 1988). Kultur akar* juga dipergunakan untuk mempelajari keperluan unsur mikro. Zn sangat diperlukan untuk pertumbuhan akar tomat yang normal (Eltinge dan Reed, 1940 *cit.* George dan Sherrington, 1984). Sedangkan tanpa Cu, pertumbuhan berhenti sama sekali (Glasstone, 1947 *cit.* George dan Sherrington, 1984).

2. 3. 3. Vitamin

Jenis – jenis vitamin yang paling sering digunakan dalam media kultur jaringan tanaman adalah Thiamin (vitamin B₁), Niacin (vitamin B₃) dan Pyridoxin (vitamin B₆). Thiamin merupakan vitamin yang esensial dalam kultur

jaringan tanaman. Penambahan Niacin ke dalam media sangat dianjurkan penting untuk kultur akar tomat, ercis dan lobak. Pyridoxin juga diperlukan dalam kultur akar tomat (George dan Sherrington, 1984).

2. 3. 4. Zat Pengatur Tumbuh

Dalam kultur jaringan, dua golongan zat pengatur tumbuh yang sangat penting adalah sitokinin dan auksin. Zat pengatur tumbuh ini mempengaruhi pertumbuhan dan morfogenesis dalam kultur sel, jaringan, dan organ. Interaksi dan perimbangan antara zat pengatur tumbuh yang diberikan dalam media dan yang diproduksi oleh sel secara endogen, menentukan arah perkembangan suatu kultur. Penambahan auksin atau sitokinin eksogen, mengubah level zat pengatur tumbuh endogen sel (Taji, Dodd, dan Williams, 1992).

Disamping golongan persenyawaan organik yang konstitusinya jelas, kadang-kadang dalam media kultur jaringan, juga ditambahkan persenyawaan yang kompleks, yang komposisinya dapat berbeda dari sumber yang satu dengan yang lainnya. Persenyawaan kompleks yang dimaksud adalah : air kelapa, kasein hidrolisat, ekstrak ragi, jus tomat, ekstrak kentang, dan ekstrak pisang (Gunawan, 1988).

2. 3. 5. Bahan Pekat

Bahan pekat yang paling banyak digunakan adalah agar. Agar adalah campuran polisakarida yang diperoleh dari beberapa spesies algae. Dalam analisa unsur, diperoleh data bahwa agar mengandung sedikit unsur Ca, Mg, K, dan Na. Kekerasan media pada umumnya meningkat secara linier pada penambahan

konsentrasi agar. Konsentrasi agar yang diberikan berkisar antara 0,6 –1,0%. Konsentrasi agar yang terlalu tinggi dapat mengurangi difusi persenyawaan dari dan ke arah eksplan sehingga pengambilan hara dan zat tumbuh berkurang, sedangkan zat penghambat dari eksplan tetap berkumpul di sekitar eksplan (Debergh, 1982 dalam Gunawan, 1988).

2. 3. 6. Arang aktif

Arang aktif adalah arang yang sudah dipanaskan selama beberapa jam dengan menggunakan uap atau udara panas. Bahan ini mempunyai sifat adsorpsi yang sangat kuat. Arang aktif dapat ditambahkan kedalam media pada berbagai tahap perkembangan kultur. Bahan ini dapat ditambahkan pada media inisiasi, media regenerasi, atau media perakaran (Gunawan, 1988).

2. 4. Eksplan (bahan tanaman)

Keberhasilan morfogenesis suatu kultur *in vitro* sangat dipengaruhi oleh eksplan yang dikulturkan (Suliansyah, 2002). Eksplan adalah bagian dari tanaman yang digunakan untuk inisiasi suatu kultur (George dan Sherrington, 1984). Eksplan yang dimaksud adalah menyangkut jenis, ukuran, umur, dan cara pengkulturan.

Kemampuan inisiasi dan aktivitas pertumbuhan dari jaringan yang mempunyai potensi untuk tumbuh aktif menjadi individu baru sangat bervariasi antara bagian yang satu dengan bagian yang lainnya dari suatu jaringan tersebut. Hal ini menunjukkan bahwa faktor genetik mempunyai peranan yang besar (Wattimena, 1991). Menurut George dan Sherrington (1984), kemampuan suatu eksplan untuk dapat tumbuh membentuk akar atau tunas dalam media yang sama

adalah berbeda untuk spesies tanaman walaupun masih memiliki hubungan kekerabatan yang dekat.

Setiap spesies tanaman yang sama dengan umur yang berbeda mempunyai kemampuan regenerasi yang berbeda, jika diperbanyak melalui kultur jaringan (Wetherell, 1982). Eksplan yang diambil dari tanaman yang telah dewasa mempunyai daya regenerasi yang rendah dan lambat. Sebaliknya eksplan yang berasal dari bibit muda terutama untuk spesies tanaman berkayu, tingkat keberhasilannya lebih baik dari pada menggunakan eksplan yang berasal dari tanaman yang telah dewasa. Bagian tanaman yang aktif tumbuh adalah bagian yang juvenil (muda) dan keadaan sel-selnya masih aktif membelah (Bhojwani, 1990)

Ukuran dan sumber eksplan juga akan menentukan keberhasilan kultur. Eksplan yang berukuran kecil akan kurang daya tahannya bila dikulturkan. Sebaliknya eksplan yang berukuran terlalu besar akan sulit mendapatkan eksplan yang steril. Setiap jenis tanaman maupun organ memiliki ukuran eksplan yang optimum untuk dikulturkan (Suliansyah, 2002). Menurut Suliansyah (2002), sumber eksplan yang baik untuk inisiasi kultur jaringan pada tanaman berkayu adalah daun muda, embrio yang belum matang, hipokotil, ovari dan ovul serta jaringan muda lainnya.

2. 5. Faktor lingkungan

Faktor lingkungan yang paling utama adalah cahaya, suhu dan pH media. Cahaya diperlukan untuk morfogenesis, diferensiasi dan embriogenesis aseksual. Kebutuhan cahaya dalam kultur *in vitro* meliputi intensitas dan kualitas cahaya

dimana kisaran intensitas cahaya untuk kultur jaringan adalah 3000 sampai 10.000 luks (Gamborg dan Shyluk, 1981).

Pertumbuhan organ tanaman secara *in vitro* yang optimal seringkali memerlukan adanya cahaya, tapi pada proses pembelahan sel tidak demikian. Karena pada awal pembelahan sel dari eksplan yang dikulturkan dan pada pertumbuhan kalus kadangkala dihambat karena adanya cahaya. Adanya cahaya akan meningkatkan aktivitas enzim polifenol oksidase dan pencoklatan pada jaringan eksplan. Pencoklatan ini dapat dikurangi atau dicegah jika jaringan eksplan yang baru diisolasi tersebut ditempatkan pada ruang gelap selama 7 sampai 14 hari, sebelum dipindahkan ke ruangan yang diberi cahaya rendah (George dan Sherrington, 1984).

Pertumbuhan kultur *in vitro* dipengaruhi oleh cahaya yang diberikan dalam bentuk panjang gelombang cahaya (kualitas cahaya), intensitas cahaya (flux density) dan fotoperiodesitas cahaya (lama penyinaran). Adanya interaksi antara intensitas cahaya dengan panjang gelombang warna tertentu dengan zat pengatur tumbuh auksin dan sitokinin seperti cahaya merah dapat mendorong pertumbuhan dan morfogenesis jaringan tanaman. Sama halnya dengan sitokinin bila ditambahkan ke dalam media kultur (Gunawan, 1988).

Disamping itu, tingkat pertumbuhan kultur sangat berhubungan erat dengan suhu sekitarnya. Suhu yang optimum untuk pertumbuhan kultur adalah antara 26⁰C sampai 28⁰C (Gamborg dan Shyluk, 1981). Suhu rata-rata untuk kultur *in vitro* umumnya lebih tinggi dibandingkan dengan suhu untuk pertumbuhan dari

tanaman yang sama di lapangan. Pada umumnya suhu ruang inkubasi dalam kultur *in vitro* diatur sama dengan siang dan malam (Gunawan, 1988).

Tanaman yang dikulturkan secara *in vitro* memiliki toleransi pH yang relatif sempit dengan titik optimal antara 5.0 dari 6.0, bila eksplan mulai tumbuh pH media akan naik. Hal ini disebabkan oleh nutrisi yang mulai habis diserap oleh eksplan. Kondisi ini akan mempengaruhi terjadinya pencoklatan pada eksplan yang dikulturkan pada media tersebut. Oleh karena itu kestabilan pH media ini perlu dijaga (George dan Sherrington, 1984). Mengetahui pH media dalam kultur *in vitro* adalah penting, karena pH tersebut akan mempengaruhi kelarutan ketersediaan ion-ion mineral. Disamping itu juga menentukan sifat gel dari agar. Senyawa fosfat dalam media memiliki peran yang penting dalam menstabilkan pH (Wetherell, 1982).

2. 6. Sterilisasi

Keberhasilan teknik kultur jaringan kerap kali ditentukan oleh kemampuan untuk mengeliminasi segala bentuk kontaminasi. Menurut Suliansyah (2002), kontaminasi dapat terjadi setiap saat dalam masa kultur. Agen kontaminasi dapat berasal dari berbagai sumber antara lain eksplan, baik eksternal maupun internal, mikroorganisme yang masuk ke dalam media, botol kultur dan alat tanam, dan lingkungan kerja dan ruang kultur serta kecerobohan dalam pelaksanaan (Gunawan, 1988).

Kontaminasi berbagai mikroorganisme merupakan faktor utama yang menyebabkan kegagalan kultur *in vitro* berbagai tanaman. Organisme yang dapat bertindak sebagai agen kontaminasi meliputi virus, bakteri, fungi, mites dan thrip.

Kontaminan yang disebabkan oleh bakteri merupakan hal yang paling serius (Suliansyah, 2002).

Dalam kultur *in vitro* inisiasi kultur yang bebas dari kontaminan merupakan langkah yang sangat penting. Bahan tanaman dari lapangan mengandung berbagai kontaminan, yang dapat diatasi dengan sterilisasi permukaan. Disamping kontaminan yang bersifat eksternal, juga ditemukan kontaminasi yang bersifat internal terutama bakteri yang sulit diidentifikasi dan mengatasinya. Maka bahan tanam tanaman yang mengandung kontaminan internal, harus diberi perlakuan antibiotik atau fungisida sistemik (George dan Sherrington, 1984), (Taji *et al.*, 1992).

III. BAHAN DAN METODE

3. 1. Waktu dan Tempat

Penelitian ini telah dilaksanakan dari bulan April sampai Juli 2004 di Laboratorium Kultur Jaringan, Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian Universitas Andalas, Padang.

3. 2. Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah embrio biji muda mangga marapalam sebagai bahan eksplan, nutrisi untuk penyusunan media MS (Lampiran 1), WPM (Lampiran 2) dan B5 (Lampiran 3), agar, arang aktif, asam askorbat, alkohol 70%, deterjen, Bayclin, akuades, spiritus, selotif, karet gelang dan plastik besar. Alat-alat yang digunakan antara lain timbangan analitik, pH meter, gelas ukur, gelas piala, gelas (botol) kultur, oven, kulkas, autoclave, kompor gas, pinset, pisau scalpel, pembakar bunsen, petridis, rak kultur, dan *laminar air flow cabinet*.

3. 3. Rancangan Penelitian

Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak lengkap (RAL) dengan perlakuan jenis medium pertumbuhan sebanyak 3 jenis, yaitu :

A : Media MS

B : Media WPM

C : Media B5

Masing-masing perlakuan diulang 3 kali dan setiap satuan percobaan terdiri atas tiga botol. Data-data hasil penelitian di analisa dengan sidik ragam dan F hitung yang berbeda nyata dilanjutkan dengan uji DNMRT pada taraf nyata 5%.

3. 4. Pelaksanaan Penelitian

a. Sterilisasi Alat

Sebelum membuat larutan stok dan media serta penanaman eksplan terlebih dulu dilakukan sterilisasi terhadap ruangan dan alat-alat yang akan digunakan. Botol kultur dicuci dengan menggunakan deterjen dan dibilas hingga bersih, dan sebelum dikeringkan direndam dalam larutan Bayclin. Setelah botol kering dilakukan sterilisasi basah dengan mengukus botol dalam autoclave dengan temperatur 121 °C, tekanan 15 psi selama 30 menit. Kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 80 °C selama 30 – 60 menit.

Sterilisasi alat-alat seperti gunting, pisau, jarum, petridis sebelum digunakan juga dilakukan sterilisasi basah, sama seperti pensterilan botol kultur. Hanya saja untuk alat-alat tersebut sebelum dimasukkan ke dalam autoclave terlebih dahulu dibungkus dengan kertas kacang atau kertas stensil.

Sterilisasi rak kultur dilakukan dengan penyemprotan rak dengan larutan desinfektan (*Bayclin*), kemudian dilap kering. Setelah itu disemprot kembali dengan alkohol 70%. Demikian pula dengan *laminar air flow cabinet* sebelum digunakan disemprot dengan alkohol 70%, kemudian dilap dengan kertas tisu. Sebelum digunakan, lampu UV harus dinyalakan 2 jam sebelumnya.

b. Persiapan Media Kultur

Persiapan media dilakukan dengan pembuatan larutan stok media MS, WPM dan B5. Larutan stok tersebut dibuat berdasarkan acuan baku formulasi media berdasarkan kelompok nutrisi yang dapat dilihat pada Lampiran 1, 2, dan 3. Masing-masing kelompok nutrisi ditempatkan pada satu tempat, yaitu labu ukur 1 liter dan kelompok vitamin dijadikan satu tempat pada labu ukur 100 ml. Setelah larutan stok tersebut dibuat masing-masing labu ukur disimpan di dalam lemari pendingin. Penyimpanan tidak dapat lebih dari satu bulan dan harus segera digunakan.

c. Pembuatan Media

Pembuatan media dilakukan dengan mengencerkan larutan stok nutrisi dan vitamin sesuai dengan ketentuan masing-masing media (Lampiran 1, 2 dan 3). Jumlah larutan yang dibuat untuk setiap perlakuan disesuaikan dengan jumlah botol yang digunakan dalam setiap satuan percobaan.

Media diberi arang aktif sebagai antioksidan. pH masing-masing media adalah 5.8 yang ditetapkan dengan cara penambahan NaOH 1N jika pH terlalu rendah atau menambahkan HCl 1N jika pH terlalu tinggi sambil diaduk.

Setelah pH masing-masing media yang dikehendaki tercapai, kemudian ditambahkan tepung agar sebanyak 8 g.l⁻¹. setelah itu larutan diaduk merata sambil dipanaskan di atas pemanas. Setelah larutan media mendidih pemanasan dihentikan. Kemudian media segera diisikan ke dalam botol kultur yang telah disiapkan. Setelah itu botol segera ditutup dengan plastik yang diikat dengan karet gelang. Kemudian media tersebut disterilkan di dalam *autoclave* pada suhu 121 °C

dengan tekanan 15 psi selama 30 menit. Setelah sterilisasi selesai botol kultur disusun di rak kultur dan diinkubasi selama 1 minggu di ruang transfer sebelum digunakan untuk penanaman eksplan.

d. Persiapan dan Sterilisasi Eksplan

Eksplan yang digunakan dalam penelitian ini adalah embrio biji buah muda dari tanaman mangga marapalam. Sebelum eksplan ditanam pada media perlakuan, eksplan disterilisasi terlebih dahulu. Metode sterilisasi eksplan yang berasal dari embrio dengan cara sterilisasi permukaan, yaitu :

- Buah dicuci bersih dengan air sabun atau deterjen
- Kemudian buah direndam dalam larutan Bayclin 20% selama 15 menit
- Selanjutnya buah direndam dalam larutan alkohol 70% selama 1/2 menit.
- Khusus untuk perlakuan media tanpa arang aktif, sebelum eksplan embrio ditanam, eksplan tersebut direndam dalam larutan asam askorbat selama 15 menit lalu dibilas dengan akuades.

e. Penanaman Eksplan

Penanaman eksplan dilakukan setelah urutan sterilisasi eksplan selesai dan dilakukan di dalam *laminar air flow cabinet*. Penanaman eksplan dilakukan dengan memasukkan eksplan yang telah disterilkan pada masing-masing botol kultur sesuai dengan perlakuan. Setelah dilakukan penanaman, botol kultur ditutup kembali dengan selotip plastik besar dan kemudian disusun kembali di rak di dalam ruang kultur untuk diinkubasi selama 2 bulan.

f. Pemeliharaan

Pemeliharaan dilakukan dengan tetap menjaga kebersihan ruang kultur, menjaga stabilitas temperatur dan cahaya dalam ruangan inkubasi. Eksplan yang mati atau yang terkontaminasi harus dikeluarkan dari ruang kultur. Untuk menjaga sterilitas ruang kultur untuk setiap 2 hari sekali disemprot dengan alkohol 70%.

3. 5. Pengamatan

Pada percobaan ini dilakukan pengamatan terhadap :

a. Persentase eksplan yang membentuk tunas

Pengamatan dilakukan dengan mengamati jumlah eksplan yang membentuk tunas pada akhir percobaan yaitu dengan perhitungan sebagai berikut :

$$\% \text{ eksplan yang membentuk tunas} = \frac{\text{jumlah eksplan yang membentuk tunas} \times 100 \%}{\text{total eksplan}}$$

b. Persentase eksplan yang membentuk akar

Pengamatan dilakukan dengan mengamati jumlah eksplan yang membentuk akar pada akhir percobaan dengan perhitungan sebagai berikut :

$$\% \text{ eksplan yang membentuk akar} = \frac{\text{jumlah eksplan yang membentuk akar} \times 100 \%}{\text{total eksplan}}$$

c. Waktu pemunculan tunas

Pengamatan terhadap waktu terbentuknya tunas dilakukan setiap hari selama 60 HST. Pengamatan dilakukan saat embrio membentuk tunas pertama kali.

d. Waktu pemunculan akar

Pengamatan terhadap waktu terbentuknya akar dilakukan setiap hari selama 60 HST. Pengamatan dilakukan saat embrio membentuk akar pertama kali.

e. Panjang akar terpanjang (cm)

Pengamatan dilakukan dengan mengukur panjang akar terpanjang dari pangkal akar dan dilakukan pada akhir percobaan.

f. Jumlah akar per tanaman

Pengamatan dilakukan dengan menghitung jumlah akar per tanaman dan dilakukan pada akhir percobaan.

g. Jumlah tunas per tanaman

Pengamatan dilakukan dengan menghitung jumlah tunas per tanaman dan dilakukan pada akhir percobaan.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari pengamatan terhadap kultur *in vitro* embrio mangga marapalam pada tiga jenis media basal yang berbeda diperoleh hasil sebagai berikut :

4.1. Persentase Terbentuknya Akar dan Tunas Eksplan

Seluruh eksplan embrio biji mangga yang ditumbuhkan pada media MS, WPM, dan B5 memperlihatkan respons tumbuh yang relatif sama terhadap persentase terbentuknya akar dan tunas eksplan. Berkaitan dengan semua embrio yang dikulturkan tumbuh 100 % menyebabkan keragamannya menjadi 0 sehingga SIR tidak ditampilkan pada lampiran. Data persentase eksplan mangga marapalam yang membentuk akar dan tunas 60 HST tersaji pada Tabel 1.

Tabel 1. Persentase eksplan mangga marapalam yang membentuk akar dan tunas 60 HST.

Media basal	Persentase eksplan (%)	
	Membentuk akar	Membentuk tunas
(MS)	100	100
(WPM)	100	100
(B5)	100	100

Angka-angka pada lajur yang sama berbeda tidak nyata menurut uji F pada taraf nyata 5 %.

Berdasarkan Tabel 1 dapat diketahui bahwa persentase eksplan yang membentuk akar dan tunas telah mencapai maksimum, yaitu 100 % pada semua media basal (MS, WPM, dan B5) yang dicobakan. Data ini menunjukkan bahwa

pembentukan akar dan tunas pada kultur embrio biji mangga marapalam sudah cocok tumbuh pada semua jenis media basal yang digunakan.

Setelah embrio biji mangga marapalam ini ditanam, substrat yang terdapat didalam embrio biji (karbohidrat, lemak, dan protein) akan mengalami perombakan secara enzimatik untuk mendukung aktivitas embrio membentuk bakal tanaman yang kemudian membentuk organ-organ utama tanaman seperti akar, tunas, dan daun. Menurut Taji *et al.* (1992), pembentukan awal organ-organ tersebut tergantung kepada cadangan karbohidrat dan unsur hara dalam biji serta efisiensi metabolisme.

Data di atas juga menunjukkan bahwa kisaran hormon tumbuh yang terdapat di dalam sel-sel dan jaringan penyusun biji tersebut telah memadai untuk merangsang terbentuknya akar. Menurut Gunawan (1988), hormon – hormon yang sangat penting dalam pembentukan tunas dan akar adalah auksin, sitokinin, dan giberelin. Ketiga jenis hormon tersebut disintesis sendiri di dalam jaringan dan bekerja secara spesifik dalam merangsang diferensiasi seluler dan jaringan. Ketersediaan nutrisi dari media basal (Lampiran 1, 2, dan 3) dapat berperan sebagai prekursor pembentukan substansi hormon tersebut. Pada kadar hormon tumbuh internal yang memadai, unsur-unsur hara dari media tidak terlalu berpengaruh terhadap aktivitas pembentukan akar dan tunas. Lakitan (2004) menyatakan bahwa umumnya pada kultur biji tanaman, hormon tumbuh telah tersedia dalam konsentrasi yang mencukupi di dalam sel – sel atau jaringan. Pada embrio telah terdapat auksin, sitokinin, dan giberelin yang cukup tinggi.

4.2. Waktu pemunculan akar dan tunas eksplan

Waktu munculnya akar dan tunas eksplan embrio biji mangga tidak berbeda nyata pada masing-masing media yang digunakan (Gambar saat munculnya tunas dan akar tersaji pada Lampiran 6). Data waktu munculnya akar dan tunas pada eksplan biji mangga marapalam *in vitro* tersaji pada Tabel 2.

Tabel 2. Waktu munculnya akar dan tunas pada eksplan biji mangga marapalam *in vitro*

Media Basal	Hari pemunculan	
	Akar	Tunas
(MS)	31, 11	44, 33
(WPM)	32, 77	47, 66
(B5)	36, 77	45, 55
KK (%)	15, 74	18, 64

Angka-angka pada lajur yang sama berbeda tidak nyata menurut uji F pada taraf nyata 5 %.

Dari Tabel 2 dapat dilihat bahwa hari munculnya akar (*rootlet*) pada kultur embrio biji mangga yang tercepat adalah pada media MS (31,11 hari). Sedangkan saat terbentuknya akar terlama adalah pada media B5 (36,77 hari). Namun demikian, setelah dianalisis secara statistik, ternyata waktu terbentuknya akar tersebut tidak berbeda nyata untuk masing-masing media yang digunakan sebagai perlakuan (MS, WPM, dan B5). Hal tersebut dimungkinkan karena komposisi nutrisi pada ketiga jenis media yang digunakan telah berada pada kadar memadai yang memberikan efek kecepatan inisiasi akar yang sama.

Menurut Wattimena (1991), untuk inisiasi pembentukan akar diperlukan beberapa koenzim yang memacu sintesis dan aktifator hormon tumbuh terutama auksin. Ketersediaan hormon tumbuh ini dalam kadar relatif tinggi sangat penting untuk pembentukan akar. Akar akan lebih cepat terbentuk apabila konsentrasi auksin memadai, dan sebaliknya jika auksin sangat sedikit atau dalam kondisi *in aktif*, maka pembentukan akar lebih lambat.

Komposisi media yang digunakan untuk pertumbuhan eksplan umumnya sangat mempengaruhi aktifitas dan kecepatan sintesis hormon tumbuh serta kecepatan pembelahan sel (Pierik, 1987). Menurut Pierik (1987), Jika nutrisi eksternal yang bersumber dari media basal dapat diserap oleh embrio secara baik, maka hormon tumbuh akan lebih aktif dan pembelahan sel lebih dini atau lebih cepat terutama untuk memulai diferensiasi pembentukan organ.

Berdasarkan Tabel 2 juga dapat diketahui bahwa pembentukan tunas tercepat terdapat pada media MS (44, 33 hari). Sedangkan waktu terbentuknya tunas terlama adalah pada media WPM (47, 66 hari). Pada media B5, waktu terbentuknya tunas mendekati waktu pada media MS (45, 55 hari). Akan tetapi, dari hasil analisis statistik, waktu terbentuknya tunas pada eksplan mangga marapalam tersebut tidak berbeda pada ketiga jenis media yang digunakan. Jika dibandingkan dengan waktu terbentuknya akar, maka pembentukan tunas eksplan lebih lambat untuk seluruh perlakuan.

Tidak adanya perbedaan yang signifikan terhadap waktu terbentuknya tunas pada semua media basal tersebut mengindikasikan bahwa kecepatan inisiasi meristem apikal pucuk pada eksplan mangga untuk masing – masing media

adalah sama. Kecepatan inisiasi meristem apikal pucuk menurut Zaid (1985) merupakan manifestasi dari aktivitas hormon tumbuh terutama auksin. Faktor genetik juga mempunyai peranan yang besar dalam kemampuan inisiasi pertumbuhan tanaman (Wattimena, 1991). Setiap spesies tanaman yang sama dengan umur yang berbeda mempunyai kemampuan regenerasi yang berbeda, jika diperbanyak melalui kultur jaringan (Wetherell, 1982).

Di dalam media MS, WPM, dan B5 telah tersedia berbagai substansi nutrisi yang sangat mendukung berlangsungnya inisiasi organ tanaman baik akar maupun tunas. Jenis nutrisi yang ada meliputi makronutrisi, mikronutrisi, vitamin dan sumber energi seperti sukrosa (George dan Sherington, 1984). Oleh sebab itu, penggunaan ketiga jenis media sebagai sumber nutrisi bagi eksplan mangga marapalam telah memungkinkan berlangsungnya inisiasi pembentukan akar dan tunas tanaman secara optimal.

Berbedanya kecepatan pembentukan akar jika dibandingkan dengan terbentuknya tunas dimungkinkan karena proses mobilisasi auksin yang berlainan pada kedua posisi sumbu aksis tanaman. Auksin bermobilisasi secara akropetal dimana substansi tersebut lebih dahulu disintesis di bagian meristem basal dari sumbu aksis tanaman lalu ditransportasikan ke pucuk (Lakitan, 2004). Dengan demikian, auksin akan lebih dahulu menginduksi inisiasi akar yang terdapat pada bagian basal dari sumbu aksis tanaman dan setelah itu baru menginduksi inisiasi terbentuknya tunas di bagian apeks sumbu aksis. Jenis nutrisi dari media yang digunakan yang dapat mengaktifasi sintesis auksin terutama adalah dari

mikronutrisi seperti Zn. Selain itu vitamin juga sangat menentukan mekanisme sintesis hormon tumbuh (Wattimena, 1991).

4.3. Pertumbuhan eksplan embrio biji mangga marapalam 60 hari setelah tanam

Pengamatan terhadap pertumbuhan eksplan mangga meliputi panjang akar terpanjang, jumlah akar, dan jumlah tunas (Gambar tunas dan akar tersaji pada Lampiran 7 dan 8). Data jumlah akar, panjang akar, dan jumlah tunas eksplan embrio biji mangga marapalam 60 HST *in vitro* disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Jumlah akar, panjang akar terpanjang, dan jumlah tunas eksplan embrio biji mangga marapalam 60 HST *in vitro*

Perlakuan	Jumlah akar	Panjang akar (cm)	Jumlah tunas
A (MS)	72, 55	13, 45	1, 40
B (WPM)	74, 22	15, 89	1, 63
C (B5)	62, 44	16, 52	1, 26
KK (%)	13, 43	14, 55	18, 44

Angka-angka pada lajur yang sama berbeda tidak nyata menurut uji F pada taraf nyata 5 %.

Berdasarkan Tabel 3 dapat dilihat bahwa eksplan mangga marapalam dapat tumbuh secara baik pada seluruh jenis media basal yang dipakai (MS, WPM, dan B5). Bentuk pertumbuhan yang ada meliputi penambahan jumlah akar, jumlah tunas, dan pemanjangan akar.

Jumlah rata-rata akar terbanyak terdapat pada media WPM (74, 22 buah) dan jumlah terkecil terdapat pada media B5 (62, 44 buah). Sedangkan pada media MS, kuantitas akar yang terbentuk lebih mendekati jumlah akar pada media WPM (72, 55 buah). Setelah dianalisa secara statistik, kuantitas akar pada ketiga

perlakuan (ketiga media) tidak berbeda nyata. Hal tersebut mengindikasikan bahwa komposisi hara pada ketiga jenis media yang dipakai telah mendukung proses diferensiasi akar (*rootlet*) secara optimum sehingga jumlah akar yang terbentuk relatif lebih banyak.

Menurut Lakitan (2004), perbanyakan jumlah akar sangat dipengaruhi oleh ketersediaan hara dalam media tanaman. Untuk pembentukan akar dibutuhkan komponen makro nutrisi dalam konsentrasi yang memadai sehingga diferensiasi dan multiplikasi seluler dan jaringan lebih progresif. Sementara itu menurut Khrisnamoorthy (1981), ketersediaan unsur-unsur yang dapat memacu sintesis auksin juga penting dalam proses perbanyakan kuantitas akar.

Pertumbuhan sistem perakaran tanaman biasanya akan menyimpang dari kondisi idealnya, jika kondisi media tanam sebagai tempat tumbuhnya tidak pada kondisi optimal. Dalam penelitian didapati bahwa bentuk akar mangga adalah silinder. Bentuk silinder ini memberikan keuntungan bagi akar dalam menyerap air dan unsur hara. Bentuk silinder lebih kokoh per luas penampang melintangnya dibandingkan dengan bentuk-bentuk lainnya. Bentuk silinder ini (ditambah dengan tudung akar yang melindungi) menyebabkan akar mampu mendorong matrik media dalam proses pertumbuhannya. Untuk memperluas permukaan kontakannya, akar juga membentuk bulu-bulu akar. Bulu akar merupakan penonjolan dari sel-sel epidermis akar. Panjang bulu akar umumnya sekitar 1,5 mm. Bulu-bulu akar ini terbentuk pada daerah dekat dengan ujung akar, tidak pada semua bagian akar (Wetherell, 1982).

Pengamatan terhadap panjang akar terpanjang memperlihatkan bahwa akar terpanjang terdapat pada media B5 yaitu sebesar 16,52 cm. sedangkan panjang akar terpendek terdapat pada media MS yaitu sebesar 13,45 cm. Panjang akar pada media WPM lebih mendekati panjang akar yang ditemukan pada media B5 yaitu sebesar 15,89 cm. Panjang akar terpanjang tersebut ternyata tidak berbeda berdasarkan hasil analisis statistik.

Tidak adanya perbedaan yang nyata pada panjang akar eksplan menunjukkan bahwa proses pemanjangan akar pada masing-masing media yang digunakan juga tidak berbeda. Menurut Gamborg dan Shyluk (1981), pemanjangan akar biasanya diinduksi oleh hormon tumbuh auksin dimana konsentrasi auksin untuk pemanjangan tersebut lebih rendah dibandingkan dengan kadar yang dibutuhkan untuk inisiasi pembentukan akar. Jika konsentrasi hara yang menginduksi sintesis dan aktivasi auksin ini tersedia dalam kadar yang sama, maka aktifitas auksin juga relatif sama terhadap pertumbuhan tanaman termasuk juga pemanjangan akar (George dan Sherington, 1984).

Perpanjangan akar berawal dari aktivitas sel-sel meristem sekunder yaitu kambium dan kambium gabus. Pertumbuhan ini dijumpai pada tumbuhan dikotil, gimnospermae dan menyebabkan membesarnya ukuran (diameter) tumbuhan. Mula-mula kambium hanya terdapat pada ikatan pembuluh, yang disebut kambium vasis atau kambium intravasikuler. Fungsinya adalah membentuk xilem dan floem primer. Sehingga terjadilah proses translokasi asimilat melalui penyerapan unsur hara esensial dari media tumbuh tanaman (Wetherell, 1982).

Komposisi nutrisi baik makronutrisi maupun mikronutrisi pada media MS, WPM, dan B5 pada dasarnya cukup berbeda. Makronutrisi dan mikronutrisi lebih banyak terdapat pada media MS, dibandingkan dengan media WPM dan B5. Pada media WPM, kadar makronutrisinya paling rendah dari ketiga jenis media yang digunakan. Sedangkan kadar mikronutrisi terendah terdapat pada media B5 (George dan Sherrington, 1984). Perbedaan kadar hara tersebut ternyata tidak berpengaruh secara signifikan terhadap kuantitas akar yang terbentuk. Dengan demikian, kebutuhan nutrisi oleh eksplan mangga pada ketiga media tersebut telah memadai sehingga eksplan dapat membentuk akar dalam jumlah relatif banyak.

Pada Tabel 3 juga dapat diketahui bahwa jumlah tunas yang terbentuk pada eksplan mangga relatif sedikit. Jumlah tunas terbanyak terdapat pada perlakuan dengan media WPM dimana terdapat rata-rata 1,63 tunas yang muncul. Sedangkan jumlah tunas paling sedikit terdapat pada eksplan yang ditumbuhkan pada media B5 (1,26). Jumlah tunas eksplan pada media MS adalah sebanyak 1,40. Setelah dianalisa secara statistik, jumlah tunas yang terbentuk pada masing-masing perlakuan ternyata tidak berbeda. Dalam artian bahwa perbedaan media yang digunakan tidak mempengaruhi jumlah tunas yang terbentuk.

Pembentukan tunas menurut Pierik (1987), juga merupakan suatu proses diferensiasi seluler dari jaringan meristem apeks. Mekanismenya sangat dipengaruhi oleh aktifitas hormon tumbuh. Sintesis hormon tumbuh yang aktif akan memacu terbentuknya tunas lebih banyak karena diferensiasi sel atau jaringan meristem apeks lebih cepat. Ketersediaan hara juga mempengaruhi diferensiasi dan pembelahan sel. Jika unsur-unsur prekursor sintesis sel tersedia

cukup, maka kecepatan diferensiasi dan pembelahan sel akan meningkat hingga mencapai batas optimum.

Jika dibandingkan antara kuantitas akar dengan kuantitas tunas yang terbentuk, ternyata kuantitas akar jauh lebih banyak daripada tunas. Hal tersebut sangat dimungkinkan oleh kondisi hara pada media yang mencukupi untuk kehidupan eksplan dimana eksplan masih berada dalam kondisi heterotrofik. Menurut Gunawan (1987), pada awal pertumbuhannya, eksplan tanaman akan berada dalam kondisi heterotrofik dimana keperluan haranya diserap melalui media tanam. Pada fase selanjutnya, eksplan akan lebih mengarah kepada kondisi autotrofik yang dimungkinkan oleh adanya daun sebagai organ fotosintesis. Oleh sebab itulah, pada kultur tanaman, jumlah akar yang terbentuk biasanya jauh lebih banyak dibandingkan dengan kuantitas tunas.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian terhadap kultur *in vitro* embrio biji mangga marapalam yang telah dilakukan, dapat ditarik beberapa kesimpulan sebagai berikut :

1. Pertumbuhan eksplan embrio mangga marapalam yang diekspresikan dalam bentuk persentase eksplan membentuk akar dan tunas, Waktu pemunculan akar dan tunas, jumlah tunas dan akar, dan panjang akar sama baiknya pada media MS, WPM, dan B5.
2. Eksplan embrio biji mangga marapalam dapat tumbuh dengan normal pada media MS, WPM, dan B5 dengan persentase pembentukan akar dan tunas mencapai 100 %.

5.2. Saran

Disarankan untuk melakukan percobaan lanjutan dengan menggunakan bagian tanaman selain embrio untuk pertumbuhan mangga marapalam yang optimum secara *in vitro*.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, A. 1991. Kegunaan Kultur Jaringan Dalam Pelestarian *Plasma nutfah*. Buletin Penelitian Tanaman Industri. No.2: 35-39.
- Bajaj, Y.P.S. 1986. *In vitro* Preservation of Genetic Resources: Tehniques and Problems, pp. 43-57. *In* Proceedings of an International Symposium on Nuclear Techniques and *In vitro* Culture for Plant Improvement. International Atomic Energy Agency. Vienna.
- Bhojwani, S.S. 1990. Plant Tissue Culture: Application and Limitations. Elsevier Science Publishers. Netherlands.
- Dhanurirto, H. 1990. Peranan *Plasma nutfah* Dalam Pengembangan Bioteknologi (Khususnya Penyediaan Pangan). Sarasehan *Plasma nutfah* dan Bioteknologi. KPPNI. Bogor. Hal. 18-23.
- Departemen Pertanian. 2004. Pusat Data Tanaman Perkebunan dan Hortikultura, Departemen Pertanian Republik Indonesia.
- Gamborg, O.L. 1991. Media Preparation. Plant Tissue Culture Manual. Khwer Academic Publication. Netherlands.
- _____ and J.P. Shyluk. 1981. ° Nutrient, Media and Characteristic of Plant cell and Tissue Cultures. *In* Plant Tissue Culture (Eds.) T.T. Thorpe. pp 21-24.
- George, E.F., and P.D. Sherrington. 1984. Plant Propagation by Tissue Culture. Exegetics Ltd. England.
- Gunawan, L. W. 1988. Teknik Kultur Jaringan Tumbuhan. PAU Bioteknologi IPB. Bogor. 304 hal.
- Kantor Kementrian Negara KLH. 1992. Indonesia Country Study on Biological Diversity, Kementrian Negara KLH.
- Krisnamoorthy, 1981. Plant Growth Substance Including Aplication in Agriculture. Tata Mc. Graw Hill. Pub. Co. Ltd. New Delhi. 214p.
- Lakitan, B. 2004. Dasar-Dasar Fisiologi Tumbuhan. Penerbit Rajawali Pers. Jakarta.
- Mariska, I., Suwarno dan D.S. Darmadjati. 1996. Pengembangan Konservasi *In vitro* Sebagai Salah Satu Bentuk Pelestarian *Plasma nutfah* di Dalam Bank Gene. Makalah Seminar Sehari Penyusunan Konsep Pelestarian *Ex Situ Plasma nutfah* Pertanian. Bogor.

- Rahman, M. 2003. Pengelolaan Keanekaragaman Sumberdaya Alam Hayati Yang Berkelanjutan. Makalah Seminar Nasional Pengelolaan Keanekaragaman Sumberdaya Hayati Yang Berkelanjutan. Universitas Andalas. Padang.
- Rukmana, R. 1997. Mangga; Budidaya dan Pascapanen. Penerbit Kanisius. Jakarta.
- Sharrock, S., dan J. Engels. 1997. Complementary Conservation. Dalam INIBAP Networking Banana and Plantain. Plantain Report. 1996. pp. 6-9.
- Suliansyah, I. 2002. Kultur Jaringan. Fak. Pertanian UNAND. Padang.
- Taji, M.A., A.W. Dodd, and R.R. Williams. 1992. Plant Tissue Culture Practice. Botany Dept. and Dept. Agronomy and Soil Science, University of New England, Armidale. Centre for Biological Population Management Queensland University of Technology. Brisbane.
- Pracaya. 2001. Bertanam Mangga. Penebar Swadaya. Jakarta. 144 hal.
- Pierik, R.L.M. 1987. In Vitro Culture of Higher Plants. Martinus NIJKHOFF Publ. Boston. 334p.
- Wattimena GA, Ansori N. 1992. Pelestarian plasmanutfah tanaman. Di dalam: Harran S, Ansori N, (ed). Bioteknologi Pertanian 2. Pusat Antar Universitas Bioteknologi Institut Pertanian Bogor. Bogor. Hal 13-51.
- Wattimena, G.A. 1991. Bioteknologi Tanaman. PAU Bioteknologi IPB. Bogor. 507 hal.
- Wetherell, N.A.D.F. 1982. Introduction to *In vitro* Propagation. Avery Publishing Group INC. Wayne, New Jersey.
- Zaid, A. 1985. *In vitro* Browning of Tissues and Media With Special Emphasis to Date Palm Culture a Review. pp. 561-566. *In Acta Horticulturae* Vol. II. Symposium on *In vitro* Problems Related to Mass Priopagation of Horticultural Plants.

Lampiran 1. Komposisi Nutrisi Media Dasar MS

Bahan Kimia	Larutan Baku (mg.l ⁻¹)	Larutan Stok (g.l ⁻¹)	Kepekatan (kali)	Kebu-Tuhan Media/l	Kode Stok
Makro Nutrisi					
KNO ₃	1900	19.00	10	100	A
NH ₄ NO ₃	1650	16.50	10	100	B
CaCl ₂ ·2H ₂ O	440	4.40	10	100	C
MgSO ₄ ·7H ₂ O	370	3.70	10	100	D
KH ₂ PO ₄	170	1.70	10	100	D
Mikro Nutrisi					
MnSO ₄ ·4H ₂ O	22.30	223*	100	10	E
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	8.60	86*	100	10	E
H ₃ BO ₃	6.20	62*	100	10	E
KJ	0.83	8.30*	100	10	
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.025	0.25*	100	10	F
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0.25	2.50*	100	10	F
CoCl ₂ ·6H ₂ O	0.025	0.25*	100	10	F
Na EDTA·2H ₂ O	37.30	7.45	200	5	G
FeSO ₄ ·7H ₂ O	27.80	5.57	200	5	G
Vitamin					
Myo-inositol	100	1.000*	100	10	H
Thiamine	0.10	50*	1.000	1	I
Nicotinic Acid	0.50	50*	1.000	1	J
Pyridoxin HCl	0.50	10*	1.000	1	K
Glycin	2.00	2.00	1.000	1	L
Sukrosa	30.000				

Sumber : George dan Sherington, (1984)

pH Media : 5.8

*) : Mg/100 ml Larutan stok

Lampiran 2. Komposisi Nutrisi Media Dasar WPM

Bahan Kimia	Larutan Baku (mg.l ⁻¹)	Larutan Stok (g.l ⁻¹)	Kepekatan (kali)	Kebu-Tuhan Media/l	Kode Stok
Makro Nutrisi					
NH ₄ NO ₃	400	20.00	50	20	A
Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	576	28.80	50	20	B
CaCl ₂ .2H ₂ O	96	9.60	100	10	C
MgSO ₄ .7H ₂ O	370	37.00	100	10	D
KH ₂ PO ₄	170	17.00	100	10	D
K ₂ SO ₄	990	99.00	100	10	D
Mikro Nutrisi					
MnSO ₄ .4H ₂ O	22.30	4.46	200	5	E
ZnSO ₄ .7H ₂ O	8.60	1.72	200	5	E
H ₃ BO ₃	6.20	1.24	200	5	E
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0.25	0.05	200	5	F
FeSO ₄ .7H ₂ O	27.80	5.56	200	5	G
Na ₂ EDTA	37.30	7.46	200	5	G
Vitamin					
Myo-inositol	100	10.00	100	10	H
Thiamine	1.00	100.00*	1000	1	I
Nicotinic Acid	0.50	50.00*	1000	1	J
Pyridoxin HCl	0.50	50.00*	1000	1	K
Sukrosa	20.000				

Sumber : George dan Sherington, (1984)

pH Media : 5.8

*) : Mg/100 ml Larutan stok

Lampiran 3. Komposisi Nutrisi Media Dasar B5

Bahan Kimia	Larutan Baku (mg.l ⁻¹)	Larutan Stok (g.l ⁻¹)	Kepekatan (kali)	Kebu-Tuhan Media/l	Kode Stok
Makro Nutrisi					
KNO ₃	2500	25.00	10	100	A
(NH ₄) ₂ SO ₄	134	1.34	10	100	B
CaCl ₂ 2H ₂ O	150	1.50	10	100	C
MgSO ₄ .7H ₂ O	250	2.50	10	100	D
NaH ₂ PO ₄ .H ₂ O	150	1.50	10	100	D
Mikro Nutrisi					
MnSO ₄ .4H ₂ O	10	100*	100	10	E
H ₃ BO ₃	3	30*	100	10	E
ZnSO ₄ .7H ₂ O	2	20*	100	10	E
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0.25	2.50*	100	10	F
CuSO ₄ .5H ₂ O	0.025	0.25*	100	10	F
CoCl.6H ₂ O	0.025	0.25*	100	10	F
Na ₂ EDTA	37.30	7.45	200	5	G
FeSO ₄ .7H ₂ O	27.80	5.57	200	5	G
Vitamin					
Myo-inositol	100	1000*	100	10	H
Thiamine	10	1000*	1000	1	I
Nicotinic Acid	1	100*	1000	1	J
Pyridoxin HCl	1	100*	1000	1	K
Sukrosa	20.000				

Sumber : George dan Sherington, (1984)

pH Media : 5.8

*) : Mg/100 ml Larutan stok

Lampiran 4. Tabel Sidik Ragam

Tabel 4.a. waktu pemunculan tunas (hari)

No	Sumber	db	JK	KT	F hit	F tabel 5%
1	Perlakuan	2	41,9668	20,9834	0,19	5,14
2	Galat (sisa)	6	679,7461	113,2910		
3	Total	8	721,7129			

Tabel 4.b. waktu pemunculan akar (hari)

No	Sumber	db	JK	KT	F hit	F tabel 5%
1	Perlakuan	2	50,8398	25,4199	0,91	5,14
2	Galat (sisa)	6	167,1377	27,8562		
3	Total	8	217,9776			

Tabel 4.c. panjang akar terpanjang (cm) per tanaman

No	Sumber	db	JK	KT	F hit	F tabel 5%
1	Perlakuan	2	19,1724	9,58618	1,31	5,14
2	Galat (sisa)	6	43,7620	7,29366		
3	Total	8	62,9343			

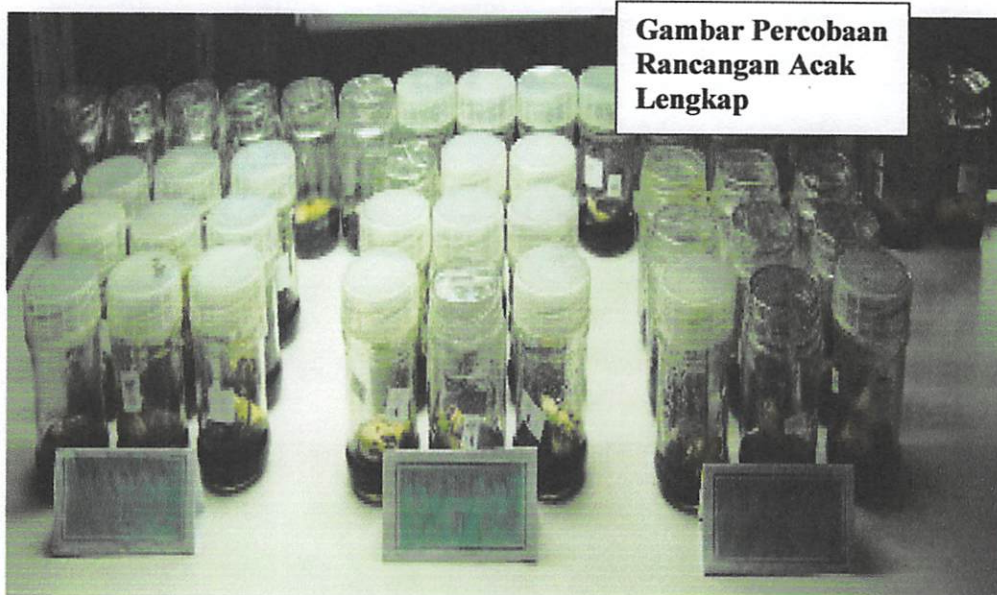
Tabel 4.d. jumlah akar per tanaman

No	Sumber	db	JK	KT	F hit	F tabel 5%
1	Perlakuan	2	79,4336	39,71680	0,34	5,14
2	Galat (sisa)	6	707,7305	117,9551		
3	Total	8	787,1641			

Tabel 4.e. jumlah tunas per tanaman

No	Sumber	db	JK	KT	F hit	F tabel 5%
1	Perlakuan	2	0.7222	0.36108	1.37	5,14
2	Galat (sisa)	6	1.5827	0.26378		
3	Total	8	2.3048			

Lampiran 5. Gambar denah RAL



Gambar Denah Rancangan Acak Lengkap

Ulangan 1			Ulangan 2				Ulangan 3	
MS.1	B5.3	WPM.3	B5.1	B5.3	B5.2	WPM.1	MS.1	WPM.3
WPM.2	MS.2	MS.3	WPM.3	WPM.1	MS.1	MS.3	B5.3	MS.2
B5.2	WPM.1	B5.1	MS.3	MS.2	WPM.2	B5.2	B5.1	WPM.2

Lampiran 6. Gambar Mangga Marapalam



Saat awal tumbuh tunas



Saat awal tumbuh akar

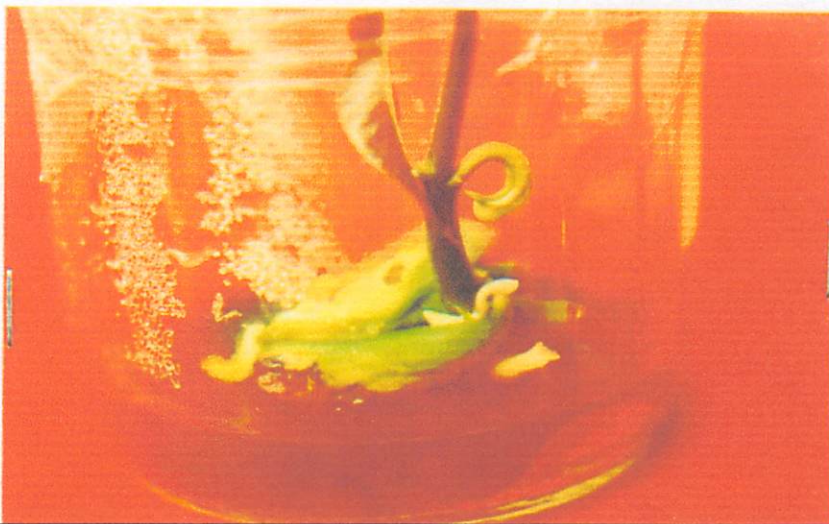


**Saat tanaman mangga marapalam
Tumbuh sempurna (akar dan tunas)**

Lampiran 7. Gambar Tunas



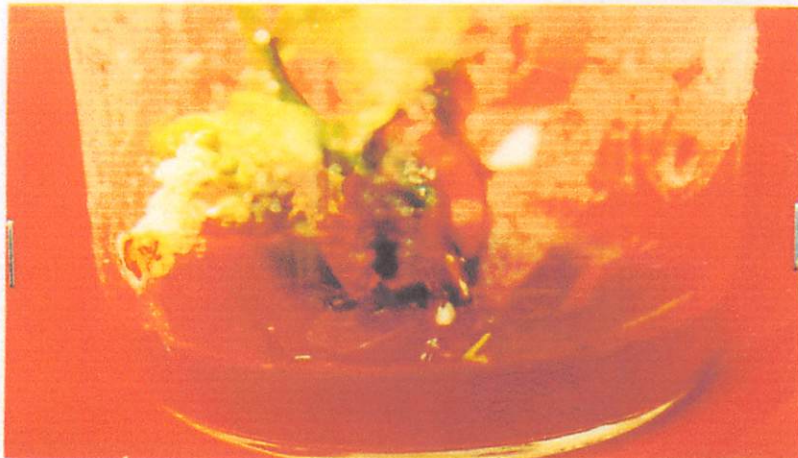
Gambar jumlah tunas dari media WPM sebanyak 2 buah tunas



Gambar jumlah tunas dari media MS sebanyak 1 buah tunas

Lampiran 8. Gambar Akar

Gambar panjang akar terpanjang dari media B5 dengan ukuran 18,44 cm



Gambar jumlah akar terbanyak dari media WPM sebanyak 85 buah

Lampiran 10. Deskripsi mangga marapalam

- Nama daerah :** Mangga Marapalam
- Nama latin :** Mangifera Indica
- Habitus :** Berupa pohon berbatang tegak, bercabang banyak, bertajuk rindang dan berdaun bulat
- Tinggi :** 10 – 40 meter
- Umur :** Mencapai 100 tahun lebih
- Bentuk bunga :** Majemuk bertandan
- Warna bunga :** Kuning pucat, sedang bagian tengah terdapat garis-garis timbul sebanyak 3 – 5 dengan warna kuning sedikit tua. Warna tepi mahkota putih, ketika akan layu warna mahkota bunga jadi kemerahan
- Bentuk buah :** Bulat telur
- Warna buah :** Hijau