

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA, KERANGKA PEMIKIRAN DAN HIPOTESIS

2.1 Tinjauan pustaka

2.1.1 Sejarah dan manfaat tanaman manggis

Manggis atau dalam Bahasa latin *Garcinia mangostana* L. merupakan buah-buahan eksotik yang sangat terkenal di luar negeri maupun dalam negeri dan memiliki julukan sebagai *Finest fruit of the Tropics* dan *Queen of Fruits*. Buah manggis tercatat tumbuh di berbagai negara tropis seperti Amerika Tengah, Myanmar, Indocina, Philipina, Thailand, Australia, dan Indonesia. Manggis termasuk salah satu tanaman tropis asal Indonesia yang kemudian tersebar ke seluruh berbagai negara tropis di dunia (Pitojo dan Puspita, 2007).

Tersebarinya tanaman manggis selain karena buahnya memiliki cita rasa yang lezat juga memiliki kandungan serat dan folat yang baik untuk dikonsumsi. Kandungan serat yang tinggi pada buah manggis dapat membantu penyerapan kolesterol dalam darah sehingga mampu menurunkan resiko penyakit darah tinggi, jantung koroner, dan stroke. Kandungan folat yang tinggi dalam manggis juga sangat baik dikonsumsi untuk ibu hamil yang mampu mencegah terjadinya kelainan pada bayi. Kandungan kalium yang tinggi juga terdapat pada buah manggis sehingga mampu mencegah terjadinya dehidrasi (Nurchasanah, 2016).

Manggis mengandung senyawa bioaktif seperti xanthon, terpen, antosianin, tannin, fenol, dan beberapa vitamin. Nilai gizi yang terkandung pada 100 gram manggis diantaranya: 80,9 gram air; 0,5 gram protein; 18,4 gram karbohidrat; 1,7 gram serat; 9 mili gram kalsium; 14 mili gram fosfor; 0,5 mili gram zat besi; 2 mili gram vitamin C; 0,09 mili gram vitamin B1 (thiamine); 0,06 mili gram vitamin B2 (riboflavin); dan 0,1 miligram vitamin B5 (niacin). Turunan dari senyawa bioaktif xanton berupa α -mangostin memiliki berbagai aktifitas farmakologis seperti antidiabetes, antioksidan, anti-inflamasi, dan lain-lain (Ansori dkk, 2020).

2.1.2 Klasifikasi dan deskripsi tanaman manggis

Sistematika atau klasifikasi dari tanaman manggis didalam ilmu botani adalah sebagai berikut:

Kindom : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Sub divisi : Angiospermae
Kelas : Dicotyledoneae
Ordo : Parietales
Famili : Guttiferae
Genus : *Garcinia*
Spesies : *Garcinia mangostana* L.

Sumber: Pitojo dan Puspita (2007)

Setiap tanaman memiliki ciri-ciri dan bentuk yang khas. Adapun deskripsi masing-masing bagian dari tanaman manggis diantaranya sebagai berikut (Pitojo dan Puspita, 2007):

a. Habitus

Habitus tanaman manggis berbentuk pohon dengan tajuk yang rimbun, bentuknya mirip kerucut, bagian bawah lebar dan bagian ujungnya menyempit. Tanaman manggis juga memiliki tampilan yang terlihat kuat dan kekar. Terdapat sedikit perbedaan habitus pohon manggis dari biji dengan yang berasal dari perbanyakan secara vegetatif. Pada umumnya tanaman manggis yang berasal dari biji dapat tumbuh lebih tinggi dibandingkan tanaman manggis hasil perbanyakan vegetatif. Tinggi pohon manggis sekitar 6 sampai 20 meter. Tanaman manggis merupakan tanaman tahunan sehingga pertumbuhan pohon tergolong lambat.

b. Akar

Akar pada tanaman manggis memiliki perbedaan tergantung dari asal benihnya. Tanaman manggis alami yang berasal dari biji memiliki akar tunggang sedangkan yang berasal dari sambung pucuk dan tanaman susuan manggis, akar tunggangnya adalah yang berasal dari biji tanaman lain yang disambungkan. Akar tunggang tanaman manggis membentuk akar serabut dan umumnya tidak banyak

dibandingkan dengan tanaman tahunan lainnya. Akar tanaman manggis memiliki warna putih kecoklatan dengan sistem perakaran tidak sekuat perakaran tanaman keras lainnya. Jumlah akar umumnya sedikit, bulu akar tidak terbentuk, lambatnya pertumbuhan akar, mudah terganggu dan rusak, kontak antara permukaan akar dengan media tanam terbatas, sehingga perakaran manggis tidak sampai masuk jauh ke dalam tanah. Hal ini menjadi salah satu alasan mengapa daya serap air dan unsur hara dari dalam tanah menjadi terbatas, laju fotosintesis rendah, dan laju pertumbuhan meristem pucuk yang rendah pula. Oleh karenanya pertumbuhan pada tanaman manggis lambat dan tanaman mulai berbuah setelah umur tanaman lebih dari 8 tahun.

c. Batang, cabang, dan ranting

Tanaman manggis memiliki batang berkayu keras, bulat, tegak, dan berwarna kecoklatan. Batang manggis membentuk percabangan dan ranting simpodial (sepasang ke arah kanan dan kiri batang dan cabang). Selain tumbuh ke atas, cabang dan ranting tanaman manggis juga tumbuh ke arah samping. Forma tanaman manggis yang terbentuk oleh cabang dan ranting yaitu membentuk tajuk rimbun dan rindang. Seiring dengan pertumbuhan cabang dan ranting, maka semakin banyak buah yang dihasilkan oleh tanaman. Pada tanaman yang sudah berumur tua, kadang-kadang sebagian cabang batang bagian bawahnya sudah mati dan dipotong, kemudian meninggalkan bekas pangkal cabang berupa tonjolan pada batangnya, sehingga batang manggis tidak rata dan mulus. Kulit batang manggis berwarna coklat keruh atau kotor, serta memiliki getah berwarna kuning.

d. Daun

Daun manggis pertama kali muncul berasal dari biji yang telah tumbuh. Ukurannya kecil dan tampak indah berwarna merah. Pertumbuhan daun sepenuhnya didukung oleh cadangan makanan yang berada pada endosperm biji. Dedaunan yang terbentuk pada tanaman manggis berupa daun tunggal, duduk daun saling berhadapan atau bersilang berhadapan, dan wujudnya berupa helaian. Permukaan atas daun berwarna hijau gelap dan mengkilap serta permukaan bagian bawahnya berwarna hijau terang. Daun manggis berbentuk elips atau oval memanjang dan memiliki tangkai sepanjang 1,5 sampai 2 cm. Daun manggis juga kaku dan tebal.

Ukuran pada daun manggis umumnya bervariasi tergantung dari jenis tanaman dan faktor lingkungan tempat tumbuhnya. Di daerah dengan curah hujan lebih dari 3000 mm/tahun, daun tanaman manggis cenderung lebih lebar.

e. Bunga

Bunga pada tanaman manggis muncul dari ketiak daun, bertangkai silindris dengan panjang tangkai bunga sekitar 1 sampai 2 cm. Garis tengah bunga berkisar antara 5 sampai 6 cm. Mahkota bunga memiliki 4 daun kelopak, 2 daun kelopak paling luar ukurannya lebih besar, dan 2 daun mahkota dalam lebih kecil. Bentuk kelopak bunga melengkung kuat, tumpul, seperti telur terbalik, dagingnya tebal, memiliki warna hijau kuning dan tepinya pada umumnya berwarna merah. Staminodia (benang sari mandul) umumnya dalam tukul atau kelompok. Bakal buah memiliki 4 sampai 8 ruang, atau menyesuaikan dengan banyaknya sel telur. Jari-jari kepala putik sekitar 4 sampai 8 dengan benang sari berwarna kuning dan putik satu berwarna putih kekuningan. Biasanya manggis berbuah pada bulan Mei sampai Januari.

f. Buah

Buah manggis merupakan buah buni yaitu buah yang dihasilkan dari bunga betina tanpa mengalami proses persarian (apomiksis). Buah manggis berbentuk bulat seperti bola dengan garis tengah 3,5 sampai 7 cm dan memiliki kepala putik yang duduk tetap melekat pada kulit buah. Saat masih muda, kulit buah berwarna hijau kemudian warnanya berubah menjadi merah tua hingga ungu seiring dengan perkembangan umur buah yang semakin tua atau matang. Buah manggis memiliki kulit yang berdinding tebal lebih dari 9 mm, dengan daging berwarna ungu. Apabila kulit buah terbuka terlalu lama serta terkena udara maka warnanya akan berubah menjadi kecoklatan. Pada daging kulit buah manggis terdapat berbagai jaringan yang mengandung getah kuning yang rasanya pahit dan sangat terlihat ketika buah baru dipetik.

Daging buah manggis terdiri dari beberapa segmen atau juring. Jumlah juring tergantung pada bekas kepala putik yang terdapat pada ujung buah yang melekat di kulitnya. Biasanya juring yang terdapat pada buah manggis sekitar 5 sampai 7, namun ada juga dengan jumlah juring 4 dan 8 meskipun jarang ditemui. Daging

buah manggis memiliki warna putih bersih dan mengandung banyak air, rasanya manis dan segar tapi sedikit asam. Terkadang berat buah bisa mencapai lebih dari 140 gram. Untuk lebih jelasnya buah manggis dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.)

Sumber: Kementerian Pertanian Republik Indonesia (2021)

g. Biji

Pada setiap segmen buah manggis memiliki bakal biji, namun tidak semuanya akan menjadi biji. Biasanya buah yang ukurannya besar akan mempunyai 2 biji sedangkan yang ukurannya kecil hanya ada satu biji atau tidak sama sekali. Biji buah manggis memiliki bentuk yang agak bulat pipih, tidak rata dan berukuran kecil dengan diameter sekitar 2 cm serta memiliki warna kecoklatan. Terdapat selaput tipis (testa) dan daging tebal berair dengan warna putih yang menyelimuti endosperm biji. Biji yang gagal tumbuh sempurna dapat dimakan. Daging buah manggis umumnya mudah terlepas dari bijinya. Biji manggis juga tidak mengalami dormansi artinya setelah dilakukan penyemaian selama 15 hari maka akan mulai berkecambah. Mata tunas pucuk dan akar letaknya tidak menyatu serta berbeda tempat dimana saat belum berkecambah sulit untuk melihatnya dengan mata kepala secara langsung. Biji manggis memiliki sifat rekalsitran artinya tidak dapat hidup lama setelah mengalami pengeringan dengan kadar air yang sangat rendah.

2.1.3 Teknik regenerasi secara *In Vitro* (Kultur Jaringan)

Kultur jaringan merupakan teknik isolasi bagian tanaman seperti sel, jaringan atau organ, dan membudidayakannya pada lingkungan yang terkendali (secara *in vitro*) dalam kondisi aseptik, sehingga bagian dari tanaman tersebut mampu

beregenerasi menjadi tanaman yang utuh kembali (Bhojwani dan Razdan, 1996). Teknik kultur jaringan berasal dari bahasa Latin “*in vitro*” yang berarti “di dalam kaca”. Oleh karena itu, perbanyak tanaman melalui kultur jaringan berbeda dengan perbanyak secara konvensional. Hal ini karena pada kultur jaringan perbanyak dilakukan dalam kondisi aseptik dan dalam wadah transparan berisi medium nutrisi yang ditempatkan pada lingkungan cahaya, kelembaban dan temperatur nya terkontrol (Hardjo, 2018).

Kemampuan sel tanaman untuk menjadi tanaman yang utuh atau lengkap (totipotensi) dapat dimanfaatkan untuk meregenerasi tanaman secara *in vitro* dari sumber berupa protoplas, sel, jaringan, dan organ. Teknik kultur jaringan, sel, dan protoplas telah banyak digunakan untuk perbanyak berbagai macam tanaman. Misalnya, kultur kalus yang dikembangkan dari eksplan dapat diregenerasi sampai membentuk tanaman yang lengkap. Proses pembentukan organ-organ tanaman yang utuh dari kultur sel atau jaringan disebut organogenesis. Teknik penginduksian organogenesis biasanya dilakukan pada kultur kalus, meskipun juga dapat dilakukan secara langsung dari eksplan yang ditumbuhkan pada media kultur (Yuwono, 2016).

Sekarang ini tanaman hasil kultur *in vitro* telah berhasil dilakukan pada banyak jenis tanaman, misalnya tanaman hias, tanaman pangan, sayuran, tanaman bumbu, tanaman buah dan biji, tanaman obat dan tanaman hutan (Yuwono, 2016). Adapun sumber eksplan, proses regenerasi, dan faktor-faktor yang mempengaruhi regenerasi dapat dirinci sebagai berikut (Yuwono, 2016):

1. Eksplan

Secara umum terdapat empat sumber yang digunakan dalam perbanyak mikro (*micropropagation*) untuk menghasilkan planlet, yaitu meristem, apex, nodus atau *node*, dan bermacam-macam eksplan. Meristem, apex dan nodus dapat dikulturkan menjadi tunas. Tunas yang dihasilkan selanjutnya dapat digunakan sebagai sumber untuk menghasilkan tunas-tunas baru dengan menggunakan percabangan axilari. Tunas-tunas tersebut kemudian dapat dikembangkan lebih lanjut sehingga terbentuk perakaran dan akhirnya menjadi planlet. Berbagai macam eksplan dapat juga dikembangkan sehingga terbentuk tunas adventif, atau

embrio somatik secara langsung. Eksplan juga dapat ditumbuhkan sebagai kalus yang selanjutnya diinduksi sehingga terbentuk tunas adventif. Selain itu, kalus juga dapat digunakan sebagai sumber sel untuk membuat kultur suspensi sel yang selanjutnya dapat dikembangkan untuk menghasilkan embrio somatik secara tidak langsung. Eksplan maupun kalus yang membentuk tunas adventif selanjutnya dapat diinduksi sehingga membentuk akar dan akhirnya menjadi planlet. Embrio somatik, baik yang dihasilkan secara langsung maupun tidak langsung, dapat diinduksi sehingga berkecambah dan akhirnya juga menjadi planlet.

2. Proses Regenerasi

Proses-proses regenerasi tanaman secara umum dapat dikelompokkan menjadi empat macam, yaitu:

- a. Embriogenesis somatik, yang mengarah ke pembentukan struktur bipolar yang mengandung axis tunas dan akar dengan sistem vascular tertutup. Embriogenesis somatik dapat dihasilkan secara langsung atau secara tidak langsung melalui pembentukan kalus dari eksplan.
- b. Pembentukan tunas axilari, yang secara genetik stabil. Pembentukan tunas axilari merupakan metode yang paling baik karena planlet yang dihasilkan adalah benar-benar serupa dengan tanaman induk. Metode ini juga disebut dengan perbanyakan klonal.
- c. Pembentukan tunas adventif, yaitu tunas yang terbentuk dari sumber selain meristem. Stabilitas genetik planlet yang terbentuk dari tunas adventif semacam ini tidak dapat dijamin sebab jika kalus terbentuk maka kemungkinan ketidakstabilan genetik akan meningkat.
- d. Organogenesis, yaitu pembentukan organ dari jaringan yang tidak mengalami diferensiasi, yaitu dalam hal ini adalah kalus.

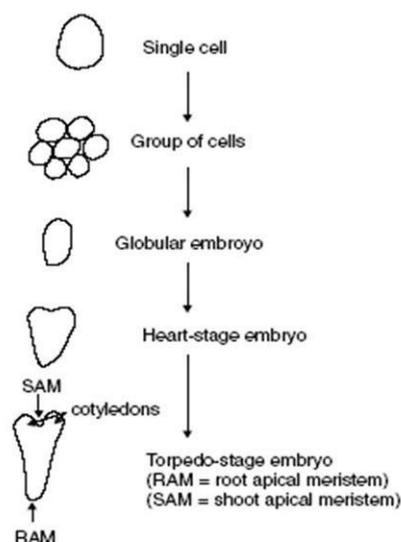
3. Faktor-faktor yang mempengaruhi regenerasi

Proses regenerasi dari bermacam-macam sumber sampai menjadi planlet dipengaruhi oleh dua faktor utama, yaitu sumber eksplan, dan komponen media. Sumber eksplan dapat mempengaruhi proses regenerasi karena beberapa faktor, yaitu organ yang digunakan, status fisiologi organ, musim pada waktu organ diambil, ukuran eksplan, dan kualitas keseluruhan tanaman sebagai sumber

eksplan. Di sisi lain, komponen media yang mempengaruhi proses regenerasi adalah nutrient anorganik dan organik, sumber karbon, sumber nitrogen, zat pengatur tumbuh, dan vitamin.

2.1.4 Embriogenesis somatik

Dwiyani (2015) menyatakan bahwa embriogenesis somatik merupakan proses terbentuknya struktur yang menyerupai embrio dari sel-sel somatik dengan melewati fase yang hampir serupa dengan pembentukan embrio zigotik hasil fertilisasi. Embriogenesis somatik terbentuk dari suatu sel tunggal atau sekelompok sel yang kemudian memasuki fase bentuk bundar (*globular stage*), fase bentuk hati (*heart stage*) dan fase torpedo (*torpedo stage*), setelah itu barulah menjadi planlet seperti yang dapat dilihat pada Gambar 2. Pada fase torpedo, meristem ujung batang dan meristem ujung akar biasanya sudah dapat terdeteksi serta dua buah kotiledon juga terbentuk. Meristem ujung akar (*root apical meristem*) nantinya akan berkembang menjadi akar sedangkan meristem ujung batang (*shoot apical meristem*) akan berkembang menjadi tunas. Embriogenesis somatik secara umum terjadi pada famili *Ranunculaceae*, *Rutaceae*, *Solanaceae*, *Umbelliferae*, dan *Gramineae*.



Gambar 2. Proses terbentuknya embrio somatik

Sumber: Dwiyani (2015)

Berdasarkan proses pembentukannya, terdapat dua macam cara untuk menghasilkan embrio somatik yaitu (Yuwono, 2016):

1. *Embrio yang terbentuk secara langsung* dari sel atau jaringan tanpa melalui pembentukan kalus. Embrio semacam ini dapat terbentuk misalnya dari sel-sel epidermis hipokotil (misalnya pada *Ranunculus sceleratus*, *Linum usitatissimum*, *Brassicinapus*). Sel-sel yang membentuk embrio semacam ini disebut *Pre-Embryonic Determined Cells* (PEDC).
2. *Embrio yang terbentuk secara tidak langsung* yaitu melalui tahapan pembentukan kalus. Embrio semacam ini misalnya dapat terbentuk dari eksplan daun *Coffea arabica*, *Petunia hybrida*, *Asparagus officinalis*. Induksi pembentukan embrio dari kalus atau eksplan memerlukan penambahan auksin ke dalam medium yang digunakan. Meskipun demikian untuk beberapa tanaman seperti wortel, pembentukan embrio dari kalus tidak memerlukan penambahan auksin. Sel-sel yang membentuk embrio setelah diinduksi semacam ini disebut sebagai *Induced Embryogenic Determined Cells* (IEDC).

Menurut Purnamaningsih (2002), embriogenesis somatik memiliki beberapa tahapan spesifik, diantaranya:

1. *Induksi sel dan kalus embriogenik*. Pada tahap ini dilakukan isolasi eksplan dan penanaman pada media tumbuh. Biasanya induksi kalus embriogenik kultur ditumbuhkan pada media yang mengandung auksin yang mempunyai daya aktivitas yang kuat atau dengan konsentrasi tinggi.
2. *Pendewasaan*. Tahap pendewasaan atau pematangan merupakan tahap perkembangan dari struktur globular membentuk kotiledon dan primordia akar. Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa tahap pendewasaan adalah tahap yang paling sulit. Pada tahap ini juga sering digunakan auksin dengan konsentrasi rendah.
3. *Perkecambahan*. Tahap perkecambahan merupakan fase dimana embrio somatik membentuk tunas dan akar. Pada media perkecambahan konsentrasi zat pengatur tumbuh yang digunakan sangat rendah atau bahkan tidak diberikan sama sekali.

4. *Hardening*. Hardening yaitu tahap aklimatisasi bibit embrio somatik dari kondisi *in vitro* ke lingkungan baru di rumah kaca dengan penurunan kelembaban dan peningkatan intensitas cahaya.

Pada proses pembentukan embrio somatik terdapat beberapa faktor yang dapat mempengaruhi seperti jenis eksplan, sumber nitrogen dan gula, serta zat pengatur tumbuh (Purnamaningsih, 2002).

1. *Jenis eksplan*. Penggunaan eksplan yang bersifat meristematik umumnya memberikan keberhasilan pembentukan embrio somatik yang lebih tinggi. Eksplan yang digunakan dapat berupa aksis embrio zigotik muda dan dewasa, kotiledon, mata tunas, epikotil maupun hipokotil. Hasil embrio somatik dari eksplan yang digunakan oleh setiap tanaman bisa berbeda-beda tergantung dari jenis tanaman dan tahap perkembangan dari eksplan.
2. *Sumber nitrogen dan gula*. Embriogenesis somatik mengalami proses perkembangan morfologi seperti yang terjadi pada embrio zigotik. Faktor penting dalam induksi dan perkembangan embriogenesis somatik adalah komposisi nutrisi pada media kultur. Nitrogen merupakan faktor utama dalam memacu morfogenesis secara *in vitro*. Gula juga merupakan salah satu komponen organik yang harus diberikan ke dalam media tumbuh. Gula berfungsi sebagai sumber karbon dan mempertahankan tekanan osmotik media.
3. *Zat pengatur tumbuh*. Zat pengatur tumbuh merupakan senyawa organik yang berperan dalam pertumbuhan dan perkembangan kultur. Promotor yang biasanya digunakan adalah auksin (2,4-D; 3,5-T; picloram dan NAA), sitokinin (BA, kinetin, dan adenin sulfat), G_{A3} , dan inhibitor ABA. Konsentrasi zat pengatur tumbuh yang dikembangkan tergantung pada tahap perkembangan yang terjadi. Senyawa yang biasa digunakan untuk menginduksi pembentukan embrio adalah *2,4-Dichlorophenoxy acetic acid* (2,4-D), *2,4,5-trichlorophenoxy acetic acid* (2,4,5-T) dan picloram. Beberapa tanaman monokotil dan dikotil dapat diinduksi untuk membentuk embrio dengan senyawa semacam ini. Beberapa senyawa auksin lain yang juga digunakan

untuk induksi embrio somatik adalah IAA, dan IBA. Sebaliknya, gibberellin dan etilen biasanya menghambat embriogenesis.

2.1.5 Nodulasi

Pada tahap inisiasi kalus, tunas, dan akar dari eksplan dalam pengerjaan kultur jaringan terkadang berlangsung bersamaan. Beberapa penelitian tahap inisiasi diawali dengan pembentukan kalus namun pada penelitian lain langsung menginisiasi tunas. Nodulasi merupakan proses terbentuknya nodul-nodul dari kalus maupun secara langsung. Menurut Isda dkk. (2019) nodul merupakan sekelompok sel yang menonjol menyerupai sel kambium yang membulat dan masih aktif membelah serta dapat terdiferensiasi membentuk organ tertentu yang lebih kompleks seperti tunas. Nodul juga merupakan salah satu tahap pada perkembangan organogenesis tidak langsung yang dapat terus berkembang dan membesar bertambah jumlahnya hingga proses organogenesis menjadi tunas maupun akar yang kemudian menjadi tanaman utuh. Sirchi dkk. (2008) *dalam* Isda dkk. (2019) menyatakan bahwa eksplan yang terbentuk nodul akan sedikit membentuk tunas namun dari nodul tersebut mampu berkembang menjadi tunas yang lebih banyak.

Nodul yang terbentuk dari kalus nodular umumnya sudah terbentuk pada minggu ke-3 atau ke-4 setelah kultur. Kalus nodular awalnya muncul pada bagian luka, kemudian berkembang pada bagian lain eksplan. Kalus nodular berbentuk bulat-bulat, berwarna krim, mengkilat dan relatif kompak. Proses awal perubahan kalus nodular membentuk tunas adalah dalam bentuk globular atau nodul. Nodul tersebut biasa berwarna krim, kemerahan, dan sebagian ada yang berwarna hijau mengkilat. Nodul yang terbentuk kemudian akan berkembang menjadi tunas dengan ditandai munculnya calon tunas (*plumula*) dan pemanjangan sel membentuk batang. Pembentukan nodul dari kalus nodular membutuhkan konsentrasi auksin relatif kecil sehingga dapat menginduksi kalus dan tunas adventif. Pada perkembangan nodul menjadi tunas, umumnya membutuhkan penggunaan zat pengatur tumbuh yang berbeda dari tahap sebelumnya. Apabila disubkultur ke media yang sama yang terjadi adalah peningkatan jumlah nodul dan diferensiasi nodul menjadi tunas (Joni dkk, 2012).

Proses nodulasi termasuk dalam organogenesis dengan mekanisme yang terdiri dari 3 tahap utama, yaitu dediferensiasi, induksi dan rediferensiasi. Dediferensiasi adalah mekanisme perubahan jaringan yang sudah mengalami diferensiasi kembali tidak terdiferensiasi dan kemudian terjadi induksi. Pada saat induksi jaringan yang tidak terdiferensiasi mempunyai kompetensi dan dapat melakukan determinasi. Kompetensi merupakan kemampuan suatu jaringan atau organ yang dapat memberikan tanggapan terhadap sinyal (*signal*) lingkungan atau hormonal yang mampu memprogram diri untuk mengarah pada proses organogenesis. Sinyal lingkungan atau hormonal kemudian mengarah ke pembelahan sel baru yang mengakibatkan diferensiasi ulang (rediferensiasi) menjadi jaringan-jaringan yang berbeda dengan asalnya menuju pembentukan tunas atau akar (Habibah dkk, 2021).

Proses organogenesis dipengaruhi oleh adanya senyawa-senyawa tertentu dalam medium yang digunakan. Pembentukan tunas dan akar ditentukan berdasarkan konsentrasi auksin dan sitokinin. Pada umumnya sitokinin dengan konsentrasi yang lebih tinggi mampu merangsang pembentukan tunas, kecuali pada kalus alfaalfa yang memerlukan auksin berupa 2,4-D dengan konsentrasi tinggi dan sitokinin berupa kinetin dengan konsentrasi rendah agar dapat membentuk tunas. Beberapa jenis tanaman memerlukan kinetin atau BA dengan konsentrasi rendah (0,05-46 μM) agar membentuk tunas (Yuwono, 2016).

2.1.6 Sukrosa dan madu

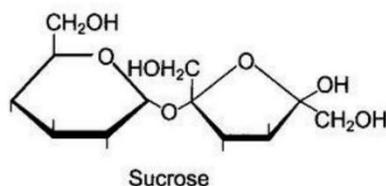
Komposisi dalam media dasar menjadi salah satu faktor penting yang dapat mempengaruhi keberhasilan kultur jaringan. Optimalisasi media dilakukan untuk meningkatkan kemampuan media tempat menginduksi pembentukan kalus, embrio, maupun regenerasi eksplan yang dikulturkan. Media yang digunakan pada kultur jaringan tanaman biasanya terdiri dari komponen hara makro, mikro, vitamin, asam amino, gula, bahan organik, agar sebagai bahan pemat, dan zat pengatur tumbuh (Marlin dkk, 2012). Setiap unsur yang terkandung dalam media memiliki fungsi dan peranan bagi metabolisme tanaman selama proses kultur jaringan berlangsung. Media MS adalah media yang sering digunakan karena mempunyai konsentrasi

garam organik yang lebih tinggi dibandingkan dengan media lain seperti nitrat, kalium, dan ammonium yang tinggi yang dibutuhkan dalam pertumbuhan tanaman pada proses kultur jaringan (Wetter dan Contabel, 1991 *dalam* Setiawati dkk, 2018).

Unsur-unsur makro dalam media MS biasanya terdiri dari KNO_3 , N_4NO_3 , $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$, dan KH_2PO_4 . Unsur-unsur mikro yang terkandung pada media MS terdiri dari $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{ZnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, dan H_3BO_3 . Sedangkan untuk vitamin yang digunakan dalam media MS diantaranya glyceline, thiamine, asam klorida, dan niasin (Komposisi media MS dapat dilihat pada Lampiran 2).

Selain unsur makro dan mikro, gula juga biasanya ditambahkan kedalam media kultur sebagai sumber karbon atau karbohidrat. Gula merupakan sumber energi utama dalam kultur jaringan. Tanaman secara alami dapat menghasilkan gula melalui proses fotosintesis, akan tetapi tanaman yang tumbuh secara *in vitro* tidak dapat melakukan fotosintesis sehingga memerlukan gula sebagai sumber energi untuk pertumbuhan dan pembelahan sel. Sukrosa merupakan sumber karbon dan energi untuk pertumbuhan dan perkembangan sel-sel baru dari eksplan yang ditanam karena eksplan umumnya tidak autotrof dan memiliki laju fotosintesis rendah. Sukrosa berperan dalam mempertahankan tekanan osmotik pada media, namun apabila konsentrasinya terlalu tinggi justru dapat menghambat pertumbuhan sel-sel baru (Hardjo, 2018). Konsentrasi sukrosa yang banyak digunakan dalam media tanam berkisar 20-60 g/L. Pendewasaan embrio somatik dapat dilakukan dengan mengkulturkan massa proembryogenik (PEM) pada konsentrasi sukrosa 20-50 g/L (Khaerasani dkk, 2017). Penambahan sukrosa yang relatif tinggi dalam media kultur untuk tanaman tertentu justru akan menghambat pertumbuhan sel-sel somatik karena tekanan osmotik yang terlalu tinggi dapat mengakibatkan kematian sel-sel akibat terjadinya lisis atau pecahnya dinding sel (Gandawijaya, 1998). Sukrosa yang ditambahkan merupakan golongan disakarida sehingga pada saat media di autoklaf, sukrosa akan dihidrolisis menjadi glukosa dan fruktosa, akan menjadi substrat yang diperlukan untuk pertumbuhan dan dapat merangsang beberapa pertumbuhan jaringan (Merkle dkk, 1990 *dalam* Kherasani dkk, 2017; Sitorus dkk, 2011). Namun, fruktosa akan bersifat *toxic* apabila di autoklaf.

Monosakarida lain juga dapat digunakan sebagai sumber gula diantaranya glukosa, sorbitol dan rafinosa (Silalahi, 2015). dapat Rumus bangun sukrosa dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Rumus bangun sukrosa ($C_{12}H_{22}O_{11}$)

Sumber: Dutta (2008)

Selain sukrosa, madu dapat digunakan sebagai senyawa organik tambahan sebagai sumber karbohidrat karena mengandung air dan karbohidrat (Isda, 2016). Madu terdiri dari 79,6% gula dan 17,2% air. Gula yang paling banyak terdapat pada madu adalah 38,5% fruktosa dan 31,0% glukosa dan jenis gula lainnya dalam jumlah yang kecil seperti sukrosa, maltose, rafinosa, dan isomaltulosa. Madu juga mengandung banyak mineral seperti natrium, kalsium, magnesium, aluminium, besi, fosfor, dan kalium. Vitamin yang terkandung dalam madu diantaranya tiamin (B1), riboflavin (B2), asam askorbat (C), piridoksin (B6), niasin, asam pantotenat, biotin, asam folat, dan vitamin K (Wulandari, 2017).

Tabel 1. Komposisi madu berdasarkan Standar Nasional Indonesia (2004)

Komposisi	Jumlah
Kalori	328 kal
Kadar Air	17,2 g
Protein	0,5 g
Karbohidrat	82,4 g
Abu	0,2 g
Tembaga	4,4 – 9,2 mg
Fosfor	1,9 – 6,3 mg
Besi	0,06 – 1,5 mg
Mangan	0,02 – 0,4 mg
Magnesium	1,2 – 3,5 mg
Thiamin	0,1 mg
Riboflavin	0,02 mg
Niasin	0,2 g
Lemak	0,1 g
pH	3,9
Asam	43,1 mg

Sumber: Wulandari (2017)

Beberapa vitamin yang terkandung dalam madu memiliki peran penting untuk teknik embriogenesis somatik. Tiamin memiliki peran penting dalam mempercepat pembelahan sel, sebagai koenzim dalam reaksi yang menghasilkan energi dan karbohidrat, serta mampu memindahkan energi. Asam askorbat berperan dalam pemberian vitamin C yang mampu mencegah pencoklatan pada permukaan irisan jaringan. Piridoksin juga berperan dalam pemindahan asam-asam amino dalam sel (Sandra, 2019). Komposisi kimia madu per 100 gram dapat dilihat pada Tabel 1.

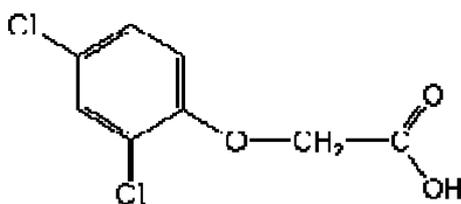
2.1.7 2,4-D dan BAP

Zat pengatur tumbuh atau sering disebut dengan fitohormon adalah salah satu faktor penting yang menentukan keberhasilan dalam pertumbuhan dan diferensiasi. Diantara lima hormon tanaman yang diketahui seperti auksin, sitokinin, giberelin, ABA, dan stilen, yang paling sering digunakan dalam sistem kultur jaringan adalah hormon auksin dan sitokinin. Auksin dan sitokinin mampu menstimulasi pembelahan sel dan mengontrol diferensiasi sel dan morfogenesis. Walaupun auksin dan sitokinin tersedia secara alami seperti IAA, zeatin, dan 2iP, namun auksin sintetik seperti 2,4-D, IBA, dan NAA serta sitokinin sintetik berupa kinetin dan BAP juga sering digunakan (Matuti, 2017).

Penggunaan zat pengatur tumbuh dalam kultur jaringan tergantung pada jenis tanaman yang digunakan serta tujuan dari kegiatan tersebut. Untuk pembentukan tunas umumnya menggunakan zat pengatur tumbuh sitokinin berupa BA atau kinetin, untuk pembentukan kalus menggunakan auksin 2,4-D dan untuk pembentukan akar menggunakan auksin berupa IAA, IBA, atau NAA. Pada tanaman tertentu sering pula digunakan kombinasi sitokinin dan auksin tergantung dari tujuannya untuk pembentukan tunas, akar, atau kalus. Perimbangan sitokinin terhadap auksin atau sebaliknya dapat mengarahkan proses morfogenesis. Untuk regenerasi melalui jalur embriogenesis somatik diperlukan beberapa tahapan dengan menggunakan konsentrasi zat pengatur tumbuh yang berbeda. Untuk pembentukan kalus embriogenik umumnya digunakan auksin kuat seperti 2,4-D.

Untuk tahap berikutnya konsentrasi auksin diturunkan dan pada tahap pendewasaan digunakan sitokinin (Lestari, 2011).

2,4-D (*2,4-Dichlorophenoxy acetic acid*) merupakan salah satu zat pengatur tumbuh yang digolongkan dalam auksin yang berperan dalam merangsang pembelahan dan pembesaran sel yang terdapat pada pucuk tanaman dan menyebabkan pertumbuhan pucuk-pucuk baru. Penambahan auksin dalam jumlah yang besar mampu menyebabkan terjadinya pertumbuhan kalus pada eksplan dan menghambat regenerasi pucuk tanaman (Wetherell, 1987). Zat pengatur tumbuh auksin 2,4-D biasanya digunakan dalam jumlah kecil dan dalam waktu yang singkat berkisar antara 2 sampai 4 minggu. Hal tersebut karena 2,4-D merupakan auksin kuat yang sulit diuraikan di dalam tubuh tanaman (Hendaryono dan Wijayani, 1994) serta pada dosis tertentu 2,4-D mampu membuat mutasi-mutasi pada tanaman (Suryowinoto, 1996). Rumus kimia dari 2,4-D dapat dilihat pada Gambar 4.

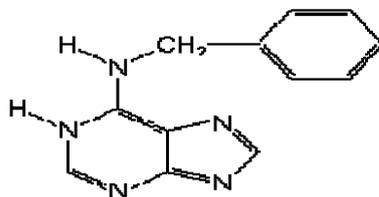


Gambar 4. Struktur kimia *2,4-Dichlorophenoxy acetic acid* ($C_8H_6Cl_2O_3$)

Sumber: Agboola dkk. (2014)

6-benzylaminopurine atau yang lebih sering disebut BAP merupakan salah satu zat pengatur tumbuh tanaman golongan sitokinin aktif yang mampu mendorong proliferasi tunas (Yusnita, 2003). BAP memiliki struktur yang sama dengan kinetin, namun lebih efektif karena memiliki gugus *benzyl* di dalamnya. Pada umumnya tanaman akan merespon dengan baik pada saat diberi BAP sehingga efektif digunakan untuk memproduksi tunas maupun induksi kalus secara *in vitro* (Ramasamy dkk, 2005). Rustam dkk. (2020) menyatakan bahwa selain efektif digunakan sebagai zat pengatur tumbuh, BAP juga lebih stabil dan tahan terhadap oksidasi, murah, dan mudah untuk didapatkan. BAP juga banyak digunakan pada kultur jaringan dengan tanaman tingkat tinggi yang

penggunaannya dipengaruhi oleh zat pengatur tumbuh lainnya. Adapun rumus kimia dari BAP dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Struktur kimia 6-Benzylaminopurine ($C_{12}H_{11}N_5$)

Sumber: Agboola dkk. (2014)

2.2 Kerangka pemikiran

Salah satu kendala pada proses budidaya manggis adalah penyediaan bibit yang masih dilakukan secara konvensional sehingga memerlukan waktu yang lama. Hal ini menunjukkan perlu adanya upaya pengembangan dan penelitian mengenai perbanyakan manggis, terutama dalam hal regenerasi pohon tua melalui penyediaan bibit secara *in vitro* yang mampu menghasilkan bibit dalam jumlah banyak dengan waktu yang lebih cepat. Kemampuan sel pada setiap tanaman agar dapat tumbuh menjadi tanaman yang utuh (totipotensi) dapat dimanfaatkan untuk meregenerasi manggis secara *in vitro* dari berbagai jenis eksplan (Yuwono, 2016). Pada teknik kultur jaringan proses perbanyakan tanaman dilakukan dalam keadaan aseptik dan diatur pada kondisi lingkungan yang terkendali (Hardjo, 2018), sehingga tidak dipengaruhi oleh cuaca luar dan mampu memaksimalkan proses pertumbuhan bibit.

Embriogenesis somatik merupakan salah satu proses regenerasi tanaman secara *in vitro*. Zulkarnain (2009) menyatakan tahapan perkembangan embrio somatik sama dengan embrio zigotik yaitu melalui tahapan globular, hati, torpedo, dan kotiledon. Embriogenesis somatik memiliki kelebihan dibandingkan proses regenerasi tanaman lainnya yaitu terdapat pembentukan struktur bipolar dengan dua calon meristem, yaitu meristem akar dan meristem tunas (Rivai dkk, 2014). Calon meristem tersebut dapat diarahkan pada akar maupun tunas dengan menambahkan zat pengatur tumbuh auksin maupun sitokinin. Selain itu, nodulasi (induksi nodul) dapat terbentuk pada proses induksi embrio somatik karena kondisi nutrisi dan media yang sesuai dengan pembentukan nodul. Berbagai penelitian terdahulu

dilakukan mulai dari pengaruh media, zat pengatur tumbuh, penambahan bahan organik, dan lain sebagainya. Faktor keberhasilan embriogenesis somatik salah satunya dapat dilakukan dengan penambahan sumber karbon dari gula pada media kultur dan zat pengatur tumbuh (Purnamaningsih, 2002). Pada penelitian ini media kultur yang digunakan adalah media MS (*Murashige and Skoog*) dengan penambahan bahan organik sebagai sumber karbohidrat berupa madu atau sukrosa serta zat pengatur tumbuh 2,4-D dan BAP untuk mengetahui pengaruhnya terhadap pencapaian fase induksi embrio somatik dan nodulasi tanaman manggis.

Zat pengatur tumbuh menjadi salah satu faktor keberhasilan dalam embriogenesis somatik. Supriati dkk. (2016) melaporkan hasil penelitian mengenai embriogenesis somatik manga varietas Madu dengan eksplan nuselar dengan perlakuan penambahan 2,4-D 1 mg/L pada media MS+TDZ dan tanpa penambahan 2,4-D. Hasilnya menunjukkan bahwa penambahan 2,4-D 1 mg/L mampu memberikan respon positif terhadap pembentukan kalus embriogenik. Kombinasi 2,4-D 1 mg/L dengan penambahan BAP 2 mg/L merupakan perlakuan terbaik untuk proliferasi kalus dengan bobot kalus 4,35 gram per botol serta menghasilkan kecambah embrio somatik. Pada penelitian induksi kalus dan embriogenesis somatik *Stevia rebaudiana* Bertoni, Keshvari dkk. (2018) menambahkan berbagai jenis zat pengatur tumbuh kedalam media MS dan B5. Efisiensi tertinggi embriogenesis somatik sebesar 63% terlihat pada media MS yang ditambah ZPT berupa 2 mg/L 2,4-D + 0,5 mg/L NAA + 0,5 mg/L BAP yang mampu membentuk embrio somatik fase globular dan hati pada 45 hst.

Pada teknik embriogenesis somatik, penambahan gula sebagai sumber karbohidrat dapat dilakukan dengan penambahan sukrosa. Inayah (2015) telah melakukan induksi embrio somatik pada dua kultivar kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) dengan penambahan berbagai konsentrasi sukrosa pada media MS. Hasilnya menunjukkan bahwa pada kultivar Jerapah konsentrasi sukrosa yang menghasilkan rata-rata embrio somatik per eksplan paling baik adalah 20 g/L, sedangkan pada kultivar Sima konsentrasi yang paling baik dalam menghasilkan embrio somatik per eksplan adalah 30 g/L. Joni dkk. (2016) melakukan percobaan dengan menambahkan 30 g/L sukrosa pada media MS dengan penambahan 0,5

mg/L TDZ dan 0,7 mg/L BA mampu menghasilkan 33,8 embrio per eksplan setelah dua kali sub kultur pada media yang sama. Shofiyani dkk. (2017) juga melakukan penelitian dengan perlakuan sukrosa dan zat pengatur tumbuh 2,4-D dan BAP pada pertumbuhan kalus kencur (*Kaemferia galangal* L.). Hasilnya menunjukkan bahwa penambahan konsentrasi sukrosa 30 g/L kedalam media proliferasi kalus memberikan hasil yang terbaik pada bobot kalus seberat 3,8 gram, bobot kering kalus seberat 0,151 gram dengan keremahan kalus yang cukup tinggi dan warna kalus putih jernih. Struktur kalus tersebut menunjukkan terbentuknya kalus embriogenik. Kherasani dkk. (2017) juga telah melakukan percobaan dengan menambahkan berbagai konsentrasi sukrosa pada pertumbuhan kalus eksplan rimpang zahe merah secara in vitro. Hasilnya menunjukkan bahwa penambahan konsentrasi sukrosa 30 g/L dan 50 g/L memperoleh berat kalus basah dan berat kering kalus tertinggi namun berdasarkan hasil analisis statistik tidak berbeda nyata serta menghasilkan warna kalus putih kekuningan dengan tekstur remah.

Selain sukrosa, penggunaan madu dapat digunakan sebagai sumber karbohidrat lainnya. Percobaan embriogenesis somatik dari biji manggis asal bengkalis yang dipotong secara melintang dengan menambahkan BAP dan bahan organik berupa madu telah dilakukan oleh Juliana dkk. (2019). Pemberian konsentrasi BAP 3 mg/L + madu 9 mL/L berpengaruh terhadap pembentukan fase-fase embriogenesis somatik kalus manggis. Pada konsentrasi tersebut, menghasilkan persentase pembentukan kalus 100%, waktu muncul kalus 10,67 hst, volume kalus 1,33 dan adanya fase embriogenesis somatik berupa fase globular, hati, dan torpedo. Arum dkk. (2022) juga melaporkan hasil penelitian efektifitas penggunaan madu sebagai substituent media induksi kalus sorgum (*Shorgum bicolor*) sebagai sumber ZPT organik pada media MS. Hasilnya menunjukkan bahwa kalus yang terbentuk pada 15 hari setelah induksi menghasilkan 2 jenis kalus yaitu kalus embriogenik dan non embriogenik pada konsentrasi 35 g/L madu.

Pada induksi embrio somatik, terbentuknya calon tunas (*plumula*) dari nodul dapat terjadi karena kondisi lingkungan dan nutrisi yang sesuai. Seperti penelitian yang dilakukan oleh Joni dan Triatminingsih (2012) yang melakukan multiplikasi tunas manggis melalui pembentukan kalus nodular. Hasilnya menunjukkan bahwa

penggunaan media WPM dengan penambahan 0,05 mg/L TDZ mampu menghasilkan 17 globular/eksplan dan media yang cocok untuk meregenerasikan tunas dari globular adalah media WPM yang diberi 0,1 mg/L NAA atau IAA + 3mg/L BAP dengan persentase 76,87% dan 75,16%. Hariono dkk. (2018) juga melakukan percobaan induksi nodul dari eksplan biji manggis asal bengkalis pada media MS dengan penambahan BAP dan madu secara tunggal maupun kombinasi. Hasilnya menunjukkan bahwa penambahan 7 mg/L BAP dan 7 mg/L BAP + 6 ml/L madu secara keseluruhan mampu meningkatkan persentase eksplan membentuk nodul 100% dan pada media MS dengan penambahan 7 mg/L BAP mampu menghasilkan 28,0 nodul/eksplan pada 40 hst.

Berdasarkan uraian tersebut diharapkan bahwa pada teknik embriogenesis somatik, media kultur yang ditambahkan madu atau sukrosa sebagai sumber karbohidrat yang dikombinasikan dengan 2,4-D dan BAP mampu memberikan pengaruh terhadap proses induksi embrio somatik dan nodulasi pada manggis.

2.3 Hipotesis

Berdasarkan uraian pada kerangka pemikiran diatas, dapat dirumuskan hipotesis sebagai berikut:

1. Terdapat pengaruh madu atau sukrosa sebagai sumber karbohidrat yang dikombinasikan zat pengatur tumbuh 2,4-D dan BAP yang baik terhadap induksi embrio somatik dan nodulasi manggis.
2. Terdapat perlakuan yang paling baik antara madu atau sukrosa sebagai sumber karbohidrat yang dikombinasikan dengan zat pengatur tumbuh 2,4-D dan BAP terhadap fase globular, hati, dan torpedo pada proses induksi embrio somatik serta nodul dan tunas nodular pada proses nodulasi manggis.