

Morfogenesis Eksplan Keping Biji dari Tiga Klon Manggis (*Garcinia mangostana L.*) Pada Tiga Jenis Media Dasar [Morphogenesis of Seed Slice Explants of Three Different Clones of Mangosteen (*Garcinia mangostana L.*) On Three Basal Media]

Joni, YZ¹⁾, Efendi, D²⁾, dan Roostika, I³⁾

¹⁾Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika, Jl. Raya Solok - Aripan KM. 8, Solok 27301

²⁾Departemen Agronomi dan Hortikultura Institut Pertanian Bogor (IPB)

³⁾Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, Jl. Tentara Pelajar 3A, Bogor 16111

E-mail: zendrajoni@gmail.com

Naskah diterima tanggal 27 Desember 2014 dan disetujui untuk diterbitkan tanggal 22 Mei 2014

ABSTRAK. Sistem regenerasi manggis secara *in vitro* merupakan metode alternatif yang mendukung upaya produksi benih secara masal dan pemuliaan tanaman manggis secara bioteknologi. Dalam kultur *in vitro*, jenis klon dan media dasar sangat menentukan pertumbuhan biakan manggis. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari respons *in vitro* (morfogenesis) tiga klon manggis yang dikulturkan pada tiga jenis media dasar. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan, Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian (BB Biogen) dari bulan Januari sampai Agustus 2013. Percobaan disusun secara faktorial dalam lingkungan rancangan acak lengkap. Faktor pertama yaitu eksplan yang berasal dari tiga klon manggis (Leuwiliang, Wanayasa, dan Puspahiang). Faktor kedua adalah tiga jenis media dasar (MS, WPM, dan B5). Setiap media diperkaya dengan gula 30 g/l, phytogel 2,5 g/l, glutamin 300 mg/l, dan 6-benzylidenine (BA) 5 mg/l. Setiap perlakuan terdiri atas 25 ulangan (botol). Dalam setiap botol terdapat tiga irisan melintang biji manggis yang berasal dari satu biji. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak terdapat interaksi antara jenis klon dengan jenis media dasar untuk peubah jumlah tunas, tinggi tanaman, jumlah daun/tunas, dan jumlah daun total. Terdapat interaksi antara jenis klon dengan jenis media dasar, yaitu untuk peubah jumlah nodul. Menariknya, penggunaan media MS menyebabkan jumlah tunas, jumlah daun total, dan jumlah nodul yang terbanyak. Tinggi tunas tertinggi diperoleh dari penggunaan media WPM dan B5. Selain itu, morfogenesis klon Wanayasa dan Puspahiang lebih baik daripada klon Leuwiliang.

Katakunci: *Garcinia mangostana L.*; Morfogenesis; Media dasar; Klon

ABSTRACT. Regeneration system of mangosteen through *in vitro* culture is an alternative method to support mass seed production and biotechnological breeding of mangosteen. On *in vitro* culture, clones and basal media mostly affect the growth of cultures. This research aimed to study the *in vitro* response (morphogenesis) of three different clones of mangosteen that cultured on three different basal media. The experiment was conducted at Tissue Culture Laboratory, Indonesian Center for Agricultural Biotechnology and Genetic Resources Research and Development (ICABIOGRAD) from January until August 2013. The experiment was arranged as factorial design in completely randomized design. The first factor was the origin of explants source from Leuwiliang, Wanayasa, and Puspahiang. The second factor was the basal media (MS, WPM, and B5). Each media was enriched with 30 g/l sugar, 2,5 g/l phytogel, 300 mg/l glutamine, and 5 mg/l BA. Each treatment consisted of 25 replicates (bottles). Each bottle contained of three explants (three sections of one-third seed). The results showed that there was no interaction between the origin of clones with basal media for number of shoots, plant height, number of leaves/shoots, and total number of leaves. There was interaction between clones with basal media only for number of nodules. Interestingly, the MS medium provided highest the number of shoots, total number of leave, and number of nodules. The using WPM and B5 media caused the highest number of plant height. Furthermore, morphogenetic responses of the clones of Wanayasa and Puspahiang were better than the clone of Leuwiliang.

Keywords: *Garcinia mangostana L.*; Morphogenesis; Basal media; Clones

Manggis (*Garcinia mangostana L.*) dikenal sebagai *Queen of the tropical fruits* karena rasa buahnya yang enak. Umumnya, buah manggis dikonsumsi dalam bentuk segar, diolah menjadi jus, dan juga dimanfaatkan sebagai suplemen minuman kesehatan. Saat ini, buah manggis sangat populer, terutama di bidang industri kesehatan. Kulit buah manggis menghasilkan metabolit sekunder dari jenis *xanthone* yang bermanfaat sebagai anti oksidan, anti tumor, anti alergi, anti peradangan, anti bakteri, dan anti virus (Chomnawang *et al.* 2007, Pedraza-Chaverri *et al.* 2008). Artinya, pada masa mendatang manggis mempunyai prospek yang sangat cerah untuk dikembangkan dan dapat menjadi buah unggulan sebagai komoditas ekspor Indonesia.

Salah satu sentra produksi manggis di Indonesia adalah Provinsi Jawa Barat (Rukmana 1994), dengan penyebarannya antara lain di Leuwiliang, Purwakarta, dan Tasikmalaya. Manggis dari daerah Leuwiliang yang telah dilepas adalah varietas Raya. Keunggulan varietas ini adalah bentuk buah bulat, rasa manis, dan biji kecil (Kementerian Pertanian 2010). Manggis dari daerah Purwakarta yang telah dilepas adalah varietas Wanayasa. Keunggulan varietas ini adalah ukuran buah yang memenuhi standar nasional untuk ekspor, bentuk buah bulat, warna merah keunguan, daging putih dengan rasa manis segar, daya simpan lama, kelopak kuat, dan beradaptasi dengan baik di dataran tinggi (Kementerian Pertanian 2006).

Manggis Tasikmalaya yang telah dilepas adalah varietas Puspahiang. Keunggulannya adalah bentuk buah bulat, rasa segar asam manis, warna kulit buah merah/ungu kecoklatan, warna daging buah putih, dengan bobot buah dapat mencapai 8–9 buah/kg, mempunyai aroma yang khas dan kulit buahnya keras mengkilat, tipis serta tidak terlalu banyak getah (Kementerian Pertanian 2007). Varietas unggul manggis yang telah dilepas tersebut perlu dikembangkan.

Salah satu permasalahan yang dihadapi dalam pengembangan tanaman manggis adalah ketersediaan benih yang berkualitas. Biasanya, manggis diperbanyak melalui biji karena bersifat apomiks. Embrio manggis merupakan embrio somatik yang secara genetik sama dengan induknya (Richard 1990), tetapi perbanyakannya dengan biji memiliki berbagai keterbatasan, antara lain daya tumbuh yang rendah, jumlah biji perbuah hanya 1–2 biji dan kadang-kadang ada yang tidak berbiji sama sekali. Selain itu, biji manggis bersifat rekalsitrán (Chin et al. 1984), sehingga biji tidak dapat bertahan lama dan perbanyakannya tidak dapat dilakukan sepanjang tahun. Perbanyakannya secara konvensional juga sering kali menghasilkan tanaman yang abnormal, bibit dengan pertumbuhan yang lambat, lemah, tidak seragam, dan masa berbunganya lambat (Normah et al. 1995). Salah satu alternatif untuk mengatasi masalah tersebut adalah perbanyakannya benih manggis melalui kultur *in vitro*. Melalui kultur *in vitro* benih tersebut dapat diproduksi secara masal, cepat, seragam, dan relatif murah.

Kultur *in vitro* manggis melalui jalur organogenesis telah berhasil dilakukan dengan menggunakan eksplan biji (Goh et al. 1988, Te-chato & Aengyong 1988, Triatminingsih et al. 1993, Normah et al. 1995, Huang et al. 2000, Roostika et al. 2008). Regenerasi tunas dari eksplan daun muda *in vitro* juga telah dilaporkan oleh Goh et al. (1990), Te-chato & Muangkaewngam (1992) dan Qosim et al. (2005). Selain itu, penggunaan eksplan berupa daun muda dari tanaman di pembibitan dan pohon dewasa (Goh et al. 1994, Sirchi et al. 2008a) serta tunas pucuk (Sirchi et al. 2008b) juga telah dilaporkan. Namun demikian, masih terdapat beberapa permasalahan dalam perbanyakannya benih manggis secara *in vitro*, salah satunya adalah tingkat multiplikasi tunas yang masih beragam, yaitu berkisar antara 3–17 tunas/eksplan (Normah et al. 1995, Roostika et al. 2008). Keragaman ini, selain disebabkan oleh perbedaan konsentrasi zat pengatur tumbuh (ZPT), kemungkinan juga disebabkan oleh faktor lain seperti jenis klon dan media dasar yang digunakan.

Metode perbanyakannya benih manggis secara *in vitro* masih perlu dioptimasi. Beberapa faktor utama yang menjadi kunci keberhasilan dalam kultur *in*

vitro adalah: (1) sumber eksplan, (2) media dasar dan ZPT, (3) lingkungan fisik, dan (4) sistem regenerasi (Wattimena et al. 2011). Selain empat faktor tersebut, genotip tanaman juga memengaruhi tingkat keberhasilan kultur *in vitro*. Umumnya, setiap genotip dapat memberikan respons yang berbeda terhadap formulasi media (Hoque & Mansfield 2004, Lu & Bridgen 1996). Penggunaan eksplan, media dasar, lingkungan tumbuh, dan sistem regenerasi yang tepat diduga dapat meningkatkan daya multiplikasi tunas.

Penelitian mengenai pengaruh konsentrasi ZPT dan jenis sumber eksplan pada kultur *in vitro* manggis sudah banyak dilaporkan, tetapi pengaruh jenis genotip (klon) dan media dasar masih belum diteliti secara komprehensif. Morfogenesis manggis secara *in vitro* diduga dipengaruhi oleh interaksi antara jenis klon dan media dasar yang digunakan. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mempelajari respons *in vitro* (morfogenesis) tiga klon manggis yang dikulturkan pada tiga jenis media dasar.

BAHAN DAN METODE

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan, Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian (BB Biogen) pada bulan Januari sampai Agustus 2013.

Preparasi Tanaman

Bahan tanaman yang digunakan adalah buah manggis klon Leuwiliang, Wanayasa, dan Puspahiang. Eksplan yang digunakan adalah biji dari buah masak. Biji manggis dibersihkan dari daging buahnya, kemudian disterilisasi dengan direndam dalam alkohol 70% selama 5 menit, dan dibilas dengan akuades steril 1 (satu) kali. Selanjutnya direndam ke dalam larutan NaOCl 20% selama 10 menit, dan dibilas dengan akuades steril 3–4 kali.

Prosedur Penelitian

Percobaan disusun secara faktorial menggunakan rancangan acak lengkap. Faktor pertama adalah tiga klon manggis (Leuwiliang, Wanayasa, dan Puspahiang). Faktor kedua adalah media dasar MS (Murashige & Skoog 1962), *woody plant medium* (WPM) (Lloyd & McCown 1981), dan B5 (Gamborg et al. 1968). Setiap media dasar dilengkapi dengan 30 g/l gula, 2,5 g/l phytagel, 300 mg/l glutamin, dan 5 mg/l 6-benzyladenine (BA). Setiap perlakuan diulang sebanyak 25 kali (botol), sehingga terdapat 225 satuan percobaan. Dalam setiap botol terdapat tiga irisan melintang biji manggis yang berasal dari

satu biji. Kultur diinkubasi pada ruang terang dengan lama pencahaayaan 16 jam/hari dan suhu ruang kultur $25 \pm 1^\circ\text{C}$.

Peubah Pengamatan dan Analisis Data

Pengamatan dilakukan selama 10 minggu. Peubah yang diamati adalah saat muncul tunas, persentase eksplan bertunas, jumlah tunas/eksplan, tinggi tunas yang tertinggi, jumlah daun terbanyak/tunas, jumlah daun total, dan jumlah nodul. Data dianalisis secara statistik menggunakan program *statistical analysis system* (SAS 9,1). Nilai rerata dihitung dan dibandingkan menggunakan uji lanjut *Duncan's multiple range tests* (DMRT) pada taraf 5% ($P<0,05$).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Secara umum, analisis ragam menunjukkan bahwa morfogenesis manggis secara *in vitro* tidak dipengaruhi oleh interaksi antara klon dengan media dasar, kecuali pada peubah jumlah nodul. Namun demikian, pengaruh tunggal dari jenis klon dan media dasar berpengaruh nyata terhadap morfogenesis eksplan, yang meliputi persentase eksplan bertunas, jumlah tunas/biji, tinggi tunas tertinggi, jumlah daun terbanyak/tunas, dan jumlah daun total.

Respons *in vitro* tiga klon manggis (Leuwiliang, Wanayasa, dan Puspahiang) yang ditunjukkan dengan munculnya calon tunas relatif sama, yaitu pada minggu kedua. Namun demikian, respons *in vitro* ketiga klon tersebut berbeda untuk peubah-peubah lainnya. Persentase tertinggi dari eksplan bertunas, tinggi tanaman, dan jumlah daun terbanyak/tunas diperoleh dari klon Puspahiang, namun tidak berbeda nyata

dengan klon Wanayasa. Jumlah tunas dan jumlah daun total tertinggi diperoleh dari klon Wanayasa, namun tidak berbeda nyata dengan klon Puspahiang (Tabel 1). Sebaliknya, klon Leuwiliang memiliki nilai yang terendah untuk semua peubah yang diamati.

Respons *in vitro* yang relatif sama antara manggis klon Wanayasa dan Puspahiang mungkin disebabkan oleh tingginya tingkat kemiripan genetik antara kedua klon tersebut dibandingkan dengan klon Leuwiliang. Meskipun manggis termasuk tanaman apomiksis obligat, namun variasi genetik dilaporkan telah terjadi dengan tingkat kemiripan genetik yang berbeda-beda. Mansyah *et al.* (2003) melaporkan terjadinya variasi genetik dari 23 akses manggis dari pulau Jawa dan Sumatera. Selain itu, variasi genetik juga terjadi antara tetua dengan turunannya (Mansyah *et al.* 2004, Sinaga *et al.* 2007). Variasi somaklonal pada tanaman apomiksis dapat disebabkan oleh mutasi titik, otosegregasi, pindah silang somatik (*somatic crossing over*), amplifikasi atau kehilangan material DNA, penyusunan kromosom kembali, dan aktivitas perubahan gen oleh *transposable element*. Kasus sederhana dari otosegregasi adalah ketika sel anak-anak yang satu menerima lebih banyak kromosom dan yang lain menerima lebih sedikit kromosom dalam pembelahan sel inti dalam kantong embrio (Walbot & Cullis 1985).

Faktor lain yang diduga memengaruhi perbedaan respons *in vitro* antara ketiga klon tersebut adalah pemeliharaan pohon induk di lapang. Berdasarkan pengamatan di lapang, kondisi pohon induk pada klon Leuwiliang kurang terawat. Hal tersebut terlihat dari rusaknya daun-daun muda pada saat berbunga, sedangkan pada klon Wanayasa dan Puspahiang dalam kondisi perawatan yang optimal.

Tabel 1. Respons *in vitro* tiga klon manggis pada tiga media dasar pada umur 10 minggu setelah tanam (MST) (*In vitro response of three different clones of mangosteen on three basal media at 10 weeks after planting*)

Perlakuan (Treatment)	Eksplan bertunas (Shoot formation), %	Jumlah tunas (Number of shoot)	Tinggi tanaman (Plant height) cm	Jumlah daun/ tunas (Number of leaves/shoot)	Jumlah daun total (Total number of leaves)
Klon (Clones)					
Leuwiliang	92,42 b	9,17 b	2,73 b	2,88 b	19,98 b
Wanayasa	98,51 a	15,85 a	4,76 a	3,25 ab	34,16 a
Puspahiang	100,00 a	13,62 a	4,87 a	3,39 a	29,88 a
Media (Medium)					
MS	93,65 a	19,14 a	2,68 b	2,86 b	40,43 a
WPM	98,55 a	11,10 b	4,64 a	3,51 a	25,17 b
B5	98,57 a	9,07 b	4,98 a	3,14 ab	19,80 b

Angka pada kolom yang sama yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata menurut uji DMRT pada taraf 5% (*Mean at the same column followed by the same letters were not significantly different at 5% level based on DMRT test*)

Pengaruh genotip terhadap keberhasilan kultur *in vitro* juga telah dilaporkan pada tanaman gandum (Maddock *et al.* 1983, Keresa *et al.* 2003), dimana perbedaan kultivar memengaruhi induksi kalus, persentase embrio berkecambah, perkembangan kalus, dan pembentukan planlet. Pada kultur *in vitro* padi, perbedaan genotip memengaruhi tingkat keberhasilan induksi kalus dan regenerasi tanaman (Hoque & Mansfield 2004), sedangkan pada genus *Capsicum* memengaruhi perkecambahan embrio somatik (Manzur *et al.* 2013). Selain itu, pada hasil persilangan interspesifik tanaman *Alstroemeria*, perbedaan genotip juga memengaruhi persentase embrio yang berkecambah serta perkembangan kalus dan tunas (Lu & Bridgen 1996).

Berdasarkan jenis media dasar yang diujikan (MS, WPM, dan B5), media dasar tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap persentase eksplan yang bertunas. Media MS menghasilkan jumlah tunas dan jumlah daun total tertinggi dibanding dengan dua media dasar lainnya (WPM dan B5) (Tabel 1). Hal ini diduga disebabkan oleh tingginya kandungan nitrogen (N) yang terdapat pada media MS. Total kandungan N pada MS adalah 60 mM (Tabel 2). Menurut Salisbury & Ross (1992) kandungan nitrogen dalam tanaman akan memengaruhi nisbah tajuk-akar. Tanaman yang terlalu banyak mendapatkan nitrogen biasanya mempunyai daun berwarna hijau tua dan lebat, dengan sistem akar yang kerdil, sehingga nisbah tajuk-akarnya tinggi. Hal ini berarti kandungan nitrogen yang tinggi akan memacu pertumbuhan tunas dan daun, sedangkan pertumbuhan akar terhambat.

Jumlah tunas yang dihasilkan pada percobaan ini cukup tinggi, yaitu lebih dari 19 tunas/biji pada media MS. Jumlah tunas yang dihasilkan pada percobaan ini sama dengan jumlah tunas yang diperoleh pada percobaan Sirchi *et al.* (2008a), dengan penggunaan media MS yang mengandung 20 mg/l BAP dan 10

mg/l NAA diperoleh 19 tunas/biji manggis. Namun demikian, hasil yang diperoleh dari percobaan ini lebih tinggi dari percobaan yang dilakukan oleh Normah *et al.* (1995), dengan menggunakan media MS yang dilengkapi dengan 9 mg/l BA dan 0,5 mg/l NAA hanya diperoleh 16,8 tunas/biji.

Tingkat multiplikasi tunas manggis secara *in vitro* lebih tinggi dibandingkan dengan perkecambahan di lapang. Menurut Cruz (2001), tingkat keberhasilan perkecambahan di lapang hanya berkisar 21–83% dengan jumlah tunas yang dihasilkan rerata 1 tunas/biji. Pemanfaatan teknik kultur *in vitro* untuk mikropropagasi tentu akan lebih menguntungkan karena persentase eksplan bertunas lebih dari 90% dengan jumlah tunas per biji 9,14–19,17 tunas, bergantung pada jenis klon dan media dasar yang digunakan.

Berdasarkan jenis media dasar, tinggi tanaman tertinggi diperoleh dari eksplan yang dikulturkan pada media B5 dan WPM (masing-masing 4,98 dan 4,64 cm) dan yang terendah (2,68 cm) pada media MS (Tabel 1). Meskipun tinggi tanaman pada media WPM dan B5 tidak berbeda nyata, tetapi terdapat perbedaan secara morfologi. Perbedaan yang paling menonjol adalah warna batang dan daun. Batang dan daun dari biakan pada B5 lebih hijau dibandingkan WPM, sehingga secara visual tunasnya terlihat lebih kokoh. Pada media WPM batang dan daunnya berwarna hijau terang dan agak transparan, sehingga secara visual terlihat agak lemah (Gambar 1). Warna daun pada tanaman sangat dipengaruhi oleh kandungan nitrogen pada media tumbuhnya (Salisbury & Ross 1992). Pada media WPM daun manggis yang berwarna hijau terang dan agak transparan disebabkan oleh rendahnya kandungan N total pada media tersebut, yaitu 14,8 mM (Tabel 2). Selain itu, tunas pada media B5 juga memiliki ukuran daun yang lebih proporsional antara lebar dan panjangnya, sedangkan pada media WPM, ukurannya

Tabel 2. Komposisi ion hara makro pada media dasar MS, WPM, dan B5 (Ion composition macronutrient of basal media MS, WPM, and B5)

Ion	Media (mM)		
	MS	WPM	B5
NH ₄ ⁺	20,6	5	2
NO ³⁻	39,4	9,7	24,7
PO ₄ ³⁻	1,3	1,3	1,1
SO ₄ ²⁻	3	14,4	4
K ⁺	20	12,6	24,7
Total N	60	14,8	26,7
Rasio NO ₃ ⁻ /NH ₄ ⁺	1,9	2	12,4

Sumber (*based on*): George & Sherrington (1984), Bell *et al.* (2009)



Gambar 1. Penampilan biakan tiga klon manggis yang dikulturkan pada tiga media dasar: klon Leuwiliang (baris pertama), klon Wanayasa (baris kedua), dan klon Puspahiang (baris ketiga). Media MS (A, D, dan G), media WPM (B, E, dan H), dan media B5 (C, F, dan I) (*Performance of three different clones mangosteen cultured on three basal media: clone Leuwiliang (first row), clone Wanayasa (second row), and clone Puspahiang (third row). MS medium (A, D, and G), WPM medium (B, E, and H), and B5 medium (C, F, and I)*)

kurang proporsional. Tunas yang dihasilkan pada media B5 dan MS relatif mirip dengan tunas yang dihasilkan dari perkecambahan biji di lapang, sedangkan tunas yang tumbuh pada media WPM memiliki daun yang memanjang dan menyempit (Gambar 1).

Menurut Lu (2005), terhambatnya pemanjangan tunas pada media MS disebabkan oleh tingginya kandung nitrogen dan potassium. Nitrogen dan potassium pada konsentrasi tertentu akan menghambat pertumbuhan dan pemanjangan tunas, hal ini juga terjadi pada tanaman *Vitis thunbergii* (Lu 2005) dan *Citrus sinensis* (Kobayashi *et al.* 2003). Hal ini diduga disebabkan oleh kandungan N yang tinggi pada media MS akan menginduksi pembentukan hormon sitokinin. Sitokinin akan memacu pembelahan sel dan menghambat elongasi, sehingga yang banyak terbentuk adalah tunas, sedangkan elongasi tunasnya dihambat.

Berdasarkan analisis ragam, terdapat interaksi antara jenis klon dengan media dasar terhadap jumlah nodul yang dihasilkan. Pada klon Leuwiliang jumlah nodul tertinggi (26,60 nodul/eksplan) diperoleh dari eksplan yang dikulturkan pada media MS, sedangkan pada

media WPM dan B5 nodul yang dihasilkan rendah (masing-masing 5,17 dan 7,39 nodul/eksplan). Pada klon Wanayasa jumlah nodul tertinggi diperoleh dari eksplan yang dikulturkan pada media MS, namun tidak berbeda nyata dengan eksplan yang dikulturkan pada media WPM (masing-masing 22,34 dan 17,95 nodul/eksplan), sedangkan jumlah nodul terendah (9,59 nodul/eksplan) diperoleh dari media B5. Menariknya, pada klon Puspahiang jenis media dasar yang digunakan tidak memengaruhi jumlah nodul yang dihasilkan. Jumlah nodul yang dihasilkan pada ketiga media relatif sama, yaitu 8,60 – 13,90 nodul/eksplan (Tabel 3). Hal ini menunjukkan bahwa interaksi antara jenis klon dan media dasar sangat memengaruhi jumlah nodul yang dihasilkan, dimana interaksi tertinggi dari kedua faktor tersebut diperoleh dari pembentukan nodul pada manggis Leuwiliang yang dikulturkan pada media MS.

Nodul yang muncul pada eksplan manggis merupakan calon tunas, tapi untuk meregenerasikan menjadi tunas diduga membutuhkan formulasi media yang lain dan waktu yang relatif agak lama, demikian juga halnya dengan tunas-tunas kecil yang muncul pada

**Tabel 3. Pengaruh interaksi media dasar dan klon terhadap jumlah nodul manggis pada umur 10 MST
(The effect of interaction between basal media and clones to the number of mangosteen nodules at 10 weeks after planting)**

Klon (Clone)	Media dasar (Basal media)			
	MS	WPM	B5	Rerata (Mean)
Leuwiliang	26,60 aA	5,17 bC	7,39 bA	12,43
Wanayasa	22,34 aA	17,95 aA	9,59 bA	16,72
Puspahiang	13,90 aB	11,29 aB	8,60 aA	11,07
Rerata (Mean)	21,02	11,38	8,51	

Angka pada baris yang sama yang diikuti oleh huruf kecil yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata menurut uji DMRT pada taraf 5%, sedangkan angka pada kolom yang sama yang diikuti oleh huruf kapital yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata menurut uji DMRT pada taraf 5% (*Mean at the same row followed by the same small letters were not significantly different at 5% level based on DMRT test, while mean at the same column followed by the same capital letters were not significantly different at 5% level based on DMRT test*)



Gambar 2. Bentuk nodul manggis pada tiga media dasar: (A) media MS, (B) media WPM, dan (C) media B5 (Performance of mangosteen nodules on three basal media: (A) MS medium, (B) WPM medium, and (C) B5 medium)

media MS, untuk elongasi tunas juga membutuhkan formulasi media yang lain (Roostika *et al.* 2008). Berdasarkan jenis media dasar, warna nodul yang dihasilkan pada tiap media dasar berbeda, terutama nodul yang dihasilkan pada media MS. Nodul pada media MS umumnya berwarna hijau terang, sedangkan pada media WPM dan B5 berwarna hijau gelap dan ada yang berwarna merah kecoklatan (Gambar 2).

Pada media morfogenesis manggis, selain terbentuk tunas dan nodul, juga terbentuk kalus dan akar dengan persentase yang relatif rendah (data tidak ditampilkan). Eksplan yang dikulturkan pada media MS banyak menghasilkan kalus, terutama pada bekas luka. Kalus yang muncul tersebut strukturnya beragam, sebagian ada yang kompak dan yang lainnya seperti kapas berwarna putih. Menurut Qosim (2006) kalus yang seperti kapas tidak dapat beregenerasi, lama-kelamaan kalus tersebut akan mengering, mencokelat, dan mati. Menurut George & Sherrington (1984), media MS awalnya dibuat untuk kultur kalus tembakau, sehingga ketika digunakan pada tanaman lain tetap punya kemampuan untuk menginduksi kalus meskipun tidak ada penambahan auksin eksogen. Lain halnya dengan eksplan yang dikulturkan pada media WPM dan B5, hampir tidak ada kalus yang muncul, kecuali kalus

seperti kapas yang muncul pada bekas luka dengan volume yang sangat kecil.

Akar yang dihasilkan pada media morfogenesis terbagi menjadi dua, yaitu akar yang tumbuh pada biji (tidak menyambung dengan tunas) dan akar yang menyambung dengan tunas. Berdasarkan pengamatan, pembentukan akar tertinggi terdapat pada eksplan yang dikulturkan pada media WPM dan B5, sedangkan pada media MS sangat sedikit. Hal ini berarti, untuk induksi perakaran manggis secara *in vitro* diduga media WPM dan B5 lebih cocok dibandingkan dengan media MS.

KESIMPULAN DAN SARAN

1. Jenis klon dan media dasar memengaruhi morfogenesis manggis secara *in vitro*.
2. Klon Wanayasa dan Puspahiang mempunyai respons *in vitro* yang lebih baik daripada klon Leuwiliang pada semua peubah yang diamati.
3. Media MS menyebabkan respons *in vitro* terbaik untuk peubah jumlah tunas, jumlah daun total, dan jumlah nodul manggis, sedangkan media WPM

- dan B5 menyebabkan respons *in vitro* yang terbaik untuk peubah tinggi tanaman.
4. Media MS lebih sesuai untuk induksi dan multiplikasi tunas dengan jumlah tunas lebih dari 19 tunas/biji, sedangkan media WPM lebih sesuai untuk pemanjangan tunas.
 5. Terdapat interaksi antara jenis klon dan media dasar untuk peubah jumlah nodul, dan jumlah nodul tertinggi (26,60 nodul/eksplan) diperoleh dari klon Leuwiliang yang dikulturkan pada media MS.

PUSTAKA

1. Bell, RL, Srinivasan, C & Lomberk, D 2009, 'Effect of nutrient media on axillary shoot proliferation and preconditioning for adventitious shoot regeneration of pears', *In vitro Cell. Dev. Biol. Plant*, vol. 45, no. 6, pp. 708-14.
2. Chin, HF, Hor, YL & Mohd Lassim, MB 1984, 'Identification of recalcitrant seeds', *Seed Sci. and Technol.*, vol. 12, pp. 429-36.
3. Chomnawang, MT, Surassimo, S, Nukoolkarn, VS & Gritsanapan, W 2007, 'Effect of *Garcinia mangostana* on inflammation caused by *Propionibacterium acnes*', *Fitoterapia*, vol. 78, pp. 401-8.
4. Cruz, FSD 2001, *Status report on genetic resources of mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) in Southeast Asia*, IPGRI, India.
5. Gamborg, OL, Miller, RA & Ojima, K 1968, 'Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells', *Exp. Cell Res.*, vol. 50, pp. 151-8.
6. George, EF & Sherrington, PD 1984, *Plant propagation by tissue culture*, Exegetic Ltd., Edington, Westbury, Wilts, England.
7. Goh, HKL, Rao, AN & Loh, CS 1988, 'In Vitro plantlet formation in mangosteen', *Ann. Bot.*, vol. 62, pp. 87-93.
8. Goh, HKL, Rao, AN & Loh, CS 1990, 'Direct shoot bud formation from leaf explants of seedlings and mature mangosteen (*G. mangostana* L.) trees', *Plant Sci.*, vol. 68, pp. 113-21.
9. Goh, HKL, Lakshmanan, P & Loh, CS 1994, 'High frequency direct shoot bud regeneration from excised leaves of mangosteen (*Garcinia mangostana* L.)', *Plant Sci.*, vol. 101, pp. 173-80.
10. Hoque ,ME & Mansfield, JW 2004, 'Effect of genotype and explant age on callus induction and subsequent plant regeneration from root-derived callus of Indica rice genotypes', *Plant Cell Tiss. Org. Cult.*, vol. 78, pp. 217-23.
11. Huang, LC, Huang, BL, Wang, C, Kuo C-I & Murashige, T 2000, 'Developing an improved in vitro propagation system for slow growing species using *Garcinia mangostana* L. (mangosteen)', *In Vitro Cell Dev. Biol. Plant*, vol. 36, pp. 501-4.
12. Keresa, S, Baric, M, Sarcevic, H & Marchetti, S 2003, 'Callus induction and plant regeneration from immature and mature embryos and immature inflorescences of eight Croatian winter wheat cultivar (*Triticum aestivum* L.)', *Die Biodenkultur*, vol. 54, no. 3, pp. 155-61.
13. Kementerian Pertanian 2006, *Pelepasan Manggis Wanayasa Sebagai Varietas Unggul*, SK Mentan No. 571/Kpts/SR.120/9/2006.
14. Kementerian Pertanian 2007, *Pelepasan Manggis Puspahiang Sebagai Varietas Unggul*, SK Mentan No. 301/Kpts/SR.120/5/2007.
15. Kementerian Pertanian 2010, *Pelepasan Manggis Raya Sebagai Varietas Unggul*, SK Mentan No. 2046/Kpts/SR.120/5/2010.
16. Kobayashi, AK, Bespalhok, JC, Pireira, LFP, & Vieira, LGE 2003, 'Plant regeneration of sweet orange (*Citrus sinensis*) from thin section of mature stem segments', *Plant Cell Tiss. Org. Cult.*, vol. 49, pp. 223-5.
17. Lloyd, G & McCown, B 1981, 'Commercially feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by shoot tip culture', *Intl. Plant Prop. Soc. Proc.*, vol 30, pp. 421-7.
18. Lu, MC 2005, 'Micropropagation of *Vitis thunbergii* Sieb. et Zucc., a medicinal herb, through high-frequency shoot tip culture', *Scie. Hort.*, vol. 107, pp. 64-9.
19. Lu, C & Bridgen, MP 1996, 'Effects of genotype, culture medium and embryo developmental stage on the *in vitro* responses from ovules cultures of interspecific hybrids of *Alstroemeria*', *Plant Sci.*, vol. 116, pp. 205-12.
20. Maddock, SE, Lancaster, VA, Risiott, R & Franklin, J 1983, 'Plant regeneration from cultured immature embryos and inflorescences of 25 cultivars of wheat (*Triticum aestivum*)', *J. Exp. Bot.*, vol. 34, pp. 915-26.
21. Mansyah, E, Baihaki, A, Setiamihardja, R, Darsa, JS, Sobir & Poerwanto, R 2003, 'Analisis variabilitas genetik manggis (*Garcinia mangostana* L.) di Jawa dan Sumatera Barat menggunakan teknik RAPD', *Zuriat*, vol. 4, no. 1, hlm. 35-44.
22. Mansyah, E, Jawal, MAS, Usman, F & Purnama, T 2004, 'Variabilitas antara tanaman induk manggis dan keturunannya', *J. Hort.*, vol. 14, no. 4, hlm. 229-37.
23. Manzur, JP, Penella, C & Rodriguez-Burrueto, A 2013, 'Effect of the genotype, development stage and medium composition on the *in vitro* culture efficiency og immature zygotic embryos from genus *Capsicum*', *Sci. Hort.*, vol. 161, pp. 181-7.
24. Murashige, T & Skoog, F 1962, 'A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture', *Physiol. Plant*, vol. 15, pp. 473-97.
25. Normah, MN, Noor-Azza, AB & Aliudin, R 1995, 'Factors affecting *in vitro* proliferation and *ex vitro* estabilism of mangosteen', *Plant Cell Tiss. Org. Cult.*, vol. 34, no. 3, pp. 291-4.
26. Pedraza-Chaverri, J, Cardenas-Rodriguez, N, Orozco-Ibarra, M & Perez-Rojas, JM 2008, 'Medicinal properties of mangosteen', *Food Chem. Toxicol.*, vol. 46, pp. 3227-39.
27. Qosim, WA, Purwanto, R, Wattimena, GA & Witjaksono 2005, 'Pembentukan planlet manggis dari kalus nodular', *Zuriat*, vol. 16, no. 2, hlm. 145-53.
28. Richard, AJ 1990, 'Studies in *Garcinia* dioecious tropical forest trees: The origin of the mangosteen (*Garcinia mangostana* L.)', *Bot. J. The Lin. Soc.*, vol. 10, pp. 301-8.
29. Roostika I, Sunarlim, N & Mariska, I 2008, 'Micropropagation of mangosteen', *Indonesian J. Agr.*, vol. 1, no. 1, pp. 28-33.
30. Rukmana, R 1994, *Budidaya Manggis*, Kanisius, Yogyakarta.
31. Salisbury, FB & Ross, CW 1992, *Plant physiology*, 4th edition, Wadsworth Publishing.
32. Sinaga, S, Sobir, Poerwanto, R, Aswidinnoor, H & Duryadi, D 2007, 'Progeny analysis of the Tasikmalaya mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) with RAPD marker', *Floribunda*, vol. 3, no. 4, pp. 85-92.

33. Sirchi, MHT, Kadir, MA, Aziz, MA, Rashid, AA, Rafat, A & Javadi, MB 2008a, 'Amelioration of mangosteen micropagation through leaf and seeds segments', *Afr. J. Biotech.*, vol. 7, pp. 2025-9.
34. Sirchi, MHT, Kadir, MA, Aziz, MA, Rashid, AA, Rafat, A & Javadi, 2008b, 'Plant regeneration as affected by plant growth regulators (PGRs) in mangosteen', *Afr. J. Biotech.*, vol. 7, pp. 2693-701.
35. Te-chato, S & Aengyong, W 1988, 'Microplant propagation of mangosteen', *Songkhlanakarin J. Sci. Technol.*, vol. 10, pp. 1-7.
36. Te-chato, S & Muangkaewngam, A 1992, 'Enhanced eficiency micropagation of mangosteen through young leaf culture', *Songkhlanakarin J. Sci. Technol.*, vol. 14, pp. 1-7.
37. Triatminingsih, R, Nazir, E & Winarno, M 1993, 'Mikropropagasi *in vitro* dari tunas pucuk manggis dan kotiledon terhadap keberhasilan regenerasi tunas', *J. Hort.*, vol. 5, no. 2, hlm. 28-36.
38. Walbot, V & Cullis, CA 1985, 'Rapid genomic change in higher plants', *Ann Rev. of Plant Physiol.*, vol. 36, pp. 367-96.
39. Wattimena, GA, Nurhajati, Armini, NM, Purwito, A, Efendi, D, Purwoko, BS & Khumaida, N 2011, *Bioteknologi dalam Pemuliaan Tanaman*, IPB Press, Bogor.
40. Qosim, WA 2006, 'Studi iradiasi sinar gamma pada kultur kalus nodular manggis untuk meningkatkan keragaman genetik dan morfologi regeneran', Disertasi, Program Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, Bogor.