

LAMPIRAN

Lampiran 1. Komposisi larutan stok media kultur MS (Murashige & Skoog, 1962)

NO	Nama Komponen	Formula Kimia	Konsentrasi Standar (mg/L)
		Makronutrien	
11	Ammonium nitrat	NH_4NO_3	1650,00
22	Kalium nitrat	KNO_3	1900,00
33	Kalsium klorida dihidrat	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	440,00
44	Magnesium sulfat heptahidrat	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	370,00
55	Kalium dihidrogen fosfat	KH_2PO_4	170,00
		Mikronutrien	
66	Asam borat	H_3BO_3	6,20
77	Mangan sulfat tetrahidrat	$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	22,30
88	Seng sulfat heptahidrat	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	8,60
99	Kalium iodida	KI	0,83
110	Natrium molibdat dihidrat	$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,25
111	Tembaga sulfat pentahidrat	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0,025
112	Kobalt klorida heksahidrat	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,025
		Stok Besi (Iron Stock)	
313	Besi(II) sulfat heptahidrat	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	27,80

114	Disodium EDTA	$\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	37,30
1		Vitamin dan Bahan Organik	
115	myo-Inositol	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$	100,00
116	Nikotinat (Asam nikotinat)	$\text{C}_6\text{H}_5\text{NO}_2$	0,50
117	Piridoksin-HCl	$\text{C}_8\text{H}_{11}\text{NO}_3 \cdot \text{HCl}$	0,50
118	Tiamin-HCl	$\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{ClN}_4\text{OS} \cdot \text{HCl}$	0,10
119	Glisin	$\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}_2$	2,00

Sumber komposisi media MS: Murashige, T., & Skoog, F. (1962). *A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures*. *Physiologia Plantarum*, 15(3), 473–497.

Dalam pembuatan media MS utuh (100%), sumber karbon umum yang ditambahkan adalah Sukrosa sebanyak 30.000 mg/L (30 g/L) dengan pH media diatur pada kisaran 5,6–5,8 sebelum diautoklaf.

Lampiran 2. Dokumentasi kegiatan penelitian

Gambar X.1. Persiapan Eksplan Awal



Pengambilan dan pemotongan bahan tanam berupa tunas aksilar/nodus tanaman kakao (*Theobroma cacao* L.) yang dikoleksi dari lapangan. Eksplan dipotong dengan ukuran $\pm 2-3$ cm dan dikumpulkan dalam wadah sebelum memasuki tahapan pencucian dan sterilisasi permukaan.

Gambar X.2. Proses Pra-Sterilisasi (di Luar LAFC)



Tahap 1. Proses pencucian ekplan dengan detergen cair



Tahap 2. Proses pencucian ekplan dengan Dithane (anti jamur)



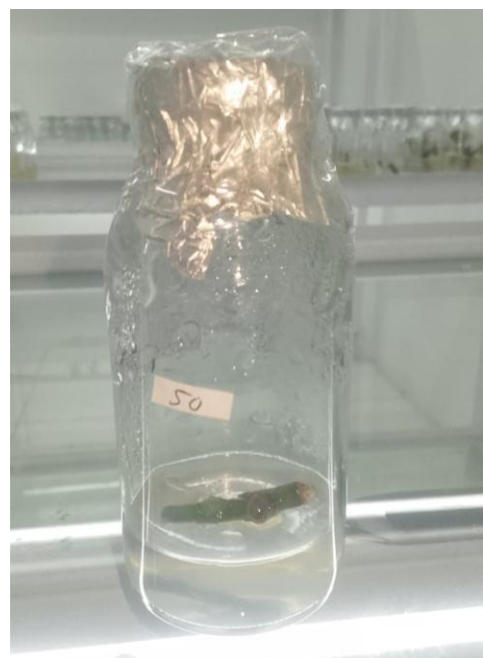
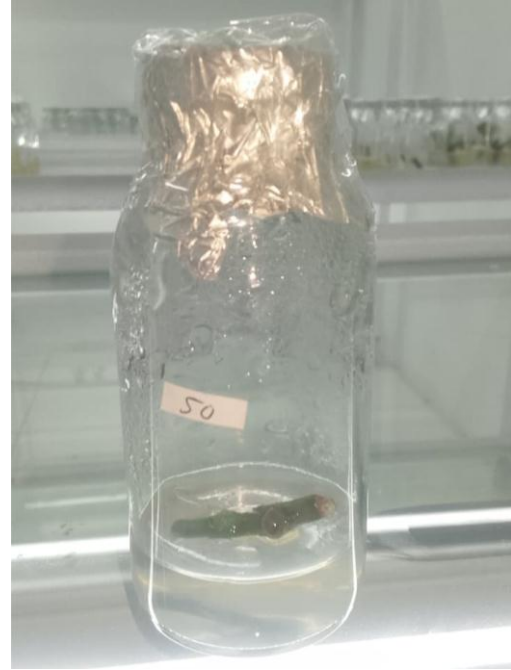
Tahap 3. Proses pencucian ekplan dengan betadine

Gambar X.3. Proses Sterilisasi Utama (di Dalam LAFC)



Penataan alat, bahan, dan perlakuan sterilisasi bertahap (*double disinfection*) secara aseptik di dalam *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC). Tahap ini mencakup perendaman eksplan ke dalam larutan alkohol sesuai taraf perlakuan (40%, 50%, dan 60%), pembilasan dengan *aquadestilata* steril, hingga proses inokulasi eksplan ke media kultur MS.

Gambar X.4. Eksplan Steril



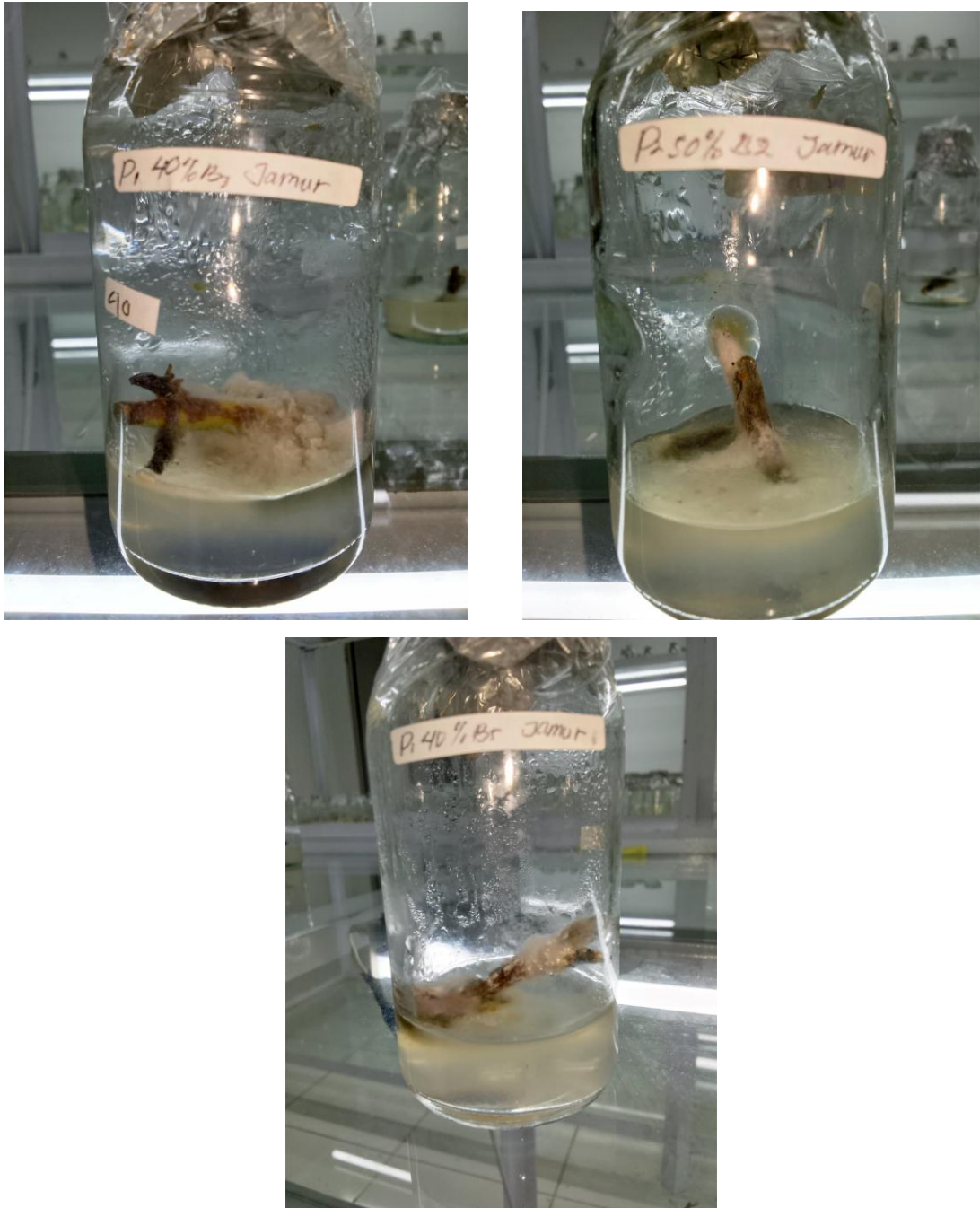
Eksplan kakao (*Theobroma cacao* L.) yang dikoleksi dari lapangan. Eksplan dipotong dalam botol kultur media MS yang menunjukkan kondisi bersih dan steril tanpa adanya pertumbuhan kontaminan hingga 8 hari setelah tanam (HST).

Gambar X.5. Bukti Visual Kontaminasi Bakteri



Tampilan visual kontaminasi bakteri pada kultur eksplan tunas kakao (*Theobroma cacao* L.). Kontaminasi ditandai dengan terbentuknya endapan/lendir (slime) berwarna putih keruh hingga kekuningan pada media kultur di sekitar pangkal eksplan, yang diduga berasal dari bakteri endofit sistemik.

Gambar X.6. Bukti Visual Kontaminasi Cendawan/Jamur



Tampilan visual kontaminasi jamur/fungi pada eksplan tunas kakao (*Theobroma cacao* L.). Kontaminasi ditandai dengan munculnya miselium atau hifa halus menyerupai kapas berwarna putih/abu-abu yang menyebar pada permukaan eksplan dan media kultur.