

INDUKSI KALUS TANAMAN KAKAO (*Theobroma cacao* L.) KLON SULAWESI 1 (S1) PADA MEDIUM MS DENGAN KOMBINASI HORMON 2,4-D, BAP DAN AIR KELAPA

Wilma¹⁾, Muslimin²⁾, I Nengah Suwastika³⁾

^{1), 3)} Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Tadulako Kampus Bumi Tadulako Tondo Palu, Sulawesi Tengah 94117
²⁾ Laboratorium Kultur Jaringan, Fakultas Kehutanan
Universitas Tadulako Kampus Bumi Tadulako Tondo Palu, Sulawesi Tengah 94117

ABSTRACT

Kakao's seed that can result same plant better with it superior parent indispensable. One of alternative is with utilize vegetative organ origin seed that resulting through network culture tech by processes embriogenesis somatik. This research constitute startup phase in embriogenesis which is plant callus induction kakao. Research was performed on month of March until August 2013 at Network culture Laboratory, kehutanan's faculty. Tadulako's university. Eksplan who is utilized as staminodia of kakao's flower part Sulawesi clone 1. attempt it is arranged bases fledged Random Design (RAL) with 4 conducts and 3 time replicate. Each one unit experimental to utilize 10 eksplan. Conduct that dicobakan which is MS0 + 1ppm 2,4 - D. + 0,1ppm BAP + Coconut Water 15% (KW₁), MS0 + 1 ppm 2,4 - D. + 0,2ppm BAP + Coconut Water 15% (KW₂), MS0 + 2 ppm 2,4 - D. + 0,1ppm BAP + Coconut Water 15% (KW₃) and MS0'S medium + 2 ppm 2,4 - D. + 0,2ppm BAP + Coconut Water 15% (KW₄). Observed parameter is while its appearance callus, eksplan's percentage that results callus, and callus morphology. Preserve is done at dark place on temperature 26 °C. Result observational to point out all conduct that dicobakan that menginduksi can kakao's callus. MS0'S medium + 2 ppm 2,4 - D. + 0,1ppm BAP + Coconut Water 15% (KW₃) constituting best media for menginduksi callus that marked by its appearance chromatic callus turns white, get intermediet's type, greater relative callus mass, uniform and active clefts to begin 14 days culture afterses.

Keywords: MS, 2,4 - D., BAP, Coconut water, Callus induction, Staminodia, *Theobroma cacao* L.

PENDAHULUAN

Kakao (*Theobroma cacao* L.) merupakan salah satu jenis tanaman perkebunan yang terus mendapat perhatian untuk dikembangkan. Upaya pengembangan tanaman kakao disamping masih diarahkan pada peningkatan populasi (luas lahan) juga

telah banyak diarahkan pada peningkatan jumlah produksi dan mutu hasil. Adapun aspek yang paling diperhatikan dalam usaha peningkatan jumlah produksi dan mutu hasil adalah penggunaan jenis-jenis kakao unggul dalam pembudidayaan tanaman kakao. Saat ini terdapat sejumlah jenis kakao unggul yang sering digunakan dalam budidaya kakao, antara lain jenis

(klon) Sulawesi 1 (S1) dan Sulawesi 2 (S2) (Mertade, 2011).

Bibit kakao yang dapat menghasilkan tanaman yang sama baiknya dengan induk unggulnya sangat diperlukan. Salah satu alternatif adalah dengan memanfaatkan bibit asal organ vegetatif yang dihasilkan melalui teknik kultur jaringan dengan proses embriogenesis somatik. Teknik Kultur jaringan merupakan suatu metode yang digunakan untuk mengisolasi bagian tanaman seperti sel, jaringan dan organ dalam medium aseptik sehingga bagian tanaman tersebut dapat beregenerasi membentuk tanaman lengkap kembali (Gunawan, 1992).

Adapun faktor penyebab rendahnya produktivitas kakao di Sulawesi Tengah antara lain adalah adanya serangan hama dan penyakit, penerapan teknologi budidaya yang belum optimal, kondisi tanaman yang sebagian telah tua dan penggunaan jenis (klon) tanaman yang memiliki potensi produksi rendah (Basri, 2010). Perbanyak klon kakao Sulawesi secara konvensional saat ini belum dapat memenuhi ketersediaan bibit, baik kualitas maupun kuantitas. Melalui teknik kultur jaringan diharapkan kendala tersebut dapat diatasi sehingga diperoleh bahan tanaman dalam jumlah besar dengan kualitas baik dan dalam waktu yang relatif singkat.

Di Indonesia, telah lama dikembangkan teknik kultur jaringan tanaman kakao dengan menggunakan beberapa organ dari kakao itu sendiri yang dijadikan sebagai eksplan seperti embrio dan stamen. Namun, bentuk kalus yang dihasilkan masih belum memuaskan. Informasi tentang studi terhadap induksi kalus masih belum cukup (Chaidamsri dkk, 1990).

Berdasarkan hal di atas maka dipandang perlu untuk melakukan penelitian mengenai induksi kalus khususnya kakao klon Sulawesi 1 (S1) menggunakan eksplan staminodia pada

bunga kakao dengan kombinasi konsentrasi 2,4-D dan BAP pada medium MS dengan penambahan air kelapa 15%.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan Maret 2013 sampai Agustus di Laboratorium Kultur jaringan Fakultas Kehutanan Universitas Tadulako Sulawesi Tengah. Eksplan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bagian staminodia bunga kakao klon Sulawesi 1 yang masih kuncup dan belum mekar.

Jenis Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah experimental dan deskriptif. Metode experimental digunakan untuk induksi kalus, sedangkan metode deskriptif digunakan untuk pengamatan data kalus hasil induksi.

Teknik Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 3 ulangan. Setiap satu unit percobaan menggunakan 10 eksplan sehingga terdapat 120 eksplan. Perlakuannya adalah sebagai berikut :

$$KW_1 = MS_0 + 1\text{ppm } 2,4\text{-D} + 0,1\text{ppm BAP} + \text{Air kelapa } 15\%$$

$$KW_2 = MS_0 + 1\text{ ppm } 2,4\text{-D} + 0,2\text{ppm BAP} + \text{Air kelapa } 15\%$$

$$KW_3 = MS_0 + 2\text{ ppm } 2,4\text{-D} + 0,1\text{ppm BAP} + \text{Air kelapa } 15\%$$

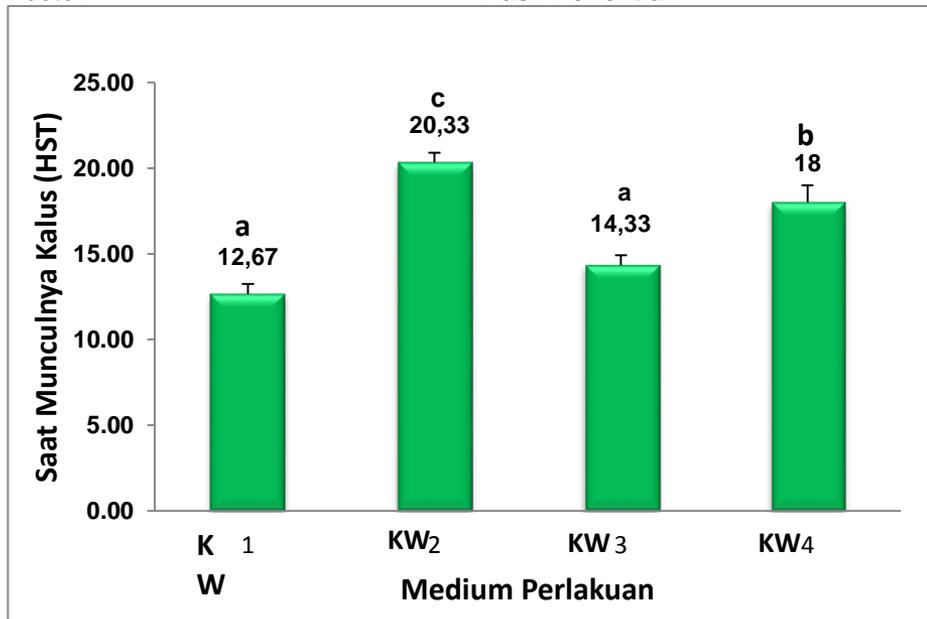
$$KW_4 = MS_0 + 2\text{ ppm } 2,4\text{-D} + 0,2\text{ppm BAP} + \text{Air kelapa } 15\%$$

Parameter yang diamati dalam pelaksanaan penelitian ini yaitu saat munculnya kalus, persentase eksplan yang membentuk kalus, morfologi kalus dan morfologi klon kakao (*Theobroma cacao* L.) Sulawesi 1.

Pemeliharaan eksplan dilakukan dengan menyimpan eksplan pada rak kultur setelah eksplan diinisiasi pada media, eksplan diinkubasi selama 24 jam dengan suhu $\pm 23^\circ\text{C}$ dalam keadaan gelap. Botol kultur yang terkontaminasi

dipindahkan dari ruang kultur untuk mencegah penyebaran kontaminasi ke seluruh botol.

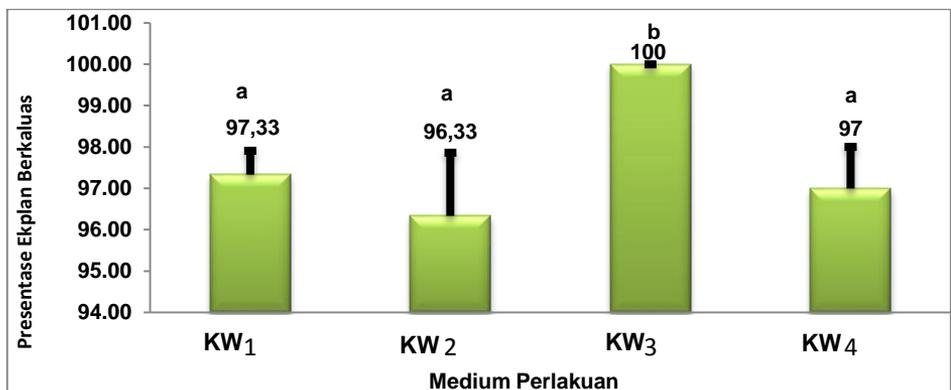
HASIL DAN PEMBAHASAN
Hasil Penelitian



Gambar 1. Grafik Hubungan Antara Medium Perlakuan Dengan Saat Munculnya Kalus (HST)

Semua perlakuan yang dicobakan dapat menginduksi kalus. Hasil yang diperoleh berbeda sangat nyata sehingga diuji lanjut dengan uji BNJ. Angka yang diikuti dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf uji BNJ 5% dan 1%. Nilai di atas grafik menunjukkan rata-rata hasil pengamatan saat muncul kalus dari empat perlakuan. Lambang (I) adalah standar deviasi.

- KW₁ : MS₀ + 1 ppm 2,4- D + 0,1 ppm BAP + Air kelapa 15%
- KW₂ : MS₀ + 1 ppm 2,4- D + 0,2 ppm BAP + Air kelapa 15%
- KW₃ : MS₀ + 2 ppm 2,4- D + 0,1 ppm BAP + Air kelapa 15%
- KW₄ : MS₀ + 2 ppm 2,4- D + 0,2 ppm BAP + Air kelapa 15%



Gambar 2. Grafik persentasi eksplan yang menghasilkan kalus.

Angka yang diikuti dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf uji BNJ 5%. Nilai di atas grafik menunjukkan rata-rata persentase eksplan yang menghasilkan kalus dari empat perlakuan dan lambang (I) adalah standar deviasi.

Tabel 1. Morfologi Kalus *Theobroma cacao* L. pada berbagai perlakuan 8 minggu setelah tanam.

No.	Perlakuan	Morfologi Kalus
1	KW ₁	Berwarna putih kekuningan, putih coklat serta tekstur yang intermediet dan remah.
2	KW ₂	Berwarna putih kekuningan serta teksturnya yang remah dan intermediet.
3	KW ₃	Berwarna putih dan bertekstur remah dan intermediet.
4	KW ₄	Berwarna putih dan kekuningan serta tekstur yang remah dan kompak

Keterangan:

KW₁ : MS₀ + 1 ppm 2,4- D + 0,1 ppm BAP + Air kelapa 15%
 KW₂ : MS₀ + 1 ppm 2,4- D + 0,2 ppm BAP + Air kelapa 15%
 KW₃ : MS₀ + 2 ppm 2,4- D + 0,1 ppm BAP + Air kelapa 15%
 KW₄ : MS₀ + 2 ppm 2,4- D + 0,2 ppm BAP + Air kelapa 15%

Pembahasan

Berdasarkan hasil pengamatan yang dilakukan dalam penelitian ini menunjukkan bahwa eksplan staminodia bunga kakao klon sulawesi 1 dapat diinduksi pada semua perlakuan yang dicobakan yaitu yang tumbuh pada medium MS dengan penambahan ZPT auksin, BAP dan air kelapa. Kalus merupakan kumpulan sel yang aktif membelah dan belum terdiferensiasi.

Eksplan staminodia bunga kakao yang mampu membentuk kalus rata-rata tumbuh pada kisaran hari ke 12-21 HST. Jika dibandingkan dengan penelitian-penelitian induksi kalus sebelumnya, laju pembentuk kalus pada penelitian ini termasuk lambat, karna pada penelitian

yang dilakukan oleh Ariati (2012), kalus embrio somatik kakao yang berasal dari eksplan embrio akan mulai terbentuk antara 6-7 hari setelah tanam. Hal ini dimungkinkan karakter eksplan yang digunakan berbeda sehingga mempengaruhi laju pertumbuhan kalus serta perbedaan kemampuan jaringan menyerap unsur hara dan zat pengatur tumbuh dalam media inisiasi. Selain itu, pengaruh dari perbedaan hormon endogen yang dimiliki oleh setiap eksplan. Gunawan (1992), menyatakan kondisi kultur, genotip tanaman, dan tipe eksplan akan memberikan respon yang berbeda terhadap sel, jaringan dan organ tanaman yang dikulturkan *secara in vitro*.

Pembentukan kalus kakao ini terbentuk pada permukaan eksplan yang ditandai dengan pembengkakan pada eksplan kemudian diikuti dengan terbentuknya kalus. Kalus terbentuk dari bagian pangkal eksplan yang dimulai dari bekas potongan eksplan. Hal ini sejalan dengan pernyataan Ulfa (2011), kalus akan muncul pada bagian luka irisan, dengan adanya irisan tersebut memudahkan 2,4-D berdifusi ke dalam jaringan tanaman, sehingga 2,4-D yang diberikan akan membantu auksin yang terkandung di dalam jaringan eksplan menstimulasi pembelahan sel terutama sel-sel yang berada di sekitar daerah yang luka.

Berdasarkan hasil analisis sidik ragam dari empat perlakuan yang diujikan menunjukkan bahwa kombinasi konsentrasi 2,4-D dan BAP pada medium MS dengan penambahan air kelapa 15% berpengaruh sangat nyata terhadap kecepatan pembentukan kalus kakao sehingga diuji lanjut dengan uji BNJ. Hasil uji beda nyata jujur (BNJ) pada taraf 5% dan 1%, terlihat bahwa saat munculnya kalus menunjukkan perbedaan antara tiap perlakuan. Perbedaan ini dikarenakan kombinasi konsentrasi zat pengatur tumbuh yang diberikan pada medium MS, sehingga memberikan pengaruh dan respon tumbuh yang berbeda pula dalam kecepatan pembentukan kalus. Hal ini sesuai dengan yang dikemukakan oleh Gunawan (1992), bahwa kecepatan pembentukan dan pertumbuhan kalus dipengaruhi oleh kombinasi konsentrasi auksin (2,4-D) dan sitokinin (BAP) pada media.

Berdasarkan hasil pengamatan presentase kalus, rata-rata dari presentasi kalus tertinggi yaitu pada perlakuan KW_3 dengan rata-rata (100%), hal ini dikarenakan zat pengatur tumbuh auksin (2,4-D) dan sitokinin (BAP) yang diberikan pada perbandingan yang tepat sehingga dapat mempercepat pembelahan sel dan meningkatkan pertumbuhan sel, sedangkan presentase kalus terendah

yaitu pada perlakuan KW_2 dengan rata-rata (96,33%). Penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian Urfiana (2013), melaporkan bahwa adanya perbedaan pemberian konsentrasi 2,4-D serta penambahan BAP dan Air kelapa akan memberikan respon yang berbeda pula pada pembentukan kalus. Perbandingan antara auksin dan sitokinin menentukan arah dan keberhasilan kultur jaringan (Dixon, 1985). Menurut George dan Sherrington (1984), mengemukakan bahwa auksin diperlukan dalam pembelahan sel dan adanya konsentrasi sitokinin yang tepat maka pembentukan kalus menjadi lebih cepat.

Berdasarkan hasil sidik ragam presentase eksplan yang berkalus dari empat perlakuan yang diujikan menunjukkan bahwa kombinasi konsentrasi 2,4-D dan BAP pada medium MS dengan penambahan Air kelapa 15% berpengaruh sangat nyata terhadap kecepatan pembentukan kalus kakao sehingga diuji lanjut dengan uji BNJ. Hasil uji beda nyata jujur (BNJ) pada taraf 5% dan 1% menunjukkan perbedaan dari empat perlakuan, hal ini kemungkinan disebabkan perbedaan konsentrasi ZPT pada medium MS sehingga memberikan respon yang berbeda pula dalam pembentukan kalus. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Urfiana (2013), melaporkan bahwa pemberian perbedaan konsentrasi 2,4-D dan BAP serta Air kelapa 15% pada medium MS memberikan respon pertumbuhan yang berbeda pada pertumbuhan kalus kakao.

Pada pengamatan morfologi kalus yaitu meliputi pengamatan bentuk fisik kalus, warna dan tipe kalus dapat diketahui bahwa setiap perlakuan menghasilkan kalus yang berbeda-beda baik warna maupun tipe kalus yang dihasilkannya. Perlakuan yang menghasilkan kalus yang lebih baik yaitu pada perlakuan KW_3 karena massa kalus yang dihasilkan pada perlakuan ini relatif lebih besar dan menghasilkan kalus yang bertipe remah dan intermediet, seragam

dan aktif membelah. pada medium KW₁ meskipun menghasilkan kalus yang bertipe remah dan intermediet namun massa kalus yang dihasilkan lebih kecil dan pertumbuhannya tidak seragam. Pada perlakuan KW₄ meskipun massa kalusnya besar dan berwarna putih dengan tekstur yang remah dan kompak tetapi kalus pada medium ini warnanya lebih cepat berubah menjadi putih kecoklatan serta pertumbuhannya lambat. Sedangkan untuk perlakuan KW₂ meskipun menghasilkan kalus dengan tipe yang remah dan intermediet tetapi massa kalus yang dihasilkan lebih kecil dan berwarna putih kuning, pertumbuhannya lambat.

Rata-rata tipe kalus yang terbentuk tiap perlakuan yang dicobakan berwarna putih yang berlangsung ± 6 minggu. Selanjutnya rata-rata perubahan warna kalus mulai terjadi ± 7 minggu setelah pembentukan kalus dari warna putih lama kelamaan menjadi putih kekuningan dan setelah minggu ke 8 kalus pada beberapa medium sudah memperlihatkan perubahan warna yaitu berubah menjadi warna putih kecoklatan.

Perubahan warna kalus tersebut menunjukkan adanya perubahan fase pertumbuhan pada sel dan daya regenerasi sel. Kalus yang berwarna putih menunjukkan sel-sel yang masih muda dan aktif membelah sedangkan kalus yang berwarna putih kekeuningan menunjukkan bahwa sel yang menuju fase pembelahan aktif dan sel yang berwarna putih kecoklatan menunjukkan gejala penuaan sel. Sel-sel yang demikian memiliki aktifitas pembelahan sel yang rendah sehingga daya regenerasinya berkurang. Bila dibandingkan dengan hasil penelitian sebelumnya yaitu penelitian Ariati (2012), dari eksplan embrio biji kakao menunjukkan warna kalus yang terbentuk mula-mula berwarna putih yang berlangsung ± 1 minggu, selanjutnya berubah warna ± 2 minggu menjadi warna kecoklatan lama kelamaan menjadi coklat dan penelitian yang dilakukan oleh Urfiana (2013) dari eksplan

stamen dari bunga kakao klon Sulawesi 2 (S2) menunjukkan warna kalus yang terbentuk mula-mula kalus berwarna putih yang berlangsung ± 5 minggu, selanjutnya berubah warna ± 6 minggu menjadi warna kecoklatan.

Berdasarkan perbedaan tersebut maka dalam penelitian ini menggunakan eksplan staminodia dari bunga kakao klon Sulawesi 1 (S1) karena selain bertujuan untuk menghasilkan kalus yang lebih baik dari penelitian-penelitian sebelumnya yaitu menghasilkan kalus yang lebih jernih dan putih serta bertahan lama juga dapat digunakan untuk penelitian selanjutnya karena kakao klon Sulawesi 1 (S1) merupakan kakao yang di anggap unggul di lapangan.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa medium yang paling baik untuk pertumbuhan kalus staminodia bunga *T. cacao* klon Sulawesi 1 adalah medium KW₃ karena menghasilkan kalus yang lebih baik yaitu ditandai dengan munculnya kalus yang berwarna putih, bertipe remah dan intermediet serta menghasilkan kalus yang lebih banyak, massa kalus relatif lebih besar, seragam dan aktif membelah mulai 14 hari setelah kultur. Walaupun dalam segi kuantitas parameter pengamatan saat muncul kalus yang lebih baik adalah KW₁ akan tetapi kualitas kalus yang dihasilkan tidak baik, ditandai dengan massa kalus yang dihasilkan lebih kecil dan pertumbuhannya tidak seragam dalam satu media kultur.

Perbedaan kalus yang dihasilkan dari tiap eksplan ini menunjukkan bahwa setiap genotipe mempunyai kandungan zat pengatur tumbuh endogen yang berbeda dan perbedaan genetik antar klon (Priyono dkk., 2000). Perbedaan itu juga mungkin disebabkan karena adanya respon yang berbeda terhadap zat pengatur tumbuh yang ditambahkan. Menurut Gunawan (1992), kalus dapat diinisiasi dari hampir semua bagian tanaman, tetapi organ yang berbeda

menunjukkan kecepatan pembelahan sel yang berbeda pula.

Morfologi klon kakao Sulawesi 1 diamati berdasarkan bentuk fisik klon yang ada. Adapun morfologi klon Sulawesi 1 antara lain batang berwarna hitam kecoklatan, bersisik halus dan tidak berbulu. Buah berwarna merah tua, ujung buah tumpul, dan jalur buah \pm 12. Daun muda berwarna merah tua dan ujung daun runcing. Bunga berwarna maron bercampur putih tulang dan jangka waktu bunga mekar sekitar 17 hari. Potensi buah untuk klon Sulawesi 1 bisa mencapai 1,8 – 2,5 ton/ha pada tahun ke 5, nilai buah 23. Morfologi bunga kakao klon Sulawesi 1.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil pengamatan, pengukuran, identifikasi dan analisis maka dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut:

1. Medium yang paling baik untuk pertumbuhan kalus staminodia bunga *T. cacao* klon Sulawesi 1 adalah medium KW₃ karena menghasilkan kalus yang lebih baik yaitu ditandai dengan munculnya kalus yang berwarna putih, bertipe remah dan intermediet serta menghasilkan kalus yang lebih banyak, massa kalus relatif lebih besar, seragam dan aktif membelah mulai 14 hari setelah kultur.

DAFTAR PUSTAKA

- Ariati, S. N., 2012, *Induksi Tanaman kakao Pada Medium MS dengan Penambahan 2,4-D*, Jurnal Natural Science, Vol. 1.(1) 74-84.
- Basri, Z., 2010, *Kajian Metode Perbanyak Klonal Pada Tanaman Kakao*. Media LITBANG SULTENG.
- Chaidamsri, T., Suwanto, A., Livi, W. G., Dan Santoso, D., 1990. *Transformasi Dan Ekspresi Gen GUS Pada Beberapa Jaringan*

- Tanaman Kakao*. Jurnal Bioteknologi Pertanian, Vol. 4. No. 1. 1999. Pp 35-36. Hal 28-29.
- Dixon, R.A., 1985, *Plant Tissue Culture, A Practical Approach Series*. Academic Press Inc, New York.
- George, E.F dan T.D. Sherrington., 1984, *Plant Propagation by Tissue Culture*. Handbook and Directory of Commercial Laboratories, England.
- Gunawan, L.W. 1992. *Tehnik Kultur Jaringan*. Laboratorium Kultur Jaringan. PAU Bioteknologi.IPB. Bogor. 304 hal.
- Mertade, 2011. *Pengaruh Diameter Pangkal Tangkai Daun Pada Entres Terhadap Pertumbuhan Tunas Kakao*. Media Litbang Sulteng IV (1) : 01 – 07.
- Priyono, Matsaleh dan Suhendi, D., 2005. *Daya Regenerasi Dan Morfisme Pertumbuhan Bibit Hasil Kultur Daun Ortotrop Dan Plagiotrop Coffea Canephora Melalui Embriogenesis Somatik*. Pelita Perkebunan 16 (2): 65-74.
- Ulfa, M. B., 2011, *Penggunaan 2,4-D Untuk Induksi Kalus Kacang Tanah*, Media Litbang Sulteng IV (2) : 137-141, Desember 2011.
- Urfiana 2013, *Induksi Kalus Klon Kakao (Theobroma cacao L) Pada Medium MS Dengan Penambahan 2,4-D, BAP Dan Air Kelapa*, Jurnal Natural Science, Vol. 1.(2) 56-67