

**INDUKSI KALUS *THEOBROMA CACAO* SEBAGAI TAHAP AWAL  
PENGEMBANGAN TANAMAN  
MELALUI EMBRIOGENESIS SOMATIK**

**Rantih Fadhlya Adri**

**Abstract:** *This research is a precursor to the development of cocoa plants through somatic embryogenesis, which aims to determine the time of embryogenic callus emergence using B5 medium with 2.4 D and Kinetin growth regulators which can be developed for somatic embryo induction.*

**Keywords:** *cocoa, callus, somatic embryo*

**Abstrak :** Penelitian ini merupakan penelitian pendahulu yang dilakukan untuk pengembangan tanaman kakao melalui embriogenesis somatik, yang bertujuan untuk mengetahui waktu muncul kalus embriogenik dengan menggunakan medium B5 dengan zat pengatur tumbuh 2,4 D dan Kinetin yang dapat dikembangkan untuk induksi embrio somatik.

**Kata Kunci :** kakao, kalus, embrio somatik

#### **A. PENDAHULUAN**

Keterbatasan bibit tanaman kakao merupakan permasalahan dalam pengembangan tanaman kakao saat ini. Untuk mengatasi hal ini perlu dilakukan pengembangan teknologi pembibitan kakao dengan jumlah yang banyak dan waktu yang singkat sehingga mampu memenuhi kebutuhan yang semakin besar yaitu melalui teknik kultur jaringan tanaman kakao.

Kultur jaringan tanaman merupakan teknik menumbuhkembangkan bagian tanaman, baik berupa organ, jaringan dan sel dalam kondisi aseptik secara *in vitro*. Teknik ini didasari pada teori totipotensi sel dan dicirikan oleh kondisi yang aseptik, penggunaan media kultur buatan dengan kandungan nutrisi lengkap dan zat pengatur tumbuh (Yusnita, 2003).

Perbanyakan tanaman melalui kultur jaringan dapat dilakukan dengan organogenesis dan embriogenesis. Keunggulan regenerasi melalui embriogenesis adalah mampu menghasilkan embrio bipolar dari sel atau jaringan vegetatif (Sri Lestari, 2005 *cit.* Edy dan Pujisiswanto, 2008).

Embriogenesis somatik merupakan suatu proses di mana sel somatik (baik haploid maupun diploid) berkembang membentuk tumbuhan baru melalui tahap perkembangan embrio yang spesifik tanpa melalui fusi gamet. Embrio somatik dapat dicirikan dari strukturnya yang bipolar, yaitu mempunyai dua calon meristem, yaitu meristem akar dan meristem tunas. Dengan memiliki struktur tersebut maka perbanyakan melalui embriogenesis

somatik lebih menguntungkan daripada pembentukan tunas adventif yang unipolar (Purnamaningsih, 2004).

Embrio somatik dapat terbentuk melalui dua jalur, yaitu secara langsung maupun tidak langsung (melewati kalus). Embriogenesis langsung yaitu terjadi diferensiasi jaringan eksplan membentuk embrioid tanpa melalui pembentukan kalus. Sedangkan embriogenesis tidak langsung terjadi melalui pembentukan kalus, keberhasilan akan tercapai apabila kalus atau sel yang digunakan bersifat embriogenik yang dicirikan oleh sel yang berukuran kecil, sitoplasma padat, inti besar, vakuola kecil-kecil dan mengandung butir pati (Purnamaningsih, 2004). Faktor-faktor yang mempengaruhi dan berperan dalam induksi embriogenesis somatik adalah komposisi medium, zat pengatur tumbuh, jenis eksplan, ekspresi gen, dan cahaya (Trisnawati dan Sumardi, 2000).

Dari uraian diatas, sebagai upaya pengembangan kakao melalui embriogenesis somatik dengan melewati kalus, maka dilakukan penelitian induksi kalus *Theobroma cacao* sebagai upaya pengembangan tanaman melalui embriogenesis somatik.

## B. METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Fisiologi dan Kultur Jaringan Universitas Andalas, Padang. Bagian yang digunakan sebagai eksplan adalah embrio zigotik dari buah kakao, dengan menggunakan medium B5 dengan penambahan 1 ppm 2,4 D dan 0,2 ppm kinetin, dengan tahap sebagai berikut:

### 1. Persiapan Eksplan

Eksplan yang digunakan adalah embrio zigotik *Theobroma cacao* yang berasal dari biji buah kakao. Arillus dilepas kemudian biji dimasukkan ke dalam larutan bayclean 5 % yang telah dicampur dengan mamalime selama 10-15 menit sambil diaduk. Setelah itu dibilas dengan akuades steril sebanyak tiga kali. Proses selanjutnya dilakukan didalam *Laminar Air Flow Cabinet (L AFC)*, biji buah kakao dimasukkan ke dalam alkohol 70 % selama satu menit dan dibilas kembali dengan akuades steril. Kemudian dimasukkan ke dalam larutan bayclean 30 % selama satu menit, dibilas dengan akuades steril sebanyak 3 kali dan dikeringkan dengan tisu steril. Setelah biji buah kakao steril, embrio zigotik sebagai eksplan dipisahkan dengan kotiledonnya ditempatkan pada cawan petri steril dan siap untuk ditanam.

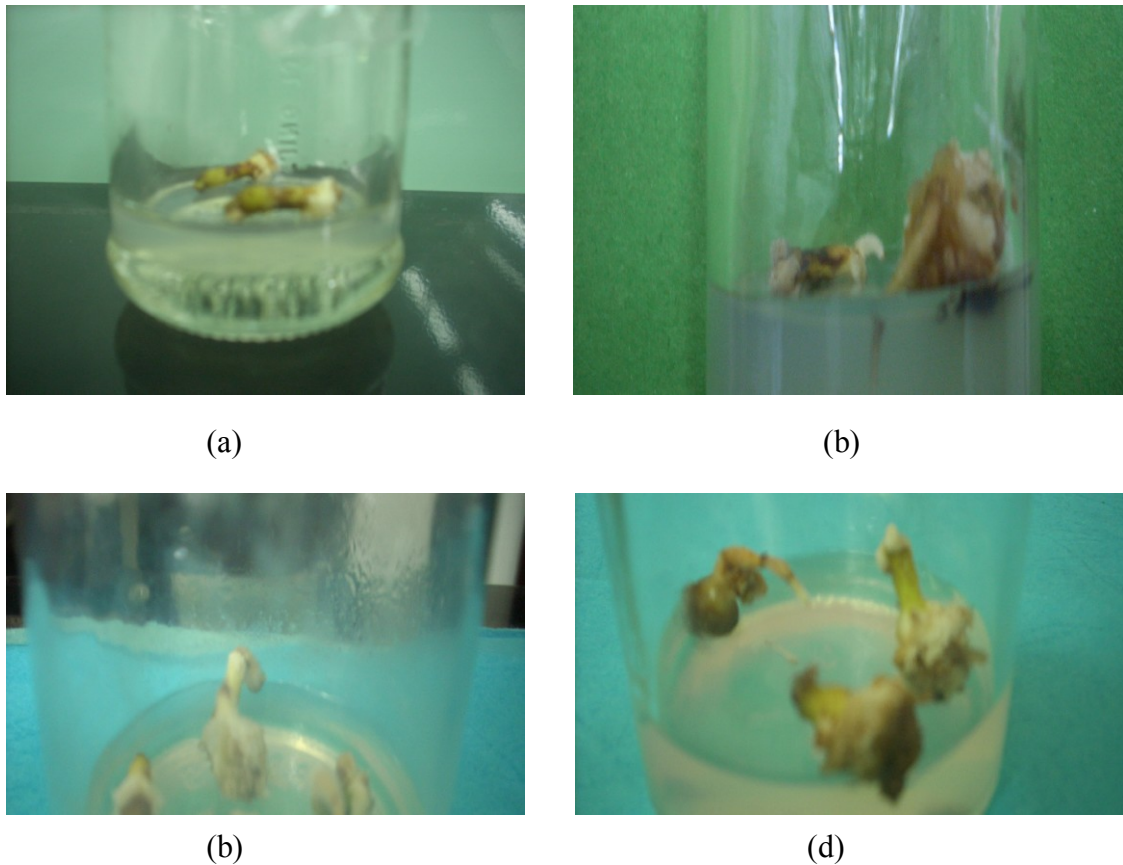
### 2. Induksi Kalus

Eksplan *Theobroma cacao* yang sudah steril, dimasukkan ke dalam botol kultur yang telah berisi medium B5 dengan penambahan 1 ppm 2,4-D dan 0,2 kinetin dengan menggunakan pinset secara aseptis. Kemudian diletakkan pada ruang kultur dengan pencahayaan 12 jam terang dan 12 jam gelap.

### C. HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari Pengamatan yang dilakukan persentase eksplan hidup mencapai 100% sampai minggu ke 4 mst, kalus terbentuk mulai dari minggu ke 1 mst dengan struktur kalus kompak bernodul yang muncul pada bagian eksplan yang dilukai (gambar 1 a) Hal ini menandakan bahwa medium dan zat pengatur tumbuh yang digunakan telah mampu menyokong pertumbuhan eksplan. Yusnita (2003) menyatakan bahwa komposisi media merupakan salah satu faktor yang sangat menentukan keberhasilan kultur jaringan. Hal ini disebabkan karena setiap tanaman membutuhkan konsentrasi kandungan hara yang berbeda yang terdapat dalam medium tumbuhnya. Dalam penelitian ini penggunaan medium B5 terbukti efektif untuk tanaman kakao, medium ini memiliki keunggulan pada komposisi vitaminnya dibanding dengan medium MS. Lestari (2005) menyatakan bahwa, terdapat perbedaan hingga 10 kali lipat antara jumlah tiamin (vitamin B<sub>1</sub>) pada medium MS dengan medium B5. Pada medium B5 jumlah tiamin sebesar 10 mg/l sedangkan pada medium MS jumlah tiamin hanya sebesar 1 mg/l. Sedangkan jumlah asam nikotinat dan piridoksin pada medium B5 sebesar dua kali lipat dari medium MS Tiamin merupakan komponen penting dalam metabolisme sel yang dibutuhkan pada hampir semua kultur. Pemberian tiamin akan dapat memacu embriogenesis somatik jaringan yang dikulturkan. Pada minggu ke 2 mst, volume kalus makin berkembang dan bagian yang berlawanan membentuk akar (gambar 1 b), sedangkan pada minggu ke 3 mst (gambar 1 c) dan ke 4 mst (gambar 1 d) volume kalus tidak bertambah lagi, hal diduga karena eksplan membutuhkan sub kultur pada medium dengan kandungan auksin untuk merangsang pertumbuhan embrio somatik. Yelnitis dan Barwawie (2000) menyatakan 2,4-D merupakan salah satu auksin yang sangat aktif yang sering digunakan untuk induksi kalus

dari berbagai jaringan tanaman dan juga efektif dalam menginduksi kalus embriogenik dibanding NAA dan IBA atau auksin lainnya.



Gambar 1. Pertumbuhan kalus (a). Minggu ke 1 mst (b) Minggu ke 2 mst (c) Minggu ke 3 mst (d) minggu 4 mst.

#### D. KESIMPULAN

1. Medium B5 dengan penambahan 1 ppm 2,4 D dan 0,2 Kinetin mampu membentuk kalus seminggu setelah tanam dan terus berkembang hingga minggu ke 4 setelah tanam.
2. Kalus yang terbentuk berpotensi untuk dikembangkan melalui embriogenesis somatik dengan subkultur ke medium lanjutan.

**F. DAFTAR PUSTAKA**

- Edy, K. dan H. Pujisiswanto. 2008. Pengaruh 2,4-D Terhadap Induksi Embrio Somatik Eksplan Leaflet Pada Beberapa Varietas Kacang Tanah (*Arachis hypogaea* L.) Secara In Vitro. *Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi-II 2008. Universitas Lampung.*
- Lestari, S. 2005. Induksi Embrio Somatik Kacang Tanah Pada Berbagai Macam Vitamin Dan Sukrosa. *Ilmu Pertanian Vol. 12 No. 01, 43-50*
- Purnamaningsih, R. 2004. Regenerasi Tanaman Melalui Embriogenesis Somatik dan Beberapa Gen yang Mengendalikannya. *Buletin Agrobio Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan. Bogor*
- Trisnawati, N dan N. I. Sumardi. 2000. Struktur dan Perkembangan Embrio Somatik pada Bawang Putih (*Allium sativum* L.) Secara In Vitro. *Prosiding Seminar Hasil Penelitian Pengembangan Bioteknologi III. Cibinong*
- Yelnititis dan N. Bermawie. 2000. Perbanyakan Tanaman Tangguh (*Pettiveria alliacea*) Melalui Embriogenesis Somatik. *Prosiding Seminar Hasil Penelitian Pengembangan Bioteknologi III. Cibinong. 429-434*
- , 2000. Embriogenesis Somatik dari Eksplan Daun Lada (*Piper nigrum*) Varietas Panniyur. *Prosiding Seminar Hasil Penelitian Pengembangan Bioteknologi III. Cibinong. 435-441*
- Yusnita. 2003. *Kultur Jaringan Cara Memperbanyak Tanaman Secara Efisien.* Agromedia Pustaka. Jakarta