

1. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Indonesia merupakan negara terbesar ketiga mengisi pasokan kakao dunia yang diperkirakan mencapai 20% bersama Negara Asia lainnya seperti Malaysia, Filipina, dan Papua New Guinea (ICCO, 2008). Perkebunan kakaodi Indonesai mengalami perkembangan pesat dalam kurun waktu 20 tahun terakhir dan pada tahun 2002 areal perkebunan kakao Indonesia tercatat seluas 914.051 ha. Perebunan kakao tersebut sebagian besar (87,4%) dikelola oleh rakyat dan selebihnya dikelola perkebunan besar negara serta swasta. Sejalan dengan keunggulan tersebut, peuang pasar kakao Indonesia cukup terbuka baik ekspor maupun kebutuhan dalam negeri. Dengan kata lain, potensi untuk menggunakan industri kakao sebagai salah satu pendorong pertumbuhan dan distribusi pendapatan cukup terbuka . Dalam upaya meningkatkan produktivitas kakao, diperlukan adanya upaya regenerasi perkebunan kakao yang berumur 25-30 tahun. Upaya regenerasi tersebut terkendala dengan ketersediaan bibit yang bermutu. Secara konvensional pengadaan bibit kakao terkendala akibat sulitnya mendapatkan bibit berkualitas dalam jumlah besar dengan kurun waktu yang singkat.

Upaya yang paling tepat dalam penyediaan bibit yang berkualitas dan dapat diproduksi dalam jangka waktu dekat adalah dengan perbanyak bahan tanam bibit kakao menggunakan bagian tanaman yang paling muda dengan teknologi kultur jaringan. Eksplan yang digunakan dalam penanaman ialah pucuk tanaman kakao karena eksplan tersebut bebas penyakit yang disebabkan oleh bakteri, jamur, virus ataupun mikroorganisme parasitik lainnya. Semakin kecil eksplan yang diambil dari jaringan yang aktif membelah maka semakin besar kemungkinan eksplan terbebas dari serangan patogen mikroorganisme (Katuuk, 1989). Semakin tua organ tanaman eksplan, maka proses pembelahan dan regenerasi sel cenderung menurun, oleh karena itu jaringan yang masih muda lebih baik digunakan karena pada umumnya jaringan tersebut masih berproliferasi dari pada jaringan yang berkayu atau yang sudah tua.

Proses pembelahan dan regenerasi eksplan pucuk kakao dapat didukung menggunakan penambahan hormon sitokinin. Hormon ini dapat membantu

menghilangkan pengaruh dormansi apikal pada tunas aksilar tanaman kakao (Gunawan, 1992). Salah satu jenis sitokinin yang banyak digunakan dalam kultur jaringan contoh salah satunya adalah kinetin. Kinetin adalah kelompok sitokinin yang berfungsi untuk pengaturan pembelahan sel dan morfogenesis.

1.2. Tujuan

Mempelajari pengaruh pemberian beberapa konsentrasi zat pengatur tumbuh kinetin terhadap pertumbuhan tunas aksilar kakao (*Theobroma cacao* L.).

1.3. Hipotesis

Pemberian zat pengatur tumbuh kinetin pada konsentrasi 2 ppm menghasilkan pertumbuhan tunas aksilar kakao (*Theobroma cacao* L.) yang terbaik.



2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tanaman Kakao (*Theobroma cacao*. L.)

Theobroma cacao L. adalah nama yang diberikan pada pohon kakao oleh Linnaeus pada tahun 1753. Tanaman kakao berasal dari Amerika Selatan, tempat alamiah dari genus *Theobroma* adalah di bagian hutan tropis dengan banyak curah hujan, tingkat kelembaban tinggi, dan teduh. Dalam kondisi seperti ini *Theobroma cacao* jarang berbuah dan hanya sedikit menghasilkan biji (Spillane, 1995).

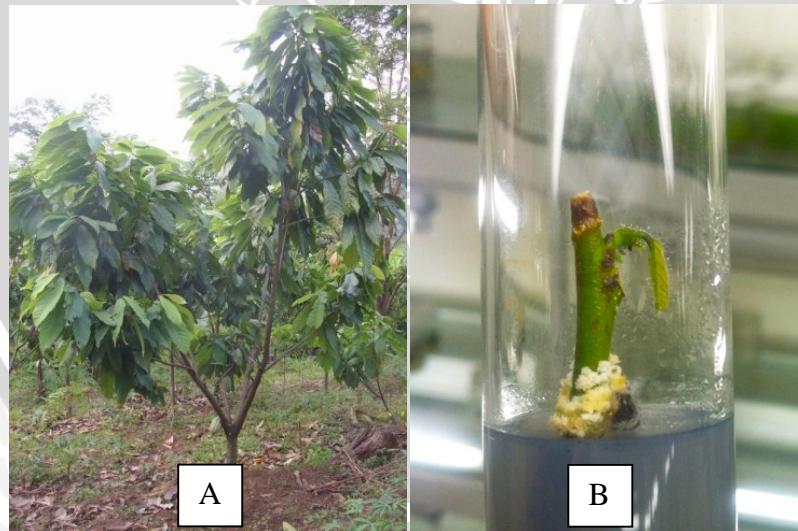
Menurut Susanto (1994), jenis yang paling banyak ditanam untuk produksi coklat hanya ada 3 jenis, yaitu : (1) Jenis Criollo, terdiri dari Criollo Amerika Tengah dan Criollo Amerika Selatan. Jenis ini menghasilkan biji coklat yang mutunya sangat baik dan dikenal sebagai coklat mulia. Buahnya berwarna merah atau hijau, kulit buahnya tipis dan berbintil – bintil kasar dan lunak. Biji buahnya berbentuk bulat telur dan berukuran besar dengan kotiledon berwarna putih pada waktu basah. (2) Jenis Forastero, Jenis ini menghasilkan biji coklat yang memiliki mutu sedang atau dikenal juga sebagai *Ordinary cocoa*. Buahnya berwarna hijau, kulitnya tebal, biji buahnya tipis atau gepeng dan kotiledon berwarna ungu pada waktu basah. (3) Jenis *Trinitario*, Merupakan campuran dari jenis *Criollo* dengan jenis *Forastero*. Coklat *Trinitario* menghasilkan biji yang termasuk *fine flavour cocoa* dan ada yang termasuk *bulk cocoa*. Buahnya berwarna hijau atau merah dan bentuknya bermacam – macam. Biji buahnya juga bermacam – macam dengan kotiledon berwarna ungu muda sampai ungu tua pada waktu basah.

Taksonomi tanaman kakao menurut Poedjiwidodo (1996), adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Kelas	: Dicotyledoneae
Bangsa	: Malvales
Famili	: Sterculiaceae
Genus	: <i>Theobroma</i>
Spesies	: <i>Theobroma cacao</i> . L.

Kakao termasuk golongan tanaman tahunan yang tergolong dalam kelompok tanaman caulifloris, yaitu tanaman yang berbunga dan berbuah pada batang dan cabang. Tanaman ini secara garis besar dapat dibagi atas dua bagian, yaitu bagian vegetatif yang meliputi akar, batang serta daun dan bagian generatif yang meliputi bunga dan buah. Tanaman ini merupakan tanaman dengan batang berkayu (lignosus) yaitu batang yang biasanya keras dan kuat, karena sebagian besar terdiri atas kayu, yang terdapat pada pohon-pohon (arbores). Kakao merupakan tumbuhan tahunan (perennial) berbentuk pohon di alam dapat mencapai ketinggian 10 m. Meskipun demikian, dalam pembudidayaan tingginya dibuat tidak lebih dari 5 m tetapi dengan tajuk menyamping yang meluas. Hal ini dilakukan untuk memperbanyak cabang produktif. Kakao merupakan tanaman perkebunan dan industri yang dikenal sebagai komoditas ekspor nonmigas yang memiliki prospek cukup cerah selain cengkeh.

Tanaman kakao bersifat dimorfisme karena memiliki bentuk tunas vegetatif yang berbeda yaitu tunas ortotrop dan tunas plagiotrop. Tunas ortotrop merupakan tunas yang arah pertumbuhannya ke atas. Sedangkan tunas plagiotrop merupakan tunas yang arah tumbuhnya ke samping. Pada tanaman kakao juga terdapat jorket yaitu tempat atau titik percabangan tunas ortotrop ke plagiotrop.



Gambar 1 : Morfologi tanaman kakao lapang (A), Morfologi tanaman kakao *in vitro* (B).

2.2 Kultur Jaringan

Menurut Suryowinoto (1991), kultur jaringan dalam bahasa asing disebut sebagai *tissue culture*, *weefsel cultuus* atau *gewebe kultur*. Kultur sendiri berarti budidaya dan jaringan adalah sekelompok sel yang mempunyai bentuk dan fungsi yang sama. Maka, kultur jaringan berarti membudidayakan suatu jaringan tanaman menjadi tanaman kecil yang mempunyai sifat seperti induknya.

Kultur jaringan akan lebih besar persentase keberhasilannya bila menggunakan jaringan meristem. Jaringan meristem adalah jaringan muda, yaitu jaringan yang terdiri dari sel-sel yang selalu membelah, dindingnya tipis, belum mempunyai penebalan dari zat pektin, plasmanya penuh dan vakuolanya kecil-kecil. Kebanyakan orang menggunakan jaringan ini untuk *tissue culture*. Sebab, jaringan meristem keadaannya selalu membelah, sehingga diperkirakan mempunyai zat hormon yang mengatur pembelahan.

Usaha untuk pengembangan tanaman dengan kultur jaringan merupakan usaha perbanyak vegetatif tanaman yang dapat dikatakan masih baru. Namun, saat ini sudah banyak sekali penemuan-penemuan tentang ilmu pengetahuan kultur jaringan dalam bidang pertanian, biologi, farmasi, kedokteran dan sebagainya. Dibidang farmasi, teknik kultur jaringan sangat menguntungkan karena dapat menghasilkan metabolit sekunder untuk keperluan obat-obatan dalam jumlah yang besar dan dalam waktu yang singkat. Untuk mengetahui keuntungan pelaksanaan kultur jaringan lebih lanjut, maka perlu dikemukakan perbedaan perbanyak secara vegetatif dan generatif.

Pemilihan eksplan dalam perbanyak tanaman secara kultur jaringan merupakan faktor penting penentu keberhasilan. Hal-hal yang harus dipertimbangkan dalam memilih eksplan sebagai bahan kultur adalah jenis tanaman, bagian tanaman yang digunakan, morfologi permukaan, lingkungan tumbuh dan kondisi tanaman. Gunawan (1988) menyatakan bagian tanaman yang dapat digunakan sebagai eksplan adalah pucuk muda, batang muda, daun muda, kotiledon, hipokotil. Menurut Wattimena (1992) eksplan tanaman yang masih muda menghasilkan tunas maupun akar adventif lebih cepat bila dibandingkan dengan eksplan tanaman yang sudah tua.

Media sebagai tempat tumbuh eksplan memegang peranan penting karena fungsinya menyediakan hara makro dan mikro. Media tumbuh juga ditambahkan sumber energi, zat pengatur tumbuh serta bahan yang dapat mendukung pertumbuhan eksplan (George, 1993). Media yang biasa digunakan untuk budidaya tanaman berkayu adalah media standar WPM (*Woody Plant Medium*). Kesulitan yang sering timbul dalam kultur jaringan tanaman berkayu adalah keluarnya *phenolic compound*, sehingga kalus atau eksplan menjadi berwarna coklat yang akhirnya tidak dapat tumbuh. Hal demikian disebut *browning*. Untuk mencegah terjadinya *browning*, komposisi media WPM (*Woody Plant Medium*) ditambahkan arang aktif yang berperan mengabsorpsi senyawa toksik yang terdapat dalam media dan mengabsorpsi zat pengatur tumbuh (Yusnita, 2004).

2.3 Zat Pengatur Tumbuh Sitokinin

Zat Pengatur Tumbuh atau disebut juga plant regulator adalah senyawa organik yang bukan hara (*nutrient*), yang dalam jumlah sedikit dapat mendukung (*promote*), menghambat (*inhibit*) dan dapat merubah proses fisiologi tumbuhan (Abidin, 1994). Zat pengatur tumbuh memegang peranan penting dalam pertumbuhan dan perkembangan kultur, faktor yang perlu diperhatikan dalam penggunaan zat pengatur tumbuh yang digunakan, konsentrasi, urutan penggunaan, dan periode masa induksi dalam kultur tertentu (Gunawan, 1988). Zat pengatur tumbuh mempunyai sifat merangsang, menghambat dan mengubah proses fisiologis dalam tanaman. Oleh sebab itu salah satu faktor yang sangat mempengaruhi keberhasilan penggunaan zat pengatur tumbuh bagi tanaman adalah konsentrasi pemberiannya. Apabila konsentrasi yang digunakan terlalu tinggi menyebabkan kematian bagi tanaman, sedangkan konsentrasi pemberian yang terlalu rendah menyebabkan menurunnya efek zat pengatur tumbuh tersebut (Sari, 2006).

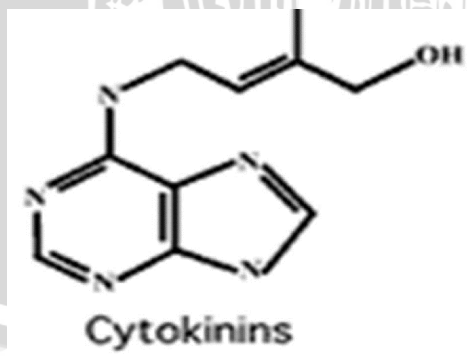
Sitokinin adalah salah satu zat pengatur tumbuh yang ditemukan pada tanaman. Sitokinin berfungsi untuk memacu pertumbuhan sel dan pembentukan organ. Sitokinin merupakan hormon tumbuhan turunan dari adenine yang berfungsi untuk merangsang pembelahan sel dan diferensiasi mitosis. Selain itu, sitokinin juga terlibat dalam proses fisiologis lainnya seperti senesens (penuaan) dan dominansi pucuk

aplikasi untuk merangsang tumbuhnya tunas pada kultur jaringan atau pada tanaman induk, namun sering tidak optimal untuk tanaman dewasa (Setiawan, 2000).

Media yang dibuat oleh Murashige biasanya mempunyai kadar sitokinin 10 mg – 30 mg/l yang berfungsi untuk merangsang timbulnya percabangan aksilar. Peningkatan jumlah per cabang aksiler lebih menguntungkan daripada pembentukan pucuk secara adventif karena pembentukan secara adventif sering terjadi berbagai macam variabilitas genetik (Indriati, 2003).

Pengaruh sitokinin pada kultur jaringan bervariasi tergantung tipe kultur dan varietas tanaman yang digunakan. Sitokinin seperti kinetin, 2-IP dan BAP (6- *Benzyl Amino Purin*) pada konsentrasi antara 0,1-10 mg/l aktif dalam merangsang pembentukan tunas adventif tetapi menghambat pembentukan akar (Pierik, 1987 dalam Shanti, 2005) sedangkan konsentrasi BA sekitar 5 ppm (Wattimena, 1991 dalam Shanti, 2005).

Sitokinin berperan penting dalam pengaturan pembelahan sel dan morfogenesis. Sitokinin yang pertama kali ditemukan adalah kinetin. Menurut (Yusnita, 2003) Kinetin bersama-sama dengan auksin memberikan pengaruh interaksi terhadap diferensiasi jaringan. Pada pemberian auksin dengan konsentrasi relatif tinggi, diferensiasi kalus cenderung ke arah pembentukan primordia akar, sedangkan pada pemberian kinetin yang relatif tinggi, diferensiasi kalus cenderung ke arah pembentukan primordia batang atau tunas.



Gambar 2. Struktur molekul sitokinin (Taiz and Zeiger, 2002).

Sitokinin terlibat dalam banyak proses, meliputi pembelahan sel, pembentukan tunas dan akar, pematangan kloroplas, pembesaran sel, pemunculan

dana penuaan tunas ketiak daun. Rasio auksin terhadap sitokinin penting selama pembelahan sel dan diferensiasi jaringan-jaringan tanaman. Interaksi dan perimbangan antara zat pengatur tumbuh yang diberikan dalam media dan yang diproduksi oleh sel secara endogen, menentukan arah perkembangan suatu kultur (Abidin, 1994).

Kinetin (Kn) adalah salah satu macam sitokinin. Diberi nama kinetin karena kemampuannya menginduksi pembelahan sel. Kinetin sering digunakan pada kultur jaringan tanaman untuk menginduksi pembentukan kalus dan untuk meregenerasi jaringan pucuk. Kinetin ada secara alami dalam DNA hampir semua organisme meliputi sel manusia dan berbagai tanaman (Abidin, 1994).

2.3.1 Peranan Konsentrasi Kinetin Dalam Pertumbuhan Tunas

Sitokinin adalah suatu zat didalam tanaman yang bersama auksin mendorong pembelahan sel dan menentukan arah terjadinya differensiasi sel (Kusumo, 1984). Kinetin dibuat dari pemecahan deoxyribonucleic acid atau DNA, karena sifatnya mengaktifkan pembelahan sel bersama auksin. Kinetin tidak pernah terdapat secara alami didalam tanaman. Zat yang secara alami mempunyai pengaruh morfologi dan fisiologi yang sama dengan kinetin yang terdapat didalam tanaman adalah sitokinin. Zat ini terdapat didalam air kelapa, biji jagung muda, buah pisang muda atau buah apel muda (Kusumo, 1984). Hasil penelitian (Abidin, 1994) menunjukkan bahwa kinetin menyebabkan meningkatnya nuclear RNA sintesis dan mengatur bebasnya RNA masuk kedalam sitoplasma. Jika sel memperoleh sitokinin maka akan terjadi pembelahan sel lebih banyak. Ini adalah karena pengaruh hormon terhadap sistem enzim yang pada runtunannya akan mempengaruhi ketersediaan asam-asam inti yang penting pada pembelahan sel. Pengaruhnya terhadap pembebasan, penggandaan DNA dan RNA.

Purnamaningsih (2002) meneliti pengaruh zat pengatur tumbuh dan macam eksplan terhadap regenerasi tanaman *Citrus maxima*. Eksplan daun dengan 2,4-D memunculkan kalus. Dari kalus yang muncul, kalus yang berwarna hijau yang dapat membentuk tunas (lebih dari 13 tunas per kalus), setelah diberi BA dengan konsentrasi 6,66 μM . Eksplan pucuk langsung menghasilkan tunas sebanyak 5-7

tunas pada mesia dengan BA 0,89 M, dan akar muncu setelah tunas ditanam pada media mengandung 9,84 μM IBA. Akar juga muncul dari tunas pada perlakuan NAA 5,37 μM .

Penelitian untuk mengeksplor tipe eksplan dari lapang, ZPT dan penambahan organik pada proses regenerasi jeruk Kinow (*Citrus reticulata*) oleh Mukhtar *et al.* (2005) menggunakan Media MS ditambah (0,25, 0,5, 1 dan 2 mg/l) BAP; kinetin (0,5, 1, 1,5, 2 mg/l) untuk menghasilkan tunas-tunas baru. Setelah muncul tunas kecil, tunas dipisah satu persatu dan dikultur pada media MS yang mengandung (1, 1,5, 2 mg/l) NAA untuk inisiasi akar. Presentase keberhasilan eksplan pucuk pada media MS dengan 1 mg/l BAP dan 1,5 mg/l kinetin menghasilkan presentase tunas tertinggi. Presentase pembentukan tunas ditemukan lebih tinggi pada eksplan pucuk daripada nodia. Pucuk yang ditanam pada media MS dengan 1 mg/l BAP menghasilkan lebih dari 84%; semakin tinggi BAP semakin meningkat tetapi menurun pada 2 mg/l. Kinetin juga berhasil menghasilkan pucuk tetapi rendah (80%) dari BAP. Rata-rata tunas per eksplan tertinggi pada 1,5 mg/l kinetin dan 0,5 mg/l BAP. Eksplan nodia pada media MS dengan 2 mg/l NAA menghasilkan lebih banyak akar. Pada eksplan pucuk, ada kecenderungan semakin banyak konsentrasi NAA, persentase keberhasilan membentuk akar berkurang. Jumlah tunas terbentuk; BAP terbaik 0,5 mg/l yaitu 7,33. Jumlah dari eksplan pucuk lebih tinggi daripada eksplan nodia. Untuk kinetin terbaik 1,5 mg/l yaitu 7,99.

Rahayu *et al.* (2012) mengembangkan protokol perbanyak *in vitro* jeruk pamelon (*Citrus grandis*) dengan menggunakan eksplan pucuk pada media MS sebagai penumbuh perbanyak tunas. Setelah 6 minggu didapat tunas dengan rata-rata 5,2 dari BA dengan konsentrasi 1,8 M. NAA dengan sitokinin tidak menghasilkan akar lebih banyak (superior) dibanding IBA. Peningkatan konsentrasi dari 1,3 ke 10,7 μM pada NAA terus meningkatkan jumlah akar dari 1,4 ke 4 akar per eksplan sedangkan IBA tetap saja hanya menghasilkan 1 akar.

2.3.2 Efek Fisiologis dari Sitokinin

Sitokinin memengaruhi berbagai proses fisiologis di dalam tanaman. Aktivitas yang terutama ialah mendorong pembelahan sel dan aktivitas ini yang

menjadi kriteria utama untuk menggolongkan suatu zat ke dalam sitokinin. Baik efek yang menghambat maupun efek yang mendorong proses pembelahan sel oleh sitokinin tergantung oleh adanya fitohormon lainnya terutama auksin. Sitokinin memperlambat proses penghancuran butir-butir klorofil pada daun-daun yang terlepas dari tanaman dan memperlambat proses senescence pada daun, buah dan organ-organ lainnya.

2.3.3 Sitokinin Sintetik

Didapat sejumlah senyawa-senyawa substansi adenin yang mempunyai aktivitas seperti sitokinin didalam pertumbuhan kalus tembakau. 6-Benzil adenin (BA) mempunyai struktur yang serupa dengan kinetin. BA ini sangat aktif dalam mendorong pertumbuhan kalus tembakau. Bentuk isomernya 1-benzil adenin harus diubah menjadi 6-benzil adenin.



3. BAHAN DAN METODE

3.1. Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan pada bulan Mei – September 2015 di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang

3.2. Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan sebagai bahan eksplan dalam penelitian ini adalah tunas aksilar dari tanaman kakao (*Theobroma cacao* L.) (Gambar 3). Bahan-bahan yang digunakan untuk sterilisasi berupa fungisida Dithane M-45, HgCl, bakterisida Agrept, Tween 80, *detergen*, *clorox*, alkohol 96%, dan air steril. Bahan-bahan yang digunakan sebagai media induksi tunas kakao antara lain larutan stok *Woody Plant Media* (WPM), Kinetin (Kn), sukrose, aquades dan agar-agar. Bahan lain yang diperlukan adalah plastik, karet gelang, spirtus, dan *tissue*.

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini antara lain pinset, *scalpel*, pisau tajam, cawan petri, gunting, timbangan analitik, pH meter, pembakar bunsen, alat-alat gelas (erlenmeyer, pengaduk, labu takar, gelas ukur, pipet, corong), botol kultur, kompor, *autoclave*, *laminar air flow cabinet*, alat tulis dan kamera.

3.3. Metode Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan selama 5 bulan yang dirancang dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap. Terdapat 7 perlakuan berbagai macam konsentrasi Kinetin (Kn) pada media *Woody Plant Media* (WPM) yaitu :

- K₀ : 0 ppm Kinetin (Kn)
- K₁ : 0,5 ppm Kinetin (Kn)
- K₂ : 1 ppm Kinetin (Kn)
- K₃ : 1,5 ppm Kinetin (Kn)
- K₄ : 2 ppm Kinetin (Kn)
- K₅ : 2,5 ppm Kinetin (Kn)
- K₆ : 3 ppm Kinetin (Kn)

Penelitian ini terdiri dari 6 ulangan pada masing masing perlakuan sehingga terdapat 168 satuan percobaan dengan setiap ulangan terdapat 4 eksplan pada setiap ulangannya (4 botol kultur).

3.4. Metode Pelaksanaan

3.4.1 Sterilisasi

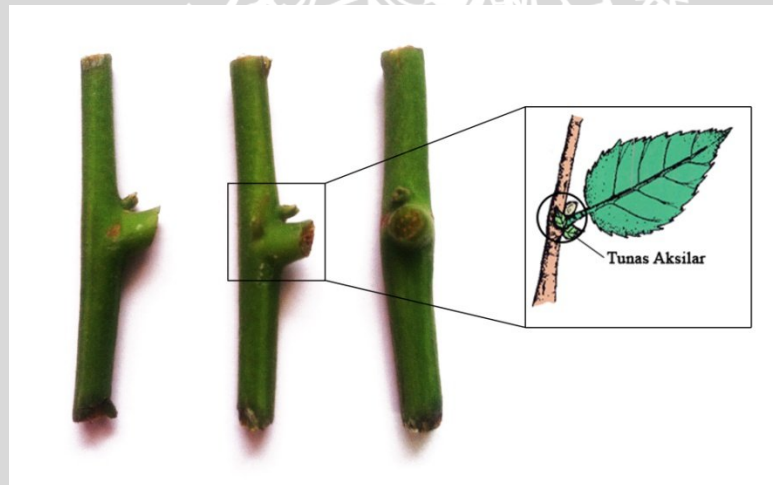
3.4.1.1. Sterilisasi alat

Sterilisasi dimulai dari menyiapkan botol kultur, pinset, *scalpel*, pisau tajam, cawan petri dan gunting. Setelah itu, mencuci dan membungkus alat menggunakan kertas hingga semua bagian tertutupi. Botol kultur yang kotor atau sudah berisi media atau bahan yang terkontaminasi jamur maupun bakteri dilakukan destruct terlebih dahulu didalam autoclave khusus untuk mematikan jamur atau bakteri kontaminannya, lalu setelah itu mencuci dan membungkus serta sterilisasi lagi dengan autoclave lainnya. Alat kultur jaringan yang telah bersih kemudian sterilisasi menggunakan autoclave pada suhu 121⁰C dan pada tekanan 1 atm selama kurang lebih satu jam sampai tekanan pada autoclave kembali 0. setelah 1 jam alat dalam autoclave dibiarkan hingga dingin lalu setelah itu dapat dikeluarkan dan dimasukkan ke dalam oven agar kering.

3.4.1.2. Sterilisasi eksplan

Eksplan adalah bagian kecil jaringan atau organ yang diambil atau dipisahkan dari tanaman induk kemudian dikulturkan. Sterilisasi eksplan dimulai dari mengambil tunas aksilar dari tanaman kakao yang berusia 10-15 tahun, kemudian memotong daun pada ruas-ruas tunas sehingga diperoleh buku-buku tunas yang berukuran 3-4 cm (Gambar 3). Selanjutnya, membiarkan tunas aksilar dibawah air mengalir untuk menghilangkan lendir yang keluar dari setiap potongan tunas aksilar dan membilas dengan air steril dan mencuci dengan air sabun (superpel/rinso) lalu shaker selama 30 menit hingga lendir pada tunas aksilar dan busa sabun hilang. Setelah itu merendam dengan menggunakan larutan fungisida dan bakterisida (masing-masing 2gr/L), kemudian ditambahkan 1-2 tetes Tween 80 dan melakukan shaker selama 1 jam. Langkah-langkah tersebut dilakukan pada eksplan diluar *Laminar Air Flow Cabinet*.

Tahapan sterilisasi yang dilakukan diluar *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC) dilanjutkan dengan sterilisasi bahan tanam tunas aksilar dilakukan didalam *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC) untuk menjaga bahan tanam tunas aksilar tetap steril hingga saat inokulasi. Membilas tunas aksilar dengan menggunakan air steril hingga busa tween 80 tidak tampak lagi. Kemudian merendam bahan tanam tunas aksilar menggunakan larutan HgCl dengan konsentrasi 0,05 g/100ml selama 10 menit atau lebih dan berfungsi sebagai desinfektan atau mencegah terjadinya infeksi atau pencemaran jamur, virus dan organisme lain yang masih menempel pada bahan tanam tunas aksilar kakao. Setelah itu, membilas bahan tanam tunas aksilar kakao menggunakan air steril dan dilakukan minimal 3 kali pembilasan. Setelah itu merendam bahan tanam menggunakan clorox 5% selama 10 menit dan membilas menggunakan air steril (dilakukan pengocokan saat perendaman bahan tanam tunas aksilar kakao. Setelah semua perlakuan sterilisasi selesai, mengeringkan bahan tanam tunas aksilar menggunakan tissue steril dan kemudian menginokulasi pada media.



Gambar 3. Tunas Aksilar Tanaman Kakao

3.4.2 Pembuatan Media

Pembuatan media pada prinsipnya dilakukan dengan melarutkan semua komponen media dalam air aquades, sesuai dengan konsentrasinya pada formulasi media yang akan dibuat. Sebelum dilakukan pembuatan media perlu adanya persiapan larutan stok. Larutan stok adalah larutan yang berisi satu atau lebih

komponen media yang konsentrasinya lebih tinggi daripada konsentrasi komponen tersebut dalam formulasi media yang akan dibuat. Larutan stok dalam media kultur jaringan dikelompokkan dalam: stok makro, stok mikro, stok vitamin dan stok hormon. Larutan stok bisa dibuat dengan konsentrasi 10, 100, atau bahkan 1000 kali lebih pekat. Larutan stok sebaiknya disimpan dalam ruang bersuhu rendah. Dengan adanya larutan stok, pembuatan media selanjutnya dilakukan hanya dengan teknik pengenceran dan pencampuran saja.

Tabel 1. Komposisi Larutan Stok Media *Woody Plant Media* (WPM)

Stok	Komponen	mg/l	Pemekatan		Pemakaian
			Stok 100x (g/l)	Stok 100x (g/500ml)	
A (WPM)	NH ₄ NO ₃	400	40	20	10 ml/l
	Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	556	55,6	27,8	
	CaCl ₂ .2H ₂ O	96	9,6	4,8	
B (WPM)	K ₂ SO ₄	990	99	49,5	10 ml/l
	MgSO ₄ .7H ₂ O	370	37	18,5	
	KH ₂ PO ₄	170	17	8,5	
C (WPM)	FeSO ₄ .7H ₂ O	27,8	2,78	1,39	10 ml/l
	Na ₂ -EDTA.2H ₂ O	37,3	3,78	1,865	
D (WPM)	MnSO ₄ .H ₂ O	8,6	8,6	4,3	1 ml/l
	CuSO ₄ .5H ₂ O	22,3	22,3	11,15	
	H ₃ BO ₃	0,25	0,25	3,1	
	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	6,2	6,2	0,125	
E (WPM)	Nicotinic Acid	0,5	0,5	0,25	1 ml/l
	Thiamin HCl	1	1	0,5	
	Glycine	2	2	1	
	Pyridoxine HCl	0,5	0,5	0,25	
	Gula	30	3	1,5	20 g/l
	Agar				7 g/l
	pH				5,8

Langkah-langkah pembuatan media kultur jaringan adalah sebagai berikut :

1. Menyiapkan alat-alat dan bahan-bahan yang akan digunakan, yaitu : a) Alat : timbangan analitik, tabung erlenmeyer, gelas ukur, gelas piala, pipet, ball pipet (*rubber*), stirer, kompor gas atau hot plate, pH meter atau kertas pH, botol media. b) Bahan: semua komponen media dalam bentuk larutan stok, maupun bahan yang sudah ditimbang seperti gula dan pematat (agar).
2. Mencampurkan larutan stok hara makro, mikro, vitamin dan hormon Kinetin (Kn) sesuai kebutuhan ke dalam labu ukur dan dicampurkan dengan magnetic stirrer agar larutan dapat homogen.
3. Menambahkan gula ke dalam larutan media tersebut kemudian menera larutan tersebut dengan air aquades dengan menggunakan labu ukur sesuai volume media yang dibutuhkan kemudian mengaduknya dengan magnetic stirrer hingga semua bahan tercampur dengan sempurna.
4. Melakukan pengukuran pH. Kadar pH yang dibutukan adalah 5,8. Bila pH masih dibawah 5,8 maka perlu ditambahkan beberapa tetes NaOH atau KOH sampai mencapai kadar pH 5,8. Tetapi jika kadar pH terlalu tinggi atau lebih dari 5,8 maka perlu ditambahkan beberapa tetes HCl sampai kadar pH 5,8.
5. Memasukkan pematat media (agar 7gr/L) ke dalam larutan media. Setelah itu media dapat langsung dipanaskan dengan menggunakan hotplate atau dipanaskan di atas kompor gas. Selama pemanasan berlangsung, hendaknya larutan media tersebut diaduk terus-menerus hingga pematat medianya terlarut seluruhnya. Pemanasan dihentikan sampai larutan terlihat bening dan mulai terlihat gelembung-gelembung udara.
6. Setelah larut, menuangkan media tersebut ke dalam botol-botol media yang telah dipersiapkan sesuai kebutuhan tergantung besar kecilnya botol. Diusahakan supaya botol benar-benar tertutup rapat.
7. Memasukkan botol-botol tersebut ke dalam autoclave dan disterilisasi dengan suhu 121°C dengan tekanan 1 atm.

8. Media yang sudah disterilisasi kemudian disimpan dalam ruang penyimpanan media ber-AC (suhu 24 - 26°C) selama 3 hari sebelum digunakan untuk memastikan bahwa media tersebut tidak terkontaminasi.
9. Stok media disesuaikan dengan jenis media yang diperlukan.

3.4.3 Penanaman

Penanaman eksplan dilakukan dalam *Laminar Air Flow Cabinet* yang sebelumnya telah dibersihkan dengan menggunakan alkohol 70% dan disterilkan dengan lampu UV selama 1 jam sebelum penanaman. Semua alat-alat yang akan digunakan dalam proses penanaman disemprot terlebih dahulu dengan alkohol 70% sebelum dimasukkan kedalam laminar. Tunas aksilar kakao yang sudah melalui tahap sterilisasi eksplan kemudian ditanam dan diinkubasi di ruang kultur dengan suhu antara 18-24°C pada kondisi terang.

3.4.4 Pemeliharaan Kultur

Pemeliharaan dilakukan dengan meletakkan botol kultur di ruang kultur yang bersuhu 18-24°C dengan kondisi terang. Perlakuan yang dilakukan apabila eksplan terkontaminasi ialah mengganti dengan eksplan dan media yang baru. Waktu kontaminasi eksplan diberikan batasan waktu untuk melakukan pergantian yaitu maksimal 15 HST. Langkah pemeliharaan yang lain adalah dengan cara melakukan sterilisasi ruangan dengan menyemprotkan desinfektan ke seluruh ruangan.

3.4.5 Pengamatan

Pengamatan dilakukan dari awal sampai akhir perlakuan dengan interval pengamatan setiap hari selama 9 minggu, peubah yang diamati adalah :

1. Jumlah tunas terbentuk pada minggu setelah inokulasi (MSI). Dihitung dari jumlah tunas yang terbentuk pada setiap eksplan
2. Jumlah kalus terbentuk pada minggu setelah inokulasi (MSI). Dihitung dari jumlah tunas yang terbentuk pada setiap eksplan
3. Bobot basah eksplan (g).
4. Bobot kering eksplan (g).

3.4 Analisis Data

Analisis data menggunakan *analysis of varian* (ANOVA) dilakukan untuk menguji pengaruh pemberian konsentrasi kinetin terhadap induksi tunas kakao. Apabila berpengaruh nyata pada perlakuan maka dilakukan pengujian dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil) pada taraf 5%.



4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Hasil

4.1.1. Eksplan Hidup

Eksplan hidup ditunjukkan dalam 5 parameter pengamatan yaitu jumlah eksplan bertunas, jumlah eksplan berkalus, jumlah eksplan yang mengalami stagnasi serta parameter hasil yaitu bobot basah dan bobot kering.

4.1.1.1. Jumlah Eksplan Bertunas

Berdasarkan hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan pemberian beberapa konsentrasi kinetin pada media WPM (*Woody Plant Media*) memberikan pengaruh nyata terhadap pembentukan tunas pada eksplan tunas aksilar tanaman kakao pada umur 6-9 minggu setelah inokulasi (Lampiran 4). Data rata-rata jumlah eksplan yang bertunas disajikan pada Tabel 1.

Tabel 2. Rata-rata Jumlah Eksplan Bertunas

Perlakuan	Umur Eksplan Minggu Setelah Inokulasi (MSI)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
K0 (Kn 0 ppm)	-	-	-	-	0,042	0,292 a	0,333 a	0,417 a	0,458 a
K1 (Kn 0,5 ppm)	-	-	-	-	0,167	0,333 ab	0,375 ab	0,5 ab	0,542 ab
K2 (Kn 1 ppm)	-	-	-	-	0,083	0,458 abc	0,458 abc	0,583 ab	0,625 b
K3 (Kn 1,5 ppm)	-	-	-	-	0,333	0,417 abc	0,542 cd	0,625 bc	0,667 b
K4 (Kn 2 ppm)	-	-	-	-	0,458	0,542 c	0,667 d	0,792 c	0,833 c
K5 (Kn 2,5 ppm)	-	-	-	-	0,25	0,375 ab	0,5 bc	0,583 ab	0,583 ab
K6 (Kn 3 ppm)	-	-	-	-	0,083	0,333 ab	0,417 abc	0,458 ab	0,458 a
BNT					tn	0,151	0,143	0,179	0,151

Keterangan: Bilangan yang didampingi huruf yang sama pada kolom yang sama, tidak berbeda nyata pada uji BNT 0,5 ($p=0,05$); Kn = Kinetin; tn = tidak nyata.

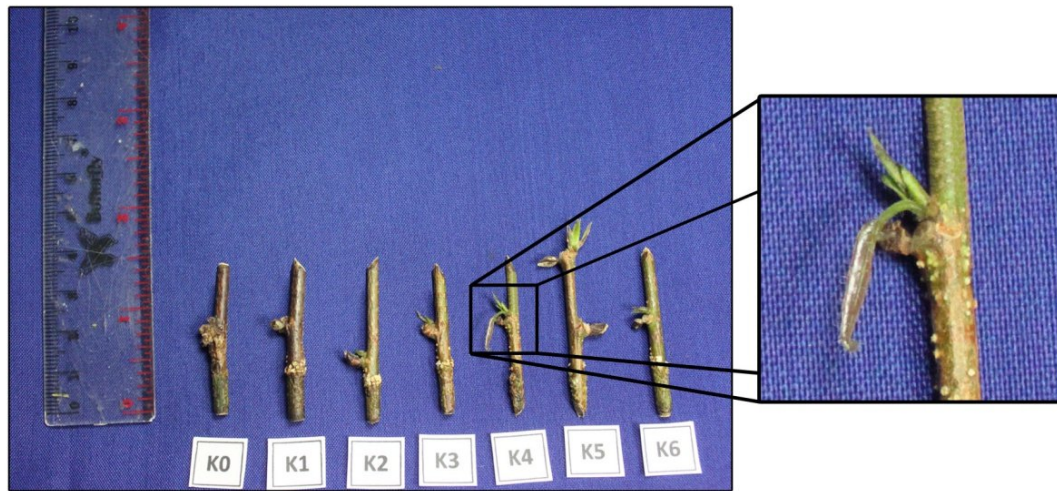
Tabel 2. menunjukkan bahwa tunas terbentuk mulai minggu ke 5 setelah inokulasi (MSI). Pada minggu ke 6 setelah inokulasi (MSI) perlakuan K0 (Kinetin 0 ppm) menunjukkan hasil tidak berbeda nyata terhadap perlakuan K1 (Kinetin 0,5 ppm), K2 (Kinetin 1 ppm), K3 (Kinetin 1,5 ppm), K5 (Kinetin 2,5 ppm) dan K6 (Kinetin 3 ppm), pada perlakuan K1 (Kinetin 0,5 ppm), K2 (Kinetin 1 ppm), K3 (Kinetin 1,5 ppm), K5 (Kinetinn 2,5 ppm) dan K6 (Kinetin 3 ppm) tidak berbeda nyata antar perakuan tetapi berbeda nyata terhadap perlakuan K4 (Kinetin 2 ppm),

perlakuan K4 (Kinetin 2 ppm) tidak berbeda nyata terhadap perlakuan K2 (Kinetin 1 ppm) dan K3 (Kn 1,5 ppm) namun berbeda nyata terhadap perlakuan K0 (Kinetin 0 ppm), K1 (Kinetin 0,5 ppm), K5 (Kinetin 2,5 ppm) dan K6 (Kinetin 3 ppm).

Pada minggu ke 7 setelah inokulasi (MSI) perlakuan K0 (Kinetin 0 ppm) menunjukkan hasil tidak berbeda nyata terhadap perlakuan K1 (Kinetin 0,5 ppm), K2 (Kinetin 1 ppm) dan K6 (Kinetin 3 ppm) namun berbeda nyata terhadap perlakuan K3 (Kinetin 1,5 ppm), K4 (Kinetin 2 ppm), K5 (Kinetin 2,5 ppm), pada perlakuan K1 (Kinetin 0,5 ppm), K2 (Kinetin 1 ppm) dan K6 (Kinetin 3 ppm) tidak berbeda nyata antar perlakuan tetapi berbeda nyata terhadap perlakuan K3 (Kinetin 1,5 ppm), K4 (Kinetin 2 ppm) dan K5 (Kinetin 2,5 ppm), perlakuan K4 (Kinetin 2 ppm) berbeda nyata terhadap perlakuan K0 (Kinetin 0 ppm), K1 (Kinetin 0,5 ppm), K2 (Kinetin 1 ppm), K5 (Kinetin 2,5 ppm) dan K6 (Kinetin 3 ppm).

Pada minggu ke 8 setelah inokulasi (MSI) menunjukkan hasil bahwa perlakuan K0 (Kinetin 0 ppm) tidak berbeda nyata terhadap perlakuan K1 (Kinetin 0,5 ppm), K2 (Kinetin 1 ppm), K5 (Kinetin 2,5 ppm) dan K6 (Kinetin 3 ppm) namun berbeda nyata terhadap perlakuan K3 (Kinetin 1,5 ppm) dan K4 (Kinetin 2 ppm). Pada perlakuan K4 (Kinetin 2 ppm) menunjukkan hasil berbeda nyata terhadap perlakuan K0 (Kinetin 0 ppm), K1 (Kinetin 0,5 ppm), K2 (Kinetin 1 ppm), K5 (Kinetin 2,5 ppm) dan K6 (Kinetin 3 ppm).

Selanjutnya pada minggu ke 9 setelah inokulasi (MSI) perlakuan K0 (Kinetin 0 ppm) menunjukkan hasil tidak berbeda nyata terhadap perlakuan K1 (Kinetin 0,5 ppm), K5 (Kinetin 2,5 ppm) dan K6 (Kinetin 3 ppm) dan berbeda nyata terhadap perlakuan K2 (Kinetin 1 ppm), K3 (Kinetin 1,5 ppm) dan K4 (Kinetin 2 ppm). Pada perlakuan K4 (Kinetin 2 ppm) menunjukkan hasil berbeda nyata terhadap semua perlakuan K0 (Kinetin 0 ppm), K1 (Kinetin 0,5 ppm), K2 (Kinetin 1 ppm), K3 (Kinetin 1,5 ppm), K5 (Kinetin 2,5 ppm) dan K6 (Kinetin 3 ppm). Gambar 3 menunjukkan bahwa perlakuan K4 (Kinetin 2 ppm) pada media WPM (*Woody Plant Media*) memberikan pengaruh nyata terhadap pertumbuhan tunas. Hal ini ditandai dengan munculnya daun pada tunas yang terbentuk.



Gambar 3. Eksplan terbentuk tunas dari kiri ke kanan pada umur 9 MSI. K0 = 0 ppm Kinetin (Kn) (kontrol); K1 = 0,5 Kinetin (Kn); K2 = 1 ppm Kinetin (Kn); K3 = 1,5 ppm Kinetin (Kn); K4 = 2 ppm Kinetin (Kn); K5 = 2,5 ppm Kinetin (Kn); K6 = 3 ppm Kinetin (Kn).

4.1.1.2. Jumlah Eksplan Berkalus

Kalus merupakan sekumpulan sel yang masih aktif tumbuh dan membelah namun belum terdiferensiasi untuk membentuk akar ataupun tunas. Berdasarkan hasil analisis ragam, perlakuan dengan penambahan beberapa konsentrasi kinetin memberikan pengaruh nyata terhadap pembentukan kalus pada eksplan tunas aksilar tanaman kakao (lampiran 5). Data rata-rata jumlah eksplan yang berkalus disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Rata-rata Jumlah Eksplan Berkalus

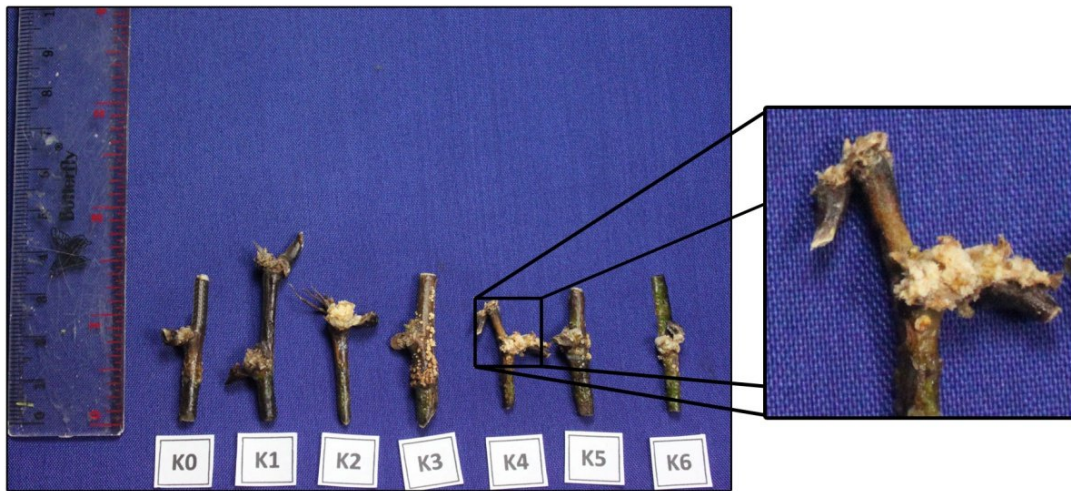
Perlakuan	Umur Eksplan Minggu Setelah Inokulasi (MSI)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
K0 (Kn 0 ppm)	-	-	0,042	0,083	0,25 a	0,292 a	0,333 a	0,417 a	0,458 ab
K1 (Kn 0,5 ppm)	-	-	0,083	0,125	0,292 a	0,333 a	0,375 a	0,458 a	0,5 bc
K2 (Kn 1 ppm)	-	-	0,042	0,167	0,417 bc	0,458 bc	0,5 bc	0,625 b	0,625 c
K3 (Kn 1,5 ppm)	-	-	0,125	0,25	0,458 c	0,5 c	0,542 c	0,625 b	0,625 c
K4 (Kn 2 ppm)	-	-	0,167	0,125	0,333 ab	0,375 ab	0,417 ab	0,458 a	0,458 ab
K5 (Kn 2,5 ppm)	-	-	0,083	0,167	0,25 a	0,292 a	0,333 a	0,375 a	0,375 ab
K6 (Kn 3 ppm)	-	-	0,042	0,25	0,25 a	0,292 a	0,333 a	0,333 a	0,333 a
BNT			tn	tn	0,111	0,133	0,148	0,159	0,147

Keterangan: Bilangan yang didampingi huruf yang sama pada kolom yang sama, tidak berbeda nyata pada uji BNT 0,5 (p=0,05); Kn = Kinetin; tn = tidak nyata.

Tabel 3. Menunjukkan bahwa kalus mulai terbentuk pada minggu ke-3 setelah inokulasi (Lampiran 5). Pada minggu 5 – 7 setelah inokulasi (MSI) perlakuan K0 (Kinetin 0 ppm) menunjukkan hasil tidak berbeda nyata terhadap perlakuan K1 (Kinetin 0,5 ppm), K4 (Kinetin 2 ppm), K5 (Kinetin 2,5 ppm) dan K6 (Kinetin 3 ppm) namun berbeda nyata terhadap perlakuan K2 (Kinetin 1 ppm) dan K3 (Kinetin 1,5 ppm), perlakuan K2 (Kinetin 1 ppm) dan K4 (Kinetin 2 ppm) menunjukkan hasil tidak berbeda nyata antar perlakuan namun berbeda nyata terhadap perlakuan K0 (Kinetin 0 ppm), K1 (Kinetin 0,5 ppm), K3 (Kinetin 1,5 ppm), K5 (Kinetin 2,5 ppm) dan K6 (Kinetin 3 ppm). Pada perlakuan K3 (Kinetin 1,5 ppm) tidak berbeda nyata terhadap K2 (Kinetin 1 ppm) dan berbeda nyata terhadap perlakuan K0 (Kinetin 0 ppm), K1 (Kinetin 0,5 ppm), K4 (Kinetin 2 ppm), K5 (Kinetin 2,5 ppm) dan K6 (Kinetin 3 ppm).

Pada minggu 8 setelah inokulasi (MSI) perlakuan K0 (Kinetin 0 ppm) menunjukkan hasil tidak berbeda nyata terhadap perlakuan K1 (Kinetin 0,5 ppm), K4 (Kinetin 2 ppm), K5 (Kinetin 2,5 ppm) dan K6 (Kinetin 3 ppm) namun berbeda nyata terhadap perlakuan K2 (Kinetin 1 ppm) dan K3 (Kinetin 1,5 ppm). Pada perlakuan K2 (Kinetin 1 ppm) tidak berbeda nyata terhadap K3 (Kinetin 1,5 ppm) dan berbeda nyata terhadap perlakuan K0 (Kinetin 0 ppm), K1 (Kinetin 0,5 ppm), K4 (Kinetin 2 ppm), K5 (Kinetin 2,5 ppm) dan K6 (Kinetin 3 ppm).

Pada minggu 9 setelah inokulasi (MSI) perlakuan K6 (Kinetin 3 ppm) menunjukkan hasil tidak berbeda nyata terhadap perlakuan K0 (Kinetin 0 ppm) K4 (Kinetin 2 ppm) dan K5 (Kinetin 2,5 ppm) namun berbeda nyata terhadap perlakuan K1 (Kinetin 0,5 ppm), K2 (Kinetin 1 ppm) dan K3 (Kinetin 1,5 ppm). Pada perlakuan K3 (Kinetin 1,5 ppm) tidak berbeda nyata terhadap K2 (Kinetin 1 ppm) dan berbeda nyata terhadap perlakuan K0 (Kinetin 0 ppm), K1 (Kinetin 0,5 ppm), K4 (Kinetin 2 ppm), K5 (Kinetin 2,5 ppm) dan K6 (Kinetin 3 ppm). Gambar 4 menunjukkan bahwa perlakuan K4 (Kinetin 2 ppm) pada media WPM (*Woody Plant Media*) memberikan pengaruh nyata terhadap pertumbuhan tunas. Hal ini ditandai dengan munculnya kalus pada tunas yang terbentuk



Gambar 3. Eksplan terbentuk tunas dari kiri ke kanan pada umur 9 MSI. K0 = 0 ppm Kinetin (Kn) (kontrol); K1 = 0,5 Kinetin (Kn); K2 = 1 ppm Kinetin (Kn); K3 = 1,5 ppm Kinetin (Kn); K4 = 2 ppm Kinetin (Kn); K5 = 2,5 ppm Kinetin (Kn); K6 = 3 ppm Kinetin (Kn).

4.1.1.3. Jumlah Eksplan Stagnan

Analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan pemberian beberapa konsentrasi kinetin berpengaruh nyata terhadap parameter jumlah eksplan yang mengalami stagnasi pada akhir minggu pengamatan. Data rata-rata jumlah eksplan stagnan pada 9 minggu pengamatan disajikan pada tabel 4.

Tabel 4. Rata-rata Jumlah Eksplan Yang Mengalami Stagnasi

Perlakuan	Jumlah Eksplan Stagnan
K0 (Kn 0 ppm)	0,333 c
K1 (Kn 0,5 ppm)	0,25 abc
K2 (Kn 1 ppm)	0,25 abc
K3 (Kn 1,5 ppm)	0,208 ab
K4 (Kn 2 ppm)	0,125 a
K5 (Kn 2,5 ppm)	0,25 abc
K6 (Kn 3 ppm)	0,292 bc
BNT 0,5	0,105

Keterangan: Bilangan yang didampingi huruf yang sama pada kolom yang sama, tidak berbeda nyata pada uji BNT 0,5 ($p=0,05$); Kn = Kinetin.

Berdasarkan data pada Tabel 4 menunjukkan bahwa perlakuan pemberian beberapa konsentrasi kinetin memberikan pengaruh nyata terhadap parameter jumlah

eksplan yang mengalami stagnasi pada minggu ke 9 setelah inokulasi. Perlakuan K4 (Kn 2 ppm) menunjukkan hasil tidak berbeda nyata pada parameter jumlah eksplan stagnan terhadap perlakuan K1 (Kn 0,5 ppm), K2 (Kn 1 ppm), K3 (Kn 1,5 ppm) dan K5 (Kn 2,5 ppm) namun berbeda nyata terhadap perlakuan K0 (Kn 0 ppm) dan K6 (Kn 3 ppm). Selanjutnya perlakuan K0 (Kn 0 ppm) tidak berbeda nyata terhadap perlakuan K1 (Kn 0,5 ppm), K2 (Kn 1 ppm), K5 (Kn 2,5 ppm) dan K6 (Kn 3 ppm). Namun berbeda nyata terhadap perlakuan K3 (Kn 1,5 ppm) dan K4 (Kn 2 ppm).

4.1.2. Bobot Basah dan Kering Eksplan

Berdasarkan hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan pemberian beberapa konsentrasi kinetin pada media WPM (*Woody Plant Media*) memberikan pengaruh yang nyata terhadap perhitungan bobot basah dan bobot kering pada eksplan tunas tanaman kakao (Lampiran 7 dan 8). Bobot basah perlakuan K4 (Kinetin 2 ppm) menunjukkan perbedaan yang nyata terhadap semua perlakuan. Data rata-rata bobot basah eksplan disajikan pada Tabel 5.

Tabel 5. Rata-rata Bobot Basah dan Bobot Kering Eksplan

Perlakuan	Komponen hasil	
	Bobot Basah (gram)	Bobot Kering (gram)
K0 (Kn 0 ppm)	0,272 a	0,028 a
K1 (Kn 0,5 ppm)	0,324 ab	0,064 ab
K2 (Kn 1 ppm)	0,336 abc	0,075 ab
K3 (Kn 1,5 ppm)	0,444 bc	0,183 c
K4 (Kn 2 ppm)	0,609 d	0,348 d
K5 (Kn 2,5 ppm)	0,464 c	0,203 c
K6 (Kn3 ppm)	0,37 abc	0,109 b
BNT 0,5	0,115	0,053

Keterangan: Bilangan yang didampingi huruf yang sama pada kolom yang sama, tidak berbeda nyata pada uji BNT 0,5 ($p=0,05$); Kn = Kinetin.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa rata-rata bobot basah eksplan berpengaruh nyata pada perlakuan K4 (Kinetin 2 ppm) berbeda nyata terhadap semua perlakuan K1 (Kinetin 0,5 ppm), K2 (Kinetin 1 ppm), K3 (Kinetin 1,5 ppm), K4

(Kinetin 2 ppm), K5 (Kinetin 2,5 ppm) dan K6 (Kinetin 3 ppm). Dan hasil terendah berat basah eksplan ditunjukkan pada perlakuan K0 (Kinetin 0 ppm).

Analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan pemberian beberapa konsentrasi kinetin memberikan pengaruh yang nyata terhadap parameter bobot kering eksplan. Perlakuan K4 (Kinetin 2 ppm) pada parameter bobot kering berpengaruh nyata terhadap semua perlakuan K1 (Kinetin 0,5 ppm), K2 (Kinetin 1 ppm), K3 (Kinetin 1,5 ppm), K4 (Kinetin 2 ppm), K5 (Kinetin 2,5 ppm) dan K6 (Kinetin 3 ppm).

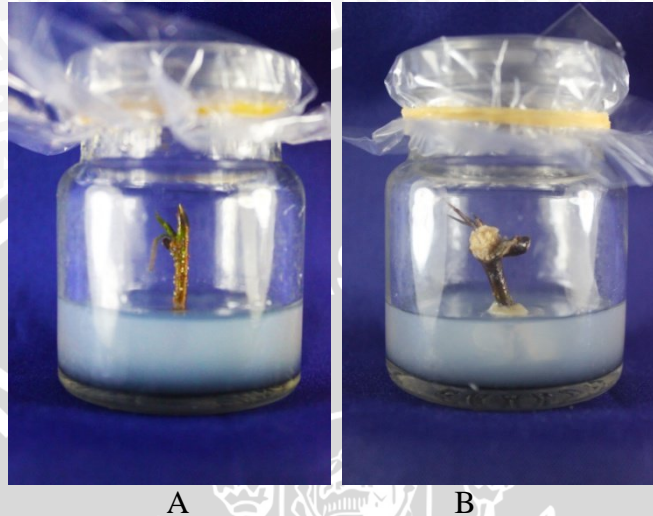
4.2. Pembahasan

4.2.1. Jumlah Eksplan Hidup

Kultur pucuk merupakan teknik mikropropagasi yang dilakukan dengan cara mengkulturkan eksplan yang mengandung meristem pucuk (apikal, aksilar, dan lateral). Tujuannya untuk merangsang dan memperbanyak tunas-tunas aksilar. Bagian tanaman yang digunakan sebagai eksplan batang adalah tunas aksilar yang sedang tumbuh dengan panjang 4-5 cm dengan umur tanaman 10 tahun. Bagian tersebut merupakan sel-sel sekuler yaitu bersifat meristematis dan mudah isolasi karena kandungan air yang cukup. Pemakaian eksplan yang berasal dari tunas meristem diharapkan dapat memperkecil tingkat kontaminasi. Sel-sel tersebut diharapkan dapat aktif membelah lebih cepat dibandingkan perkembangbiakan kontaminan. Proses penting dalam tahapan inisiasi adalah (1) tanggapan sel/jaringan atau organ terhadap signal hormonal atau lingkungan, (2) dedifferensiasi yaitu induksi jaringan dewasa menjadi meristematis kembali yang ditandai dengan kemampuan sel-selnya untuk membelah (bermitosis), dan (3) sifat determinasi yaitu sel-sel/jaringannya terus berkembang ke arah tertentu menjadi organ atau embrio (Yusnita, 2003).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pengaruh pemberian beberapa hormon kinetin memberikan hasil yang berbeda nyata terhadap pembentukan tunas, kalus serta bobot basah dan bobot kering eksplan. Hal ini disebabkan oleh adanya kandungan auksin endogen eksplan yang jumlahnya lebih kecil daripada sitokinin yang diberikan sehingga sebagian besar eksplan dapat membentuk tunas. Perbedaan

respon setiap eksplan dapat disebabkan karena kandungan zat pengatur tumbuh endogen yang berbeda akibat perbedaan perlakuan zat pengatur tumbuh yang ditambahkan ke dalam media.



Gambar 6. Eksplan bertunas pada perlakuan K4 = WPM + 2 ppm kinetin (9 MSI) (A). Eksplan berkalus pada perlakuan K4 = WPM + 2 ppm kinetin (9 MSI) (B).

Menurut Skoog dan Miller (1997), pembentukan tunas dan akar dikendalikan oleh keseimbangan antara auksin dan sitokinin. Jika auksin tinggi dan sitokinin rendah maka akan terjadi pembentukan akar. Apabila auksin rendah dan sitokinin tinggi akan terbentuk tunas. Semakin meningkatnya konsentrasi kinetin pada medium, jumlah eksplan bertunas semakin kecil. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi kinetin 2 ppm telah memenuhi kebutuhan eksplan tunas kakao untuk membentuk tunas dan kalus.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kinetin memiliki peran dalam terbentuknya tunas dan kalus. Hal ini dibuktikan dengan hasil perlakuan kontrol yang menghasilkan jumlah eksplan bertunas dan berkalus terkecil jika dibandingkan dengan jumlah eksplan bertunas pada perlakuan penambahan kinetin. Menurut Wattimena (1992) peran fisiologis sitokinin adalah mendorong pembelahan sel, morfogenesis, pertunasan dan pembentukan kloroplas. Hal ini juga dikemukakan oleh Smith (1992) dalam Marlin (2008) dan Sardoei (2014) pemberian sitokinin seperti BA, BAP, kinetin atau zeatin kedalam media akan berpengaruh terhadap

pertumbuhan eksplan dalam menghilangkan dominasi apikal dan dapat menginduksi tunas secara *in vitro*.

Hasil penelitian Handayani (1999) mengenai pengaruh sitokinin dan triakontanol terhadap pertumbuhan sambungan manggis, menunjukkan bahwa sitokinin 2 ppm cenderung nyata meningkatkan jumlah pecah tunas, penambahan tinggi dan jumlah daun, namun cenderung menghambat penambahan luas daun. Eksplan dengan jumlah tunas terbanyak diperoleh pada konsentrasi kinetin 2 ppm, hal ini tidak berbeda dengan hasil penelitian Mariska *et al.* (1989) dalam Sari (2006) yang mengemukakan bahwa penggunaan MS+kinetin 1,5 ppm dan 2 ppm dapat mendorong terbentuknya tunas terbanyak pada tanaman *Diocorea composita*. Hal yang sama juga dikemukakan pada hasil penelitian Arif (2014), konsentrasi BAP 2 ppm menghasilkan rentang pertumbuhan tercepat pada 4 minggu setelah inokulasi dan pada konsentrasi 2,5-4 ppm mengalami penurunan munculnya tunas dikarenakan pada konsentrasi tersebut eksplan sudah tidak responsif terhadap hormon sitokinin. Hal ini menunjukkan bahwa tanaman kakao membutuhkan konsentrasi kinetin lebih rendah untuk menginduksi tunas. Widyastuti (2001) menyatakan bahwa pertumbuhan tunas akan terhambat apabila eksplan sudah tidak responsif terhadap penambahan konsentrasi sitokinin tertentu.

Bobot basah kultur cenderung meningkat seiring dengan penambahan konsentrasi kinetin hingga 3 ppm. Hal ini mungkin terjadi karena konsentrasi kinetin yang tidak seimbang dengan auksin endogen eksplan. Menurut Wattimena (1992) dalam Purnamaningsih (2006), bahwa pertumbuhan eksplan tergantung pada keseimbangan auksin dan sitokinin di dalam media dan interaksi antara zat pengatur tumbuh eksogen yang diserap dari media tumbuh.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa eksplan yang ditanam pada media WPM + 2 ppm kinetin memberikan respon yang tertinggi untuk hampir semua parameter pengamatan, seperti jumlah tunas, jumlah kalus, dan berat basah eksplan. Hasil ini terlihat berbeda nyata dengan respon eksplan yang ditunjukkan pada perlakuan media WPM tanpa penambahan kinetin. Hasil penelitian ini menunjukkan pula bahwa pada media WPM tanpa penambahan kinetin memberikan respon

pertumbuhan eksplan yang terendah pada semua parameter pengamatan. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian kinetin pada media WPM berguna dalam mendukung pertumbuhan tanaman. Kondisi eksplan yang tegak dan aerasi yang cukup maka memungkinkan eksplan dapat melaksanakan proses pertumbuhannya secara optimal. Jika pengambilan air sel cukup maka volume sel akan bertambah besar sehingga meningkatkan berat basah tanaman (Salisbury dan Ross, 1995).

Menurut Gunawan (1988), interaksi dan perimbangan antara ZPT yang diberikan ke dalam media dan yang diproduksi oleh sel tanaman secara endogen menentukan arah perkembangan suatu kultur. George dan Sherrington (1984), juga mengemukakan bahwa pertumbuhan dan perkembangan eksplan dipengaruhi oleh interaksi dan keseimbangan antara ZPT eksogen dan ZPT endogen.

Kinetin merupakan salah satu zat pengatur tumbuh yang termasuk dalam golongan sitokinin dan merupakan turunan dari basa adenin. Menurut Wattimena (1988), pengaruh sitokinin pada berbagai proses fisiologis diduga pada tingkat pembuatan protein mengingat kesamaan struktur sitokinin dengan adenine yang merupakan komponen dari DNA dan RNA. Selanjutnya, Lakitan (1995) menambahkan bahwa sitokinin merangsang pembelahan sel melalui peningkatan laju sintesis protein, beberapa diantara protein ini dapat berperan sebagai enzim yang dibutuhkan untuk terjadinya pembelahan sel.

5. PENUTUP

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa :

1. Daya tumbuh tunas terbanyak dihasilkan pada perlakuan dengan penambahan kinetin 2 ppm.
2. Sebagian eksplan menghasilkan kalus. Secara visual ukuran, karakter kalus, warna dan tekstur kalus pada setiap eksplan tidak terdapat perbedaan. perlakuan dengan penambahan kinetin 1,5 ppm menghasilkan jumlah kalus terbentuk lebih tinggi.
3. Perlakuan dengan penambahan kinetin 2 ppm menghasilkan jumlah bobot basah dan bobot kering eksplan tertinggi.

5.2. Saran

Diperlukan adanya penelitian lebih lanjut mengenai penggunaan bahan tanam tunas aksilar dengan panjang 1 cm dan penggunaan hormon zeatin terhadap induksi tunas aksilar kakao (*Theobroma cacao* L.) secara in vitro.

DAFTAR PUSTAKA

- Abidin, Z., 1994. Dasar-dasar Pengetahuan Tentang Zat Pengatur Tumbuh. Penerbit Angkasa. Bandung.
- George, E. F., 1993, Plant Propagation By Tissue Culture, Part 1, 2nd Edition, Exegetic Limited, England.
- George, E. F. & P. D. Sherrington., 1984. Plant Propagation by Tissue Culture. Handbook and Directory of Commercial Laboratories. Exegenetic Limited, England.
- Gunawan, L. W., 1988. Teknik Kultur Jaringan, Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman. Pusat Antar Universitas (PAU), Bioteknologi – IPB, Bogor.
- Gunawan, L. W., 1992. Teknik Kultur Jaringan Tumbuhan. Laboratorium Kultur Jaringan. Pusat Antar Universitas (PAU), Bioteknologi. IPB. Bogor.
- Handayani, I. 1999. Pengaruh Konsentrasi Sitokinin dan Triakontanol Pada Pertumbuhan Manggis (*Garcinia mangostana* L.) Hasil Penyambungan. Skripsi. Jurusan Budidaya Pertanian. Fakultas Pertanian. Institut Pertanian Bogor.
- Indriati, C. A., 2003. pengaruh Pemberian IBA dan BAP terhadap Tingkat Multiplikasi Melon Putih (*Cucumis melo* L.) secara in vitro. Skripsi. Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret Surakarta.
- ICCO., 2008. International Cocoa Organization (ICCO). Quarterly Bulletin of Cocoa Statistics. Vol: XLI – No. 1 – Cocoa year 2013-2014.
- Katuuk, J. R. P., 1989. Teknik Kultur Jaringan dalam Mikropropagasi Tanaman. Dirjen Pendidikan Tinggi Proyek Pengembangan Lembaga Pendidikan Tenaga Pendidikan. Jakarta.
- Kosmiatin, M., A. Husni, I. Mariska., 2005. Perkecambahan dan perbanyakan Gaharu secara In Vitro. Jurnal AgroBiogen 1 6(1):26-32.
- Kusumo., 1984. Zat Pengatur Tumbuh. CV Yasaguna. Jakarta.
- Lakitan, B., 1995. Fisiologi Pertumbuhan dan Perkembangan Tanaman. PT Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Marlin. 2005. Regenerasi In Vitro Planlet Jahe Bebas Penyakit Layu Bakteri Pada Beberapa Taraf Konsentrasi BAP dan NAA. Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia. 7(1):9-16.
- Mariska, I. E., gati & Sukmadjaya, D. 1987. Kultur Masa Tunas dan Tangkau Daun Pada Tanaman Geranium Secara In Vitro. Jurnal Bioteknologi Pertanian 111(2):84-88.

- Poedjiwidodo, M. S., 1996. Sambung Samping Kakao. Trubus Agriwidya, Jawa Tengah.
- Pierik, R.I.M., 1987. In Vitro Culture of Higher Plants. Martinus Nijhoff Publishers Dordrecht. Boston
- Purnamaningsih, R., 2002. Regenerasi Tanaman Melalui Embriogenesis Somatik dan Beberapa Gen yang Mengendalikannya. Balai penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian. Jurnal AgroBiogen 5(2):51-58.
- Purnamaningsih, R., 2006. Induksi Kalus dan Optimasi Regenerasi Empat Varietas Padi Melalui Kultur In Vitro. Jurnal AgroBiogen 2(2):74-80.
- Rahayu, A., S. Susanto, B.S. Purwoko, I.S. Dewi. 2012. Karakter Morfologi dan Kimia Kultivar Pamelu Berbiji dan Tanpa Biji. Jurnal Agron. Indonesia. 40(1):48-55
- Salisbury, F.B. & C. W. Ross., 1995. Fisiologi tumbuhan. Jilid 3. Terj. Plant physiology, oleh, R. Lukman & Sumaryono. Penerbit ITB, Bandung.
- Setiawan, A. I. 2000. Usaha Pembudidayaan Jeruk Besar. Cetakan 3. Penebar swadaya: Jakarta.
- Sardoei, A. S., 2014. Response Of Application Of GA3 And BA To Dizigotheeca Plants. Int. J. Of Advanced Biol. And Biomed. Res. 2(3):615-621.
- Sari, Y. P., 2006. Pengaruh NAA Dan BAP Terhadap Inisiasi Tunas Pada Eksplan Nodus Tanaman Zodia (*Evodia suaveolens* Scheff) Secara In Vitro. Bioprospek. 6(1):1-11.
- Shanti, V. M., 2005. Pengaruh Konsentrasi Paclobutrazol dan 6-Benzil Amino Purine (BAP) terhadap Pembentukan Umbi Mikro Kentang (*Salanum tuberosum* L) pada Media MS secara In Vitro. Jurnal Agrobiogen 6(1):23-31.
- Skoog, F. and Miller, C.O. 1975. Chemical Regulation of Growth and Organ Formation in Plant Tissue Cultured In Vitro. Symp. Soc. J. Biotech 11 (2):118-131
- Smith, R. L., 1992. Elements of Ecology, Third edition. Harper Collins Publishers Inc, New York.
- Spillane, J. J., 1995. Komoditi Kakao Peranannya Dalam Perekonomian Indonesia. Kanisius, Yogyakarta.
- Sriyanti, D. P. & A. Wijayani., 1994. Teknik Kultur Jaringan Yayasan Kanisius Yogyakarta.
- Suryowinoto, M. 1991. Petunjuk Laboratorium, Pemuaian Tanaman Secara In vitro. Yogyakarta: PAU Universitas Gajah Mada.
- Susanto, 2004. Morfologi Tanaman Kakao. Pusat Penelitian Kakao dan Kopi Indonesia. Jember.

- Taiz, L. and E. Zieger., 2002. Plant Physiology Third Edition. Sinauer Associates. Sunderland.
- Tao Q, Young L.S, Woodman C.B.J, Murray P.G. Epstein-Barr Virus (EBV) and its Associated Human Cancers – Genetics, Epigenetics, Pathobiology and Novel Therapeutics, *Frontiers in Bioscience* 11:2006.
- Wattimena, G.A., 1988. Zat Pengatur Tumbuh Tanaman. Pusat Antar Universitas. Bioteknologi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Wattimena, G. A., 1992. Bioteknologi Tanaman I. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Wattimena, G. A., 1992. Zat Pengatur Tumbuh Tanaman. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Wattimena, G. A., N. A. Armini, dan L. W. Gunawan., 1992. Perbanyak Tanaman, PAU Bioteknologi. Bioteknologi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Widyastuti, E. T., 2001. Pengaruh BAP dan NAA terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Tunas serta Jenis Media terhadap Pengakaran Tunas Kaspia (*Limonium caspium*) Secara In Vitro. Jurusan Budidaya Pertanian. Fakultas Pertanian. Institute Pertanian Bogor. Bogor.
- Yusnita, 2003. Kultur Jaringan. Agro Media Pustaka. Jakarta
- Yusnita, 2004. Kultur Jaringan Cara Memperbanyak Tanaman Secara Efisien. AgroMedia Pustaka. Jakarta

LAMPIRAN

1. Denah Percobaan

