

**PENGARUH PEMBERIAN BEBERAPA KONSENTRASI KINETIN TERHADAP
INDUKSI TUNAS AKSILAR TANAMAN KAKAO (*Theobroma cacao* L.)
SECARA IN VITRO**

**THE EFFECT OF VARIATION CONCENTRATIONS OF KINETIN TO INDUCED
AXILLARY BUD CACAO (*Theobroma cacao* L.) IN VITRO**

Syamsi Rizal^{*)}, Wisnu Eko Murdiono dan Ellis Nihayati

Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya
Jl. Veteran, Malang 65145 Jawa Timur, Indonesia

^{*)}E-mail : syamsirizal.sr@gmail.com

ABSTRAK

Usaha paling tepat dalam penyediaan bibit kakao yang berkualitas dan dapat diproduksi dalam jangka waktu dekat adalah dengan perbanyakan bahan tanam bibit kakao menggunakan bagian tanaman yang paling muda dengan teknologi kultur jaringan dengan penambahan hormon kinetin. Tujuan penelitian ini ialah Mempelajari pengaruh pemberian beberapa konsentrasi zat pengatur tumbuh kinetin terhadap pertumbuhan tunas aksilar kakao (*Theobroma cacao* L.). Rancangan percobaan ialah Rancangan Acak Lengkap yang terdiri dari 7 macam perlakuan dan diulang 6 kali sehingga didapat 42 satuan percobaan. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang pada bulan Mei-September 2015. Perlakuan 2 ppm memberikan hasil terbaik pada parameter jumlah eksplan bertunas dengan rata rata sebesar 0,833 serta memberikan hasil terbaik juga pada parameter bobot basah dan bobot kering dengan rata rata sebesar 0,609 gram dan 0,3348 gram. Namun pada parameter pengamatan jumlah eksplan berkalus, perlakuan penambahan kinetin 1.5 ppm memberikan hasil terbaik yaitu sebesar 0,625. Daya tumbuh tunas terbanyak dihasilkan pada perlakuan dengan penambahan kinetin 2 ppm.

Kata kunci : Kakao, Tunas Aksilar, Kinetin, In vitro

ABSTRACT

The most appropriate effort in the supply of quality cocoa seedlings and could be produced in the short term is the multiplication of planting materials cocoa seedlings using the most part young plants by tissue culture technology with the addition of hormone kinetin. The purpose of this study is studying the effect of several concentrations of growth regulators kinetin on axillary buds growing cocoa (*Theobroma cacao* L.). The experimental design is completely randomized design consisting of 7 kinds of treatment and repeated 6 times in order to get 42 units of the experiment. Research conducted at the Laboratory of Plant Physiology of the Faculty of Agriculture, University of Brawijaya in May to September 2015. Treatment 2 ppm gave the best results in the parameter number of explants sprout with an average of 0,833 and provide the best results also on parameters of fresh weight and dry weight with an average of 0.609 grams and 0.3348 grams. However the number of explants callus observation parameters, the addition of kinetin 1.5 ppm treatment gives the best results in the amount of 0,625. Most shoots growing power generated to treatment with the addition of kinetin 2 ppm.

Keywords : Cacao, Axxilary Bud, Kinetin, In vitro.

PENDAHULUAN

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 kakao di Indonesia mengalami perkembangan pesat dalam kurun waktu 20 tahun terakhir dan pada tahun 2002 areal perkebunan kakao Indonesia tercatat seluas 914.051 ha. Perkebunan kakao tersebut sebagian besar (87,4%) dikelola oleh rakyat dan selebihnya dikelola perkebunan besar negara serta swasta. Sejalan dengan keunggulan tersebut, peluang 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 memperbanyak 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 (Kosmiatin *et al*, 2005). 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.

BAHAN DAN METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan pada bulan Mei 2015 sampai dengan bulan September 2015 di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang. Alat yang digunakan ialah 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. Bahan yang digunakan sebagai bahan eksplan dalam penelitian ini ialah tunas aksilar kakao. Bahan yang digunakan untuk sterilisasi bahan tanam ialah 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*.

Rancangan percobaan ialah Rancangan Acak Lengkap terdiri dari 7 macam perlakuan penambahan beberapa konsentrasi kinetin. Perlakuan diulang 6 kali sehingga didapatkan 42 satuan percobaan. Perlakuan tersebut ialah 0 ppm kinetin (K0), 0,5 ppm kinetin (K1), 1 ppm kinetin (K2), 1,5 ppm kinetin (K3), 2 ppm kinetin (K4), 2,5 ppm kinetin (K5) dan pemberian 3 ppm kinetin (K6).

Pengamatan yang dilakukan meliputi jumlah eksplan bertunas, jumlah eksplan berkalus, bobot basah eksplan dan bobot kering eksplan. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan analisis uji ragam (uji F dengan taraf kesalahan 5%) untuk mengetahui adanya pengaruh dari perlakuan yang diberikan. Apabila terdapat hasil yang berbeda nyata, dilanjutkan dengan uji anjutan Beda Nyata Terkecil (BNT) dengan taraf kesalahan 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Jumlah Eksplan Bertunas

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 meristematik 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.

Tunas mulai terbentuk pada minggu ke 5 setelah inokulasi. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan pemberian beberapa konsentrasi kinetin pada media WPM memberikan pengaruh tidak nyata pada minggu ke 5 setelah inokulasi namun memberikan pengaruh nyata terhadap pembentukan tunas aksilar tanaman kakao pada minggu ke 6 hingga minggu ke 9 setelah inokulasi (tabel 1).

Berdasarkan hasil yang ditunjukkan pada tabel 2 dapat diketahui bahwa perlakuan K4 (kinetin 2 ppm) memiliki jumlah eksplan bertunas tertinggi dibandingkan perlakuan lainnya. 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.

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 Purnamaningsih (2002) peran fisiologis sitokinin adalah mendorong pembelahan sel, morfogenesis, pertunasan dan pembentukan kloroplas. Hal ini juga dikemukakan oleh Smith (1992) dalam Marlin *et al.* (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*.

Jumlah Eksplan Berkalus

Kalus mulai terbentuk pada minggu ke 3 setelah inokulasi. Perlakuan pemberian beberapa konsentrasi kinetin pada media WPM memberikan pengaruh tidak nyata pada minggu ke 3 hingga ke 4 setelah inokulasi namun memberikan pengaruh nyata terhadap pembentukan kalus pada eksplan tunas aksilar tanaman kakao pada minggu ke 5 hingga minggu ke 9 setelah inokulasi (tabel 2).

Penambahan zat pengatur tumbuh pada media kultur jaringan mempengaruhi laju pertumbuhan sel dari eksplan yang

dikultur. Munculnya kalus pada eksplan diawali dari bagian bekas irisan pada ketiak tunas aksilar. Sebelum membentuk kalus, eksplan menunjukkan perubahan fisik. Pada awalnya eksplan berbentuk lurus kemudian membengkok dan membesar serta berwarna lebih gelap dibandingkan dengan sebelum eksplan dikulturkan. Zat pengatur tumbuh pada media tanam akan berdifusi kedalam jaringan tanaman melalui pangkal eksplan yang terluka akibat irisan. Kinetin yang telah diserap kemudian akan menstimulasi terjadinya pembelahan sel, terutama sel-sel pada sekitar perlukaan eksplan. munculnya kalus ditandai dengan munculnya gumpalan sel berwarna putih. Selanjutnya gumpalan tersebut akan membentuk massa sel yang disebut kalus.

Hasil penelitian Shanti (2005) mengenai pengaruh sitokinin dan triakontanol terhadap pertumbuhan

sambungan manggis, menunjukkan bahwa sitokinin 2 ppm cenderung nyata meningkatkan jumlah pecah tunas, pertambahan tinggi dan jumlah daun, namun cenderung menghambat pertambahan 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*.

Hasil analisis ragam menunjukkan perlakuan pemberian kinetin 1 ppm (K2) dan perlakuan pemberian kinetin 1,5 ppm (K3) menunjukkan hasil eksplan terbentuk paling tinggi dibandingkan perlakuan pemberian kinetin lainnya (Tabel 2).

Tabel 1 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	0,500 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)	-	-	-	-	0,250	0,375 ab	0,500 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 5%	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 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	0,500 bc
K2 (Kn 1 ppm)	-	-	0,042	0,167	0,417 bc	0,458 bc	0,500 bc	0,625 b	0,625 c
K3 (Kn 1,5 ppm)	-	-	0,125	0,250	0,458 c	0,500 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	0,250 a	0,292 a	0,333 a	0,375 a	0,375 ab
K6 (Kn 3 ppm)	-	-	0,042	0,250	0,250 a	0,292 a	0,333 a	0,333 a	0,333 a
BNT 5%	tn		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 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 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; tn = tidak nyata.

Bobot Basah Eksplan dan Bobot Kering Eksplan

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 (Tabel 3). Menurut Gunawan (1992), 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.

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 (Tahardi, 1995).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian tentang pengaruh pemberian berbagai macam konsentrasi kinetin terhadap induksi tunas aksilar tanaman kakao (*Theobroma cacao* L.), maka dapat disimpulkan bahwa Daya tumbuh tunas terbanyak dihasilkan pada perlakuan dengan penambahan kinetin 2 ppm. 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. Perlakuan dengan penambahan kinetin 2 ppm menghasilkan jumlah bobot basah dan bobot kering eksplan tertinggi.

DAFTAR PUSTAKA

- George, E. F. & P. D. Sherrington., 1984. *Plant Propagation by Tissue Culture. Handbook and Directory of Commercial Laboratories.* Exegenetic Limited, England.
- Gunawan, L. W., 1992. Teknik Kultur Jaringan Tumbuhan. Laboratorium Kultur Jaringan. Pusat Antar Universitas (PAU), Bioteknologi. IPB. Bogor.

- ICCO., 2008.** International Cocoa Organization (ICCO). *Quarterly Bulletin of Cocoa Statistics*. 41(1):312-320.
- Kosmiatin, M., A. Husni, I. Mariska., 2005.** Perkecambahan dan perbanyakan Gaharu secara In Vitro. *Jurnal AgroBiogen* 1 6(1):26-32.
- 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.
- Marlin, Muhktasar, Hartal., 2008.** 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.
- 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.
- Sardoei, A. S., 2014.** Response Of Application Of GA3 And BA To Dizigotheeca Plants. International. *Journal Of Advanced Biological And Biomededical*. 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. *Jurnal Bioprospek*. 6(1):1-11.
- Shanti, V. M., 2005.** Pengaruh Konsentrasi Paclobutrazol dan 6-Benzil Amino Purine (BAP) terhadap Pembentukan Umbi Mikro Kentang (*Solanum 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. *Journal Biotechnology*. 11 (2):118-131.
- Smith, R. L., 1992.** Elements of Ecology, Third edition. Harper Collins Publishers Inc, New York.
- Tahardi, J. S. 1995.** Cocoa Regeneration Via Somatic Embryogenesis. *Journal Biotechnology*. 63(3):3-7.