

**INDUKSI KALUS DUA KLON KAKAO (*Theobroma cacao* L.)
UNGGUL SULAWESI PADA BERBAGAI KONSENTRASI
2,4 DICHLOROPHENOXY ACETIC ACID SECARA *IN VITRO***

Induction of callus on two Sulawesi Superior Cacao Clones (*Theobroma cacao* L.) at various 2,4- Dichlorophenoxy Acetic Acid concentrations *in vitro*

Arianto¹⁾, Zainuddin Basri²⁾, Mirni Ulfa Bustamil²⁾

¹⁾ Mahasiswa Program Studi Agribisnis Fakultas Pertanian Universitas Tadulako.

²⁾ Dosen Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian Universitas Tadulako

ABSTRACT

In Indonesia, Sulawesi is well known as the largest cacao producer and has two superior cocoa clones namely Sulawesi 1 and 2, however the level of productivity is still low when compared to the potential of superior cocoa production. Whereas the cause of low productivity of cocoa in Central Sulawesi is the use of Cacao (clone) plant that has low productivity. To overcome this problem, to find a superior clone through genetic manipulation is needed. This study used a separated design plot design (RPT). Treatment in the main plot is cacao clones consisting of two clones of; Sulawesi 1 and 2, the subplot is concentration of 2,4 - D, the 2,4-D is composed of five levels i.e. 0.5 ppm, 1 ppm, 1.5 ppm, 2.4 ppm, and 2.5 ppm. There are 10 combinations of treatments and each treatment was repeated three times, total experimental units are 30. The purpose of this study was to determine the ability of 2,4 - D concentration to induce callus, and to find the best concentration of it. This study showed that the various concentrations of 2,4 - D had no different ability in inducing callus development in both clones. At first, callus formation was found from the concentration of 1 ppm of 2,4 - D in both clones. The highest percentage of callus formation was obtained at concentration of 1 ppm 2,4 -D in both clones of Sulawesi, the callus formation reached 100 % in both clones, respectively. Concentration of 1 ppm of 2,4 - D is the best concentration to induce callus formation on both Sulawesi cacao clones.

Keywords : Callus induction, 2,4 - D, Sulawesi clone 1, Sulawesi clone 2, In vitro.

ABSTRAK

Di Indonesia, Sulawesi terkenal sebagai daerah penghasil kakao terbanyak dan telah memiliki klon kakao unggul yakni Sulawesi 1 dan Sulawesi 2, termasuk sebagai salah satu daerah penghasil kakao terbanyak, namun tingkat produktivitasnya masih sangat rendah bila dibanding dengan potensi produksi kakao unggul. Adapun faktor penyebab rendahnya produktivitas kakao di Sulawesi Tengah adalah penggunaan jenis (klon) tanaman yang memiliki potensi produksi rendah. Guna mengatasi permasalahan tersebut, salah satu upaya yang perlu dilakukan adalah melakukan perbanyakan dan pengembangan jenis (klon) kakao yang memiliki potensi genetik yang unggul. Metode Penelitian ini menggunakan Rancangan Petak Terpisah (RPT). Perlakuan pada petak utama adalah klon kakao yang terdiri atas dua klon yaitu Sulawesi 1 dan Sulawesi 2, perlakuan pada anak petak adalah konsentrasi 2,4-D yang terdiri dari lima taraf yaitu 0,5 ppm 2,4-D, 1 ppm 2,4-D, 1,5 ppm 2,4-D, 2 ppm 2,4-D, dan 2,5 ppm 2,4-D. Terdapat 10 kombinasi perlakuan dan setiap kombinasi perlakuan diulang sebanyak tiga kali sehingga terdapat 30 unit percobaan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kemampuan induksi kalus pada berbagai konsentrasi 2,4-D dari setiap klon kakao unggul Sulawesi yang dicobakan dan mengetahui konsentrasi 2,4-D dan klon kakao unggul Sulawesi yang lebih baik untuk induksi kalus. Kesimpulan dari penelitian ini adalah kemampuan induksi kalus tidak berbeda pada berbagai konsentrasi 2,4-D untuk setiap klon kakao unggul Sulawesi yang dicobakan. Saat muncul kalus paling cepat diperoleh pada konsentrasi 1 ppm 2,4-D baik pada klon unggul Sulawesi 1 maupun pada klon unggul Sulawesi 2. Persentase

pembentukan kalus tertinggi diperoleh pada konsentrasi 1 ppm 2,4-D baik pada klon Sulawesi 1 maupun klon Sulawesi 2 dengan persentase pembentukan kalus mencapai 100%. Konsentrasi 1 ppm 2,4-D merupakan konsentrasi yang lebih baik untuk menginduksi kalus pada klon kakao unggul Sulawesi.

Kata kunci : Induksi kalus, 2,4-D, klon Sulawesi 1, klon Sulawesi 2, *in vitro*.

PENDAHULUAN

Saat ini Indonesia merupakan salah satu negara pembudidaya tanaman kakao paling luas didunia dan termasuk negara penghasil kakao terbesar ketiga setelah Pantai Gading dan Ghana (Wahyudi dkk., 2009). Di Indonesia, Sulawesi terkenal sebagai daerah penghasil kakao terbanyak dan telah memiliki klon kakao unggul yakni Sulawesi 1 dan Sulawesi 2. Kedua klon ini menyebar secara luas di kalangan petani di Sulawesi Tengah, Sulawesi Selatan, Sulawesi Tenggara dan Sulawesi Barat. Sebagai salah satu daerah penghasil kakao terbanyak, produktivitas kakao yang diusahakan petani di Sulawesi Tengah adalah 0,83 ton/ha/tahun, masih sangat rendah bila dibanding dengan potensi produksi kakao unggul yang mencapai 2-2,5 ton/ha/tahun (Suhendi, dkk., 2004).

Adapun faktor penyebab rendahnya produktivitas kakao di Sulawesi Tengah adalah penggunaan jenis (klon) tanaman yang memiliki potensi produksi rendah (Basri, 2010). Guna mengatasi permasalahan tersebut, salah satu upaya yang perlu dilakukan adalah melakukan perbanyakan dan pengembangan jenis (klon) kakao yang memiliki potensi genetik yang unggul (Iswanto, 1998). Perbanyakan klon kakao Sulawesi secara konvensional saat ini belum dapat memenuhi permintaan bibit karena sangat dibatasi oleh jumlah tunas dan cabang yang siap distek, disambung, dan diokulasi serta dibutuhkan waktu yang lebih lama. Pengembangan teknologi pembibitan kakao unggul Sulawesi menggunakan teknik kultur jaringan dapat menyediakan bibit kakao dalam jumlah besar dalam waktu relatif singkat.

Induksi kalus merupakan tahapan awal pada embriogenesis secara tidak langsung. Kalus adalah kumpulan sel (massa sel) yang tidak terorganisir dan terbentuk karena pembelahan sel-sel yang tidak terkendali. Pembelahannya dapat dipacu oleh zat pengatur tumbuh (Gunawan, 1992). Zat pengatur tumbuh yang umum dan efektif digunakan untuk induksi kalus adalah 2,4-D (*2,4-Dichlorophenoxy acetic acid*). Hasil penelitian Avivi, dkk. (2010) dan Winarsih, dkk. (2003) menunjukkan penambahan 2,4-D pada media MS dapat menstimulasi pembentukan kalus dari eksplan staminodia bunga kakao klon Sca 6. Hingga saat ini, informasi mengenai penggunaan teknik kultur jaringan pada klon kakao unggul Sulawesi khususnya yang berhubungan dengan penggunaan 2,4-D untuk menginduksi kalus belum pernah dilaporkan sehingga dipandang perlu untuk melakukan penelitian mengenai induksi kalus klon kakao unggul Sulawesi pada berbagai konsentrasi 2,4-D secara *in vitro*.

BAHAN DAN METODOLOGI

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Tanaman, Fakultas Pertanian dan Laboratorium Kultur Jaringan, Fakultas Kehutanan Universitas Tadulako, Palu. Dilaksanakan dari bulan November 2012 sampai Januari 2013.

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini adalah batang pengaduk, gelas stainless, pemanas listrik (*hot plate*), *magnetic stirrer*, destilasi air, timbangan analitik, corong, gelas ukur, kelas kimia, Erlenmeyer, pipet, *autoclave*, oven listrik, *handspayer*, cawan Petri, lampu Bunsen, gunting, pinset, *scalpel*, *blade*, *rotary shaker*, pH meter, *Laminar air flow cabinet* dan parafilm.

Eksplan yang digunakan adalah staminodia bunga kakao dari klon Sulawesi 1 dan Sulawesi 2 yang masih kuncup, bahan kimia sesuai komposisi media MS (Murashige dan Skoog), glukosa, *phytagel*, zat pengatur tumbuh 2,4-D dan kinetin 0,25 ppm, alkohol 70%, aquades steril, chlorox, detergen, spritus, tissue dan kertas label.

Penelitian ini menggunakan Rancangan Petak Terpisah (RPT). Perlakuan pada petak utama adalah klon kakao yang terdiri atas dua klon yaitu K1 = Sulawesi 1 dan K2 = Sulawesi 2. Perlakuan pada anak petak adalah konsentrasi 2,4-D yang terdiri dari lima taraf yaitu A1 = 0,5 ppm 2,4-D, A2 = 1 ppm 2,4-D, A3 = 1,5 ppm 2,4-D, A4 = 2 ppm 2,4-D, dan A5 = 2,5 ppm 2,4-D. Dengan demikian terdapat 10 kombinasi perlakuan dan setiap kombinasi perlakuan diulang sebanyak tiga kali sehingga terdapat 30 unit percobaan.

Pembuatan media tanam dilakukan dengan mencampur semua bahan hara makro, hara mikro, vitamin, gula, myo-inositol,

kinetin 0,25 ppm dan 2,4-D. pH media ditepatkan 5,6 kemudian media dipadatkan 2,2 gram *phytagel*. Sterilisasi media dilakukan menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C dan tekanan 15 psi selama 30 menit. Kuncup bunga dicuci dengan detergen kemudian dibilas dengan air mengalir sampai bersih. Setelah itu kuncup bunga direndam dalam larutan chlorox 6% selama 10 menit sambil dikocok menggunakan shaker, selanjutnya dibilas dengan aquades steril. Parameter pengamatan meliputi Saat muncul kalus, persentase eksplan yang membentuk kalus, warna kalus, dan Tekstur kalus.

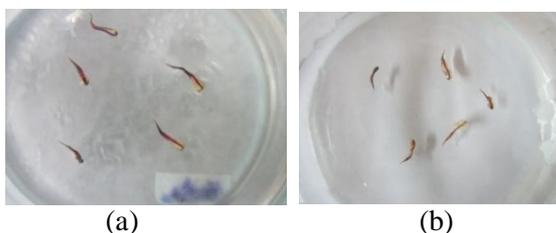
HASIL DAN PEMBAHASAN

Saat Muncul Kalus. Sidik ragam menunjukkan bahwa klon kakao unggul Sulawesi tidak berpengaruh sedangkan konsentrasi 2,4-D dan interaksi antara kedua perlakuan berpengaruh sangat nyata terhadap saat munculnya kalus.

Tabel 1. Interaksi Klon Kakao dengan Pemberian 2,4 D Terhadap Saat Munculnya Kalus

| Perlakuan Klon Kakao | 2,4-D (ppm) | | | | | BNJ K 5% |
|-------------------------|---------------------|--------------------|---------------------|--------------------|---------------------|----------|
| | 0,5 (A1) | 1,0 (A2) | 1,5 (A3) | 2,0 (A4) | 2,5 (A5) | |
| Sulawesi 1 (K1) | q11,00 ^b | p5,33 ^a | p6,33 ^a | p6,00 ^a | p7,33 ^a | 1,61 |
| Sulawesi 2 (K2) | p5,67 ^{ab} | p5,00 ^a | p6,33 ^{ab} | q7,67 ^b | q10,00 ^c | |
| BNJ A 5% | 2,62 | | | | | |

Ket : Angka yang Diikuti Huruf yang Sama pada Baris (a,b), dan Kolom (p,q) Berbeda pada Taraf Uji $\alpha=0,05$.



Gambar 1. Saat Muncul Kalus pada Eksplan Staminodia Klon Kakao Unggul Sulawesi 1 dan Sulawesi 2 (b) pada Perlakuan 1 ppm 2,4-D (5 HST)

Hasil uji BNJ (Tabel 1) menunjukkan bahwa pengaruh klon kakao unggul Sulawesi berbeda pada konsentrasi 2,4-D yaitu pada konsentrasi 0,5 ppm (A1), 2,0 ppm (A4), dan 2,5 ppm (A5) tetapi tidak berbeda pada konsentrasi 1,0 ppm (A2) dan 1,5 ppm (A3). Pada klon Sulawesi 1 pembentukan kalus tercepat diperoleh pada konsentrasi 1,0 dan tidak berbeda dengan konsentrasi 1,5 ppm, 2,0 ppm, dan 2,5 ppm tetapi berbeda dengan konsentrasi 0,5 ppm. Pada klon Sulawesi 2 pembentukan kalus tercepat diperoleh pada

konsentrasi 1,0 ppm tidak berbeda dengan konsentrasi 0,5 ppm dan 1,5 ppm tetapi berbeda dengan konsentrasi 2,0 ppm dan 2,5 ppm.

Penambahan zat pengatur tumbuh pada media kultur jaringan mempengaruhi laju pertumbuhan sel dari eksplan yang di kultur. Munculnya kalus pada eksplan diawali dari bagian bekas irisan pada pangkal staminodia, dan kemudian menyebar hingga keseluruhan bagian staminodia. Sebelum membentuk kalus, eksplan menunjukkan perubahan fisik. Pada awalnya eksplan berbentuk lurus kemudian berubah menjadi bengkok dan membesar serta berwarna lebih merah dibandingkan dengan sebelum eksplan dikulturkan. Zat pengatur tumbuh pada media tanam akan berdifusi kedalam jaringan tanaman melalui pangkal eksplan yang terluka akibat irisan. 2,4-D yang telah diserap kemudian akan menstimulasi terjadinya pembelahan sel, terutama sel-sel yang berada pada pangkal sekitar perlukaan eksplan. Munculnya kalus ditandai dengan munculnya gumpalan sel berwarna putih. Selanjutnya gumpalan tersebut akan membentuk massa sel yang disebut kalus. Saat munculnya kalus dapat dilihat pada gambar 1.

Berdasarkan hasil yang diperoleh, adanya interaksi yang sangat nyata menunjukkan

bahwa penambahan 2,4-D kedalam media dan klon kakao yang digunakan bersinergi mempengaruhi saat munculnya kalus pada penelitian ini. Saat muncul kalus paling cepat diperoleh pada perlakuan konsentrasi 1 ppm 2,4-D dan klon Sulawesi 1 dan 2. Pada konsentrasi 1 ppm 2,4-D juga diperoleh massa kalus yang relatif lebih banyak dibanding perlakuan lainnya.

Walaupun terdapat perbedaan kecepatan saat muncul kalus, penggunaan 2,4-D pada kedua klon kakao tersebut dapat menstimulasi terbentuknya kalus. Berdasarkan data tersebut, maka dapat dikemukakan bahwa konsentrasi 1 ppm 2,4-D merupakan konsentrasi yang sesuai untuk induksi kalus pada eksplan staminodia kakao klon Sulawesi 1 dan Sulawesi 2. Hal ini sesuai dengan yang dinyatakan oleh Basri (2004) bahwa 2,4-D diketahui sebagai jenis auksin yang kuat atau efektif untuk pembentukan kalus karena berperan dalam mengaktifkan gen yang akan berperan dalam pembelahan sel. Auksin (2,4-D) dapat digunakan secara tunggal ataupun dikombinasikan dengan zat pengatur tumbuh lainnya. Penggunaan auksin (2,4-D) sering lebih efektif bila dikombinasikan dengan sitokinin (kinetin).

Tabel 2. Persentase Eksplan Staminodia Kakao yang Membentuk Kalus (8 MST)

| Perlakuan Klon Kakao | 2,4-D (ppm) | | | | | BNJ K 5% |
|-------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|-------------|
| | 0,5 (A1) | 1,0 (A2) | 1,5 (A3) | 2,0 (A4) | 2,5 (A5) | |
| Sulawesi 1 (K1) | _p 60,00 ^a | _p 100,00 ^b | _p 93,33 ^b | _p 93,33 ^b | _q 86,67 ^b | 22,26 |
| Sulawesi 2 (K2) | _q 93,33 ^{bc} | _p 100,00 ^c | _p 93,33 ^{bc} | _p 73,33 ^{ab} | _p 60,00 ^a | |
| BNJ A 5% | 20,85 | | | | | |

Ket : Angka yang Diikuti Huruf Sama pada Baris (a,b), dan Kolom (p,q) yang Sama Berarti Berbeda pada Taraf Uji $\alpha=0,05$.



Gambar 2. Perlakuan 1 ppm 2,4-D yang Berkalus Lebih Banyak pada Klon Kakao Unggul Sulawesi 1 (a) dan Sulawesi 2 (b) pada 8 MST

Persentase Ekplan yang Membentuk Kalus. Sidik ragam menunjukkan bahwa

klon kakao unggul Sulawesi tidak berpengaruh sedangkan konsentrasi 2,4-D dan interaksi antara kedua perlakuan berpengaruh nyata terhadap persentase eksplan yang membentuk kalus. Rata-rata persentase eksplan yang membentuk kalus disajikan pada Tabel 2.

Hasil uji BNJ (Tabel 2) menunjukkan bahwa pengaruh klon kakao unggul Sulawesi berbeda pada konsentrasi 2,4-D, yaitu pada konsentrasi 0,5 ppm (A1) dan 2,5 ppm (A5) tetapi tidak berbeda pada konsentrasi 1,0

ppm (A2), 1,5 ppm (A3), dan 2,0 ppm (A4). Pada klon Sulawesi 1, persentase eksplan yang membentuk kalus terbanyak diperoleh pada konsentrasi 1,0 ppm tidak berbeda dengan konsentrasi 1,5 ppm, 2,0 ppm dan 2,5 ppm tetapi berbeda dengan konsentrasi 0,5 ppm. Pada klon Sulawesi 2 persentase eksplan yang membentuk kalus terbanyak diperoleh pada konsentrasi 1,0 ppm dan tidak berbeda dengan konsentrasi 0,5 ppm, 1,5 ppm tetapi berbeda dengan konsentrasi 2,0 ppm dan 2,5 ppm.

Berdasarkan pengamatan persentase eksplan yang membentuk kalus, diperoleh hasil bahwa pembentukan kalus berkisar antara 60 – 100%. Persentase eksplan yang membentuk kalus paling tinggi diperoleh pada media yang ditambahkan 1 ppm 2,4-D. Menurut Gunawan (1988); Hendaryono dan Wijayani (1994), 2,4-D merupakan jenis auksin yang mempunyai potensi tinggi untuk menumbuhkan kalus.

Tabel 3. Perubahan Warna Kalus pada Berbagai Perlakuan (1-4 MST)

| Perlakuan | Ulangan | Minggu Pengamatan | | | |
|-----------|---------|-------------------|-------|--------|------------------|
| | | I | II | III | IV |
| K1A1 | I | - | Putih | Putih | Kuning |
| | II | - | Putih | Putih | Kuning |
| | III | - | Putih | Putih | Kuning |
| K1A2 | I | Putih | Putih | Kuning | Kuning |
| | II | Putih | Putih | Kuning | Coklat |
| | III | Putih | Putih | Kuning | Kuning |
| K1A3 | I | Putih | Putih | Kuning | Coklat |
| | II | Putih | Putih | Kuning | Coklat |
| | III | Putih | Putih | Kuning | Kuning |
| K1A4 | I | Putih | Putih | Kuning | Coklat |
| | II | Putih | Putih | Kuning | Kuning |
| | III | Putih | Putih | Kuning | Kuning |
| K1A5 | I | - | Putih | Putih | Kuning |
| | II | Putih | Putih | Putih | Kuning |
| | III | Putih | Putih | Kuning | Kuning |
| K2A1 | I | Putih | Putih | Putih | Putih |
| | II | Putih | Putih | Putih | Putih |
| | III | Putih | Putih | Putih | Putih |
| K2A2 | I | Putih | Putih | Putih | Putih kekuningan |
| | II | Putih | Putih | Putih | Putih |
| | III | Putih | Putih | Putih | Putih |
| K2A3 | I | Putih | Putih | Putih | Putih |
| | II | Putih | Putih | Putih | Putih |
| | III | Putih | Putih | Putih | Putih |
| K2A4 | I | - | Putih | Putih | Putih |
| | II | Putih | Putih | Putih | Putih kekuningan |
| | III | - | Putih | Putih | Putih |
| K2A5 | I | - | Putih | Putih | Putih |
| | II | - | Putih | Putih | Putih |
| | III | - | Putih | Putih | Putih kekuningan |

Tabel 4. Perubahan Warna Kalus pada Berbagai Perlakuan (5-8 MST)

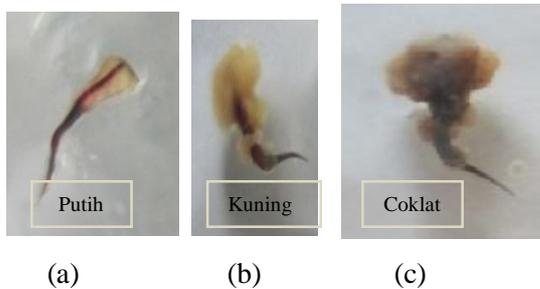
| Perlakuan | Ulangan | Minggu Pengamatan | | | |
|-----------|---------|---------------------|---------------------|----------------------|----------------------|
| | | V | VI | VII | VIII |
| K1A1 | I | Kuning | Coklat | Coklat | Coklat |
| | II | Kuning | Coklat | Coklat | Coklat |
| | III | Kuning | Coklat | Coklat | Coklat |
| K1A2 | I | Kuning | Kuning | Kuning | Coklat |
| | II | Coklat | Coklat | Coklat | Coklat Keputihan |
| K1A3 | III | Kuning | Kuning | Kuning | Kuning |
| | I | Coklat | Coklat | Coklat | Coklat |
| | II | Coklat | Coklat | Coklat | Coklat |
| K1A4 | III | Kuning | Kuning | Kuning | Kuning |
| | I | Coklat | Coklat | Coklat | Coklat Keputihan |
| | II | Kuning | Kuning | Kuning | Kuning |
| K1A5 | III | Kuning | Kuning | Kuning | Kuning |
| | I | Kuning | Kuning | Kuning | Coklat |
| | II | Kuning | Coklat | Coklat | Coklat Keputihan |
| | III | Kuning | Coklat | Coklat | Coklat Keputihan |
| K2A1 | I | Putih | Putih | Putih | Putih Kekuningan |
| | II | Putih | Putih | Putih Kekuningan | Kuning |
| | III | Putih Kekuningan | Putih Kekuningan | Putih Kekuningan | Kuning |
| K2A2 | I | Putih kekuningan | Putih Kecoklatan | Coklat Keputihan | Coklat Keputihan |
| | II | Putih | Putih | Putih | Putih |
| | III | Putih Kekuningan | Putih kekuningan | Kuning | Kuning Kecoklatan |
| K2A3 | I | Putih | Putih | Putih Kekuningan | Kuning |
| | II | Putih | Putih | Kuning | Kuning |
| | III | Putih | Putih | Kuning | Kuning |
| K2A4 | I | Putih | Putih | Kuning | Coklat |
| | II | Kuning | Coklat | Coklat | Coklat |
| | III | Putih | Putih | Putih | Putih |
| K2A5 | I | Putih | Putih kekuningan | Coklat | Coklat |
| | II | Putih | Putih kekuningan | Coklat | Coklat |
| | III | Putih kekuningan | Putih kekuningan | Kuning kecoklatan | Kuning kecoklatan |

Pemberian konsentrasi 2,4-D yang lebih rendah ataupun lebih tinggi tidak dapat mempercepat eksplan membentuk kalus. Hal ini terlihat pada pemberian konsentrasi 2,4-D yang rendah pada klon kakao Sulawesi 1, menghasilkan persentase terbentuknya kalus hanya 60%. Selanjutnya pemberian konsentrasi 2,4-D yang lebih tinggi pada klon kakao Sulawesi 2 justru menghasilkan persentase terbentuknya kalus yang kecil. Persentase eksplan yang berkalus dapat dilihat pada gambar 2. Persentase pembentukan kalus menunjukkan tingkat responsif eksplan terhadap perlakuan yang dicobakan (Rasud, 2012). Lebih lanjut Gardner *et al* (1991) menyatakan bahwa tanaman membutuhkan zat pengatur tumbuh dalam jumlah tertentu. Konsentrasi

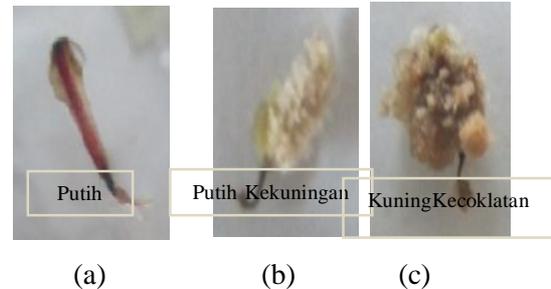
zat pengatur tumbuh yang terlalu tinggi tidak dapat mempercepat, tetapi justru akan menghambat pertumbuhan.

Warna Kalus. Hasil pengamatan secara visual terhadap warna kalus pada satu sampai empat MST disajikan pada tabel 3 dan warna kalus pada lima sampai delapan minggu disajikan pada tabel 3 dan 4.

Tabel 3 dan 4 menunjukkan bahwa secara umum perubahan warna yang terjadi pada kalus diawali dengan kalus berwarna putih menjadi kuning kemudian kuning menjadi putih kekuningan, selanjutnya kalus berubah warna menjadi coklat atau kuning kecokelatan dan pada akhir pengamatan warna kalus bervariasi menjadi coklat, kuning, kuning kehitaman atau coklat keputihan.



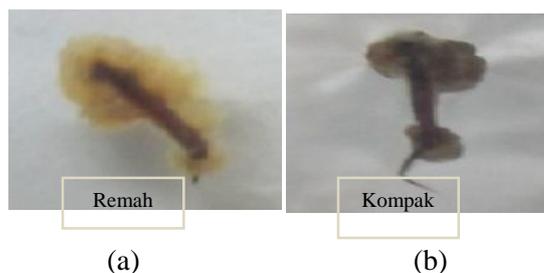
Gambar 3. Perubahan Warna Kalus pada Klon Kakao Unggul Sulawesi 1 pada Konsentrasi 1,0 ppm. Umur 1 MST (a), 3 MST (b), dan 8 MST (c)



Gambar 4. Perubahan Warna Kalus pada Klon Kakao Unggul Sulawesi 2 pada Konsentrasi 1,0 ppm. Umur 1 MST (a), 5 MST (b), dan 8 MST (c)

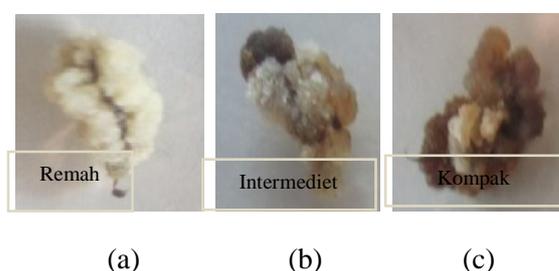
Tabel 5. Tekstur Kalus pada Berbagai Perlakuan Umur 8 MST

| Perlakuan | Ulangan | | |
|-----------|-------------|-------------|-------------|
| | I | II | III |
| K1A1 | Kompak | Kompak | Kompak |
| K1A2 | Remah | Remah | Remah |
| K1A3 | Remah | Remah | Remah |
| K1A4 | Remah | Remah | Remah |
| K1A5 | Remah | Remah | Remah |
| K2A1 | Remah | Remah | Remah |
| K2A2 | Remah | Remah | Remah |
| K2A3 | Remah | Remah | Remah |
| K2A4 | Intermediet | Intermediet | Intermediet |
| K2A5 | Kompak | Kompak | Kompak |



Gambar 5. Tipe Kalus pada Klon Kakao Unggul Sulawesi 1, Pada Konsentrasi 1,0 ppm (a) dan Konsentrasi 2,5 ppm (b), umur 8 MST.

Berdasarkan hasil yang diperoleh, klon unggul Sulawesi 1 memiliki tingkat perubahan warna yang lebih cepat jika dibandingkan dengan klon unggul Sulawesi 2 yang cenderung lambat untuk berubah warna. Perubahan warna tersebut menunjukkan adanya perubahan fase pertumbuhan pada sel dan daya regenerasi sel. Warna putih menunjukkan sel yang masih muda yang aktif membelah warna kuning atau putih kekuningan menunjukkan bahwa sel-sel yang dewasa menuju fase pembelahan aktif, dan warna coklat atau kuning kecokelatan menunjukkan gejala penuaan sel. Perubahan warna kalus dapat dilihat pada gambar 3 dan 4. Warna kalus menggambarkan penampilan visual kalus sehingga dapat diketahui tingkat keaktifan pembelahan suatu sel (Rasud, 2012). George dan Sherrington (1984) menyatakan bahwa perubahan warna kalus tersebut disebabkan oleh adanya sintesis zat-zat fenolik pada sel (kalus). Widayanto



Tipe 6. Tipe Kalus pada Klon Kakao Unggul Sulawesi 2, pada Konsentrasi 1,0 ppm(a), Konsentrasi 2,0 ppm (b), dan Konsentrasi 2,5 ppm (c), Umur 8MST.

(2004) menyatakan bahwa perubahan warna pada kalus dari putih kekuningan hingga

coklat mengindikasikan penurunan pertumbuhan pada sel-sel kalus. Sel-sel yang demikian memiliki aktifitas pembelahan yang sangat rendah sehingga daya regenerasinya telah berkurang.

Tekstur Kalus. Berdasarkan hasil pengamatan, diperoleh tipe kalus yang bervariasi yaitu remah, kompak dan intermediet. Hasil pengamatan secara visual terhadap tipe kalus pada 8 MST disajikan pada Tabel 5.

Berdasarkan hasil yang diperoleh pada pengamatan tekstur kalus, pada klon kakao Sulawesi 1, kalus bertipe kompak dihasilkan pada media yang ditambahkan 0,5 ppm 2,4-D, kalus bertipe remah dihasilkan pada 1,0 ppm 1,5 ppm, 2 ppm dan 2,5 ppm 2,4-D. Selanjutnya pada klon kakao Sulawesi 2, kalus bertipe kompak dihasilkan pada media yang ditambahkan 2,5 ppm 2,4-D, kalus bertipe remah dihasilkan pada 0,5 ppm, 1,0 ppm dan 1,5 ppm 2,4-D dan kalus bertipe intermediet dihasilkan pada 2 ppm 2,4-D. Berdasarkan tipe kalus yang dihasilkan, kalus yang bertipe remah merupakan kalus yang memiliki kualitas yang baik karena mudah terpisah menjadi sel-sel tunggal. Tipe kalus yang terbentuk dapat dilihat pada gambar 5 dan 6. Tipe kalus merupakan suatu penanda yang digunakan untuk menentukan kualitas kalus yang dihasilkan oleh eksplan (Rasud, 2012). Turhan (2004) menyatakan bahwa secara visual kalus dapat dibedakan menjadi tiga tipe kalus, yaitu kompak, intermediet, dan remah. Kalus yang baik memiliki tekstur yang remah karena mudah memisahkan diri menjadi sel-sel tunggal. Menurut Widyawati (2010), terbantuknya kalus bertipe remah dipacu oleh adanya hormon auksin endogen yang diproduksi secara internal oleh eksplan yang dikulturkan. Lebih lanjut Widayanto (2004) menyatakan bahwa kalus yang bertipe remah mudah dipisahkan dan jika diambil dengan pinset, kalus akan mudah pecah dan sebagian selnya akan menempel pada pinset. Sebaliknya kalus bertipe kompak mempunyai tekstur yang sulit dipisahkan, terlihat padat. Menurut Widiarso (2010) kalus tipe intermediet merupakan massa kalus yang terdiri dari

kelompok sel-sel yang sebagian kompak dan sebagian lainnya remah.

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil dan pembahasan maka dapat disimpulkan bahwa kemampuan induksi kalus tidak berbeda pada berbagai konsentrasi 2,4-D untuk setiap klon kakao unggul Sulawesi yang dicobakan. Saat muncul kalus paling cepat diperoleh pada konsentrasi 1 ppm 2,4-D baik pada klon unggul Sulawesi 1 maupun pada klon unggul Sulawesi 2.

Persentase pembentukan kalus tertinggi diperoleh pada konsentrasi 1 ppm 2,4-D baik pada klon Sulawesi 1 maupun klon Sulawesi 2 dengan persentase pembentukan kalus mencapai 100%. Konsentrasi 1 ppm 2,4-D merupakan konsentrasi yang lebih baik untuk menginduksi kalus pada klon kakao unggul Sulawesi. Untuk menginduksi kalus pada eksplan staminodia dari klon kakao unggul Sulawesi sebaiknya digunakan zat pengatur tumbuh 2,4-D pada konsentrasi 1 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

- Avivi, S., Prawoto, A., dan Oetami, F. R., 2010. *Regenerasi Embriogenesis Somatik pada Beberapa Klon Kakao Indonesia dari Eksplan Bunga*. Fakultas Pertanian, Universitas Jember, Indonesian Coffee and Cocoa Research Institute (ICCRI), Jember, Indonesia.
- Basri, Z., 2004. *Kultur Jaringan Tanaman*. Universitas Tadulako Press, Palu.
- _____, 2010. *Kajian Metode Perbanyak Klonal pada Tanaman Kakao*. Media LITBANG SULTENG.
- Gardner, F.,P., Pearce, B., dan Mitchell, R.,L., 1991. *Fisiologi Tanaman Budidaya*. Terjemahan Susilo, H dan Subiyanto. UI Press, Jakarta.
- George, E.F dan Sherrington, T.D. 1984. *Plant Propagation by Tissue Culture. Handbook and Directory of Commercial Laboratories*. England.
- Gunawan, L,W., 1988. *Teknik Kultur Jaringan, Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman*. Pusat Antar Universitas (PAU), Bioteknologi – IPB, Bogor.
- _____, 1992. *Teknik Kultur Jaringan Tanaman*. Departemen Pendidikan Tinggi. Pusat Antar Universitas (PAU), Bioteknologi – IPB, Bogor.
- Hendaryono, D.P.S. dan Wijayani. A. 1994. *Teknik Kultur Jaringan*. Kanisius. Yogyakarta. pp.139.
- Iswanto, A., 1998. *Peranan Bahan Tanam Kakao Unggul dan Upaya Pemuliaannya*. Warta Pusat Penelitian Kopi dan Kakao, 14(3):250-256.
- Rasud, Y., 2012. *Induksi Kalus dan Inisiasi Tunas Cengkeh (Syzygium aromaticum L.) Secara In Vitro*. Program Pasa Sarjana Universitas Tadulako. Palu
- Suhendi, D., Winarno, H. Dan Susilo, A. W., 2004. *Peningkatan Produksi dan Mutu Hasil Kakao Melalui Penggunaan Klon Unggul Baru*. Prosiding Simposium Kakao 2004, Yogyakarta.
- Turham, H. 2004. *Callus Inductions and Growth in transgenic Potato Genotypes*. African Journal of Biotechnology 3(8):375-378
- Wahyudi, T., Panggabean, T. R., dan Pujiyanto, 2009. *Panduan Lengkap Kakao*. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Widayanto, W. 2004. *Pengaruh 2,4-D dan Kinetin terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Eksplan serta kandungan Metabolit Sekunder Kalus Jati Belanda (Guazuma ulmifolia Lamk.) Secara In Vitro*. Skripsi Tidak Diterbitkan. Surakarta : Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret.

- Widiarso, M. 2010. *Kajian Penggunaan BAP dan IBA untuk Merangsang Pembentukan Tunas Lengkeng (Dimocarpus longan Lour) Varietas Pingpong Secara In Vitro*. Skripsi tidak diterbitkan. Surakarta : Fakultas Pertanian UNS.
- Widayanti, G. 2010. *Pengaruh Varietas Konsentrasi NAA dan BAP terhadap Induksi dan Pertumbuhan Kalus Jarak Pagar (Jatropha curcas L.,)*. Tesis Tidak Diterbitkan. Surakarta : Program Pasca Sarjana UNS.
- Winarsih, S., D. Santoso, T. dan Wardiyati. 2003. *Embriogenesis Somatik dan Regenerasi Tanaman pada Kultur In Vitro Organ Bunga Kakao*. Pelita Perkebunan 19:1-16