

**PENGARUH JENIS KAKAO DAN KOMBINASI ZAT PENGATUR TUMBUH
TERHADAP INDUKSI EMBRIO SOMATIK
SECARA *IN VITRO***

*Effect of Cocoa Type and Combination of Plant Growth Regulator on
Somatic Embryo Induction in Vitro*

Zuyasna, Erida Nurahmi, dan Rahmi Fajri

Jurusan Agroteknologi Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh
E-mail: zuyasna@gmail.com

ABSTRACT

In an effort to increase the productivity of cocoa in Aceh, the government has carried out a cocoa plantation revitalization program for plants aged 25-30 years. The revitalization effort was constrained by the unavailability of quality seedlings. Alternatively, cocoa seedlings can be made available through vegetative propagations or through tissue culture techniques. Based on those facts, we have studied the inducing of callus and somatic embryos of cacao clones that were adaptive and highly productive in Aceh. The experiment was arranged in a completely randomized design, consisted of two factors. The first factor was the cacao genotype, having red and green fruits skin. The second factor consisted of six combinations of growth regulators 2,4-D and kinetin. The results showed that genotype of explants origin from cocoa red flowers responded very well in the formation of callus and somatic embryo formation. There was a significant interaction between genotype and growth regulator combinations on the explants in the number of somatic embryos formed. The best combination of concentrations growth regulator in response to somatic embryo in SCG (Secondary Callus Growth) medium was 3 mgL⁻¹ 2,4 D and 1 mgL⁻¹ kinetin for explants from cocoa red flowers, and 1 mgL⁻¹ 2,4 D and 0 mgL⁻¹ kinetin for explants origin from cacao green flowers.

Keywords: kinetin, 2,4-D, cacao, callus, somatic embryo

PENDAHULUAN

Dalam upaya meningkatkan produktivitas kakao di Aceh, pemerintah melakukan program revitalisasi perkebunan kakao yang berumur 25 – 30 tahun. Upaya revitalisasi tersebut terkendala dengan ketersediaan bibit yang bermutu. Secara konvensional pengadaan bibit kakao terkendala akibat sulitnya mendapatkan bibit berkualitas dalam jumlah besar dengan kurun waktu singkat. Perbanyakan tanaman kakao sampai saat ini umumnya dilakukan secara generatif (75-90%) melalui benih hibrida F1. Perbanyakan secara generatif

melalui benih relatif lebih mudah, tetapi tanaman yang dihasilkan mempunyai sifat yang tidak seragam (Maximova *et al.*, 2002). Perbanyakan secara vegetatif lebih sulit dibandingkan dengan perbanyakan secara generatif, namun tanaman yang dihasilkan lebih seragam. Tanaman kakao yang berasal dari perbanyakan vegetatif (10-25%) pada umumnya diperoleh melalui metode setek, sambung, dan okulasi (Winarsih *et al.*, 2003).

Bibit kakao asal perbanyakan vegetatif sampai saat ini belum dapat memenuhi permintaan dalam jumlah besar, karena sangat dibatasi oleh jumlah tunas

dan cabang yang disetek, sambung dan okulasi. Sebagai tindakan alternatif, pengadaan bibit kakao secara vegetatif adalah melalui teknik kultur jaringan atau kultur *in vitro*. Keunggulan perbanyakan tanaman melalui teknik kultur jaringan adalah sangat dimungkinkan mendapatkan bahan tanaman dalam jumlah besar dalam waktu singkat. Kultur jaringan merupakan suatu metode mengisolasi bagian tanaman seperti sekelompok sel atau jaringan yang ditumbuhkan dalam kondisi aseptik, sehingga bagian tanaman tersebut dapat memperbanyak diri tumbuh menjadi tanaman lengkap kembali (Gunawan, 1992). Teori dasar dari kultur *in vitro* adalah totipotensi. Teori ini menyatakan bahwa setiap bagian tanaman mampu berkembang biak karena seluruh bagian tanaman terdiri atas jaringan-jaringan hidup. Oleh karena itu, semua organisme yang berhasil ditumbuhkan akan memiliki sifat yang sama persis dengan induknya (Hendaryono & Wijayani, 1994). Salah satu teknik kultur jaringan yang berkembang dan banyak dimanfaatkan untuk perbanyakan serta kegiatan Bioteknologi dalam rangka mendapatkan tanaman transgenik adalah melalui pembentukan embrio somatik.

Embriogenesis somatik (*Somatic embryogenesis*) merupakan teknik untuk menghasilkan embrio dari jaringan tanaman, seperti jaringan pada bunga (staminodia dan petala), kotiledon, atau dari jaringan muda lainnya melalui kultur jaringan. Perbanyakan melalui *somatic embryogenesis* (SE) menggunakan eksplan staminodia dan petala pada kakao dapat dipergunakan pada berbagai genotipe kakao dengan tingkat efisiensi yang cukup tinggi. Di samping itu, pengembangan melalui teknik SE adalah upaya untuk mendapatkan tanaman bebas penyakit dan mengeliminasi virus, serta untuk tujuan konservasi plasma nutfah (Tan & Furtek, 2004). Jenis eksplan kakao yang sudah diteliti daya regenerasinya antara lain daun muda, nuselus, embriozigotik muda biji kakao dan seluruh bagian-bagian bunga termasuk antera (Li et al., 1998).

Beberapa penelitian kultur jaringan di Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia telah dilakukan untuk menghasilkan bibit kakao hasil kultur jaringan melalui proses regenerasi embriogenesis somatik (Winarsih et al., 2003). Beberapa penelitian lain juga mengembangkan perbanyakan dan regenerasi klon kakao melalui induksi embrio somatik (Zuyasna, 2012; Zuyasna & Siti Hafisah, 2013; Zuyasna et al., 2013).

Dalam kultur jaringan, dua golongan zat pengatur tumbuh yang sangat penting adalah auksin dan sitokinin (Gunawan, 1992). Pengaruh auksin terhadap perkembangan sel menunjukkan bahwa auksin dapat meningkatkan sintesis protein. Dengan adanya peningkatan sintesis protein, maka dapat digunakan sebagai sumber tenaga dalam pertumbuhan. Kinetin adalah kelompok sitokinin yang berfungsi untuk pengaturan pembelahan sel dan morfogenesis. Dalam pertumbuhan jaringan, sitokinin bersama-sama dengan auksin memberikan pengaruh interaksi terhadap diferensiasi jaringan (Sriyanti & Wijayani, 1994). Berdasarkan hal tersebut maka diperlukan penelitian tentang pengaruh genotipe kakao dan kombinasi konsentrasi 2,4 D dan kinetin terhadap pertumbuhan embrio somatik.

METODE PENELITIAN

Eksplan diambil dari perkebunan kakao rakyat yang berproduksi tinggi dan sehat di kebun rakyat Trienggadeng Kabupaten Pidie Jaya. Pengambilan bunga dilakukan pada pagi hari sebelum matahari bersinar (sebelum jam 8 pagi). Proses persiapan eksplan dilakukan menurut prosedur Young et al. (2003). Eksplan yang diambil adalah kuncup bunga kakao yang berukuran 4-6 mm. Rancangan penelitian ini disusun menurut rancangan acak lengkap (RAL) pola faktorial yang terdiri dari dua faktor. Faktor pertama terdiri 2 genotipe kakao yaitu yang memiliki kulit buah berwarna merah dan yang memiliki kulit buah berwarna hijau. Faktor kedua terdiri atas 6 kombinasi zat pengatur tumbuh 2,4-D

dan kinetin, yaitu A1 (1 mgL^{-1} 2,4 D + 0 mgL^{-1} kinetin), A2 (3 mgL^{-1} 2,4 D + 0 mgL^{-1} kinetin), A3 (5 mgL^{-1} 2,4 D + 0 mgL^{-1} kinetin), A4 (1 mgL^{-1} 2,4 D + 1 mgL^{-1} kinetin), A5 (3 mgL^{-1} 2,4 D + 1 mgL^{-1} kinetin), dan A6 (5 mgL^{-1} 2,4 D + 1 mgL^{-1} kinetin)

Tambah Mula-mula bunga yang masih kuncup dikumpulkan dalam wadah yang berisi air dingin (4°C). Air dingin dibuang dan semua kuncup bunga kakao dimasukkan ke dalam wadah yang berisi larutan Bayclean 5% dan ditambah 5 tetes Tween 20 dengan suhu 4°C , dikocok rata selama 5 menit. Kuncup bunga kakao selanjutnya dicuci dengan air steril dingin (4°C) sebanyak 3-4 kali. Kuncup bunga yang sudah steril dimasukkan ke dalam larutan DKW tanpa gula, dan temperatur dipertahankan 4°C sampai waktunya ditanam dalam media kultur atau media perlakuan.

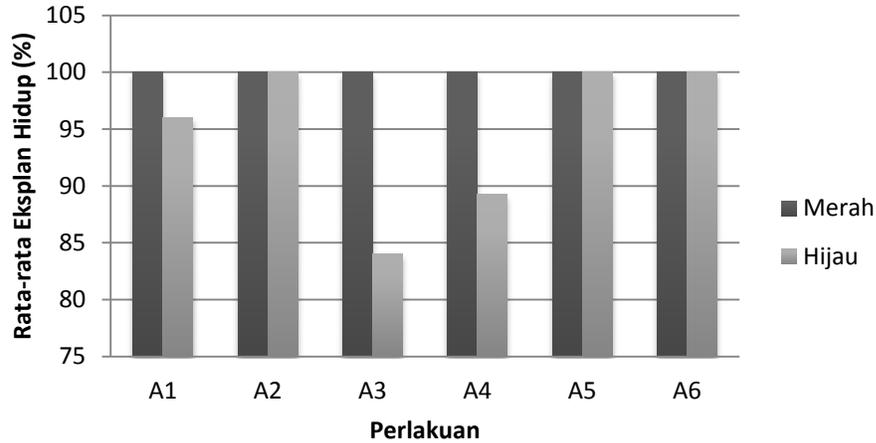
Di laboratorium, dilakukan proses sterilisasi lebih lanjut dengan mencelupkan kuncup bunga ke dalam larutan alkohol 70% selama 20 detik, dan dilanjutkan dengan larutan Bayclean 10% dan 5 tetes Tween 20 selama 15 menit, selanjutnya dicuci dengan air steril minimal 3-4 kali. Eksplan selanjutnya diletakkan di atas kertas saring yang steril dan diambil bagian staminodia dengan menggunakan scalpel steril. Eksplan petala kemudian diletakkan dalam media inisiasi yang mengandung garam makro dan mikro DKW menurut Li *et al.* (1998) yang diperkaya dengan 100 mgL^{-1} myo-inositol, 250 mg L^{-1} glutamine, 1 mgL^{-1} BAP, 20 g glukose, dan 7 g bacto agar. Sebagai wadah kultur digunakan petridis berukuran $100 \times 15 \text{ mm}$, pH media diukur 5,7 dengan menggunakan KOH, dan media diautoklaf pada suhu 121°C selama 20 menit. Kultur disimpan dalam kondisi gelap pada suhu 20°C selama 14 hari.

Setelah 14 hari di dalam media inisiasi, eksplan dipindahkan ke media SCG

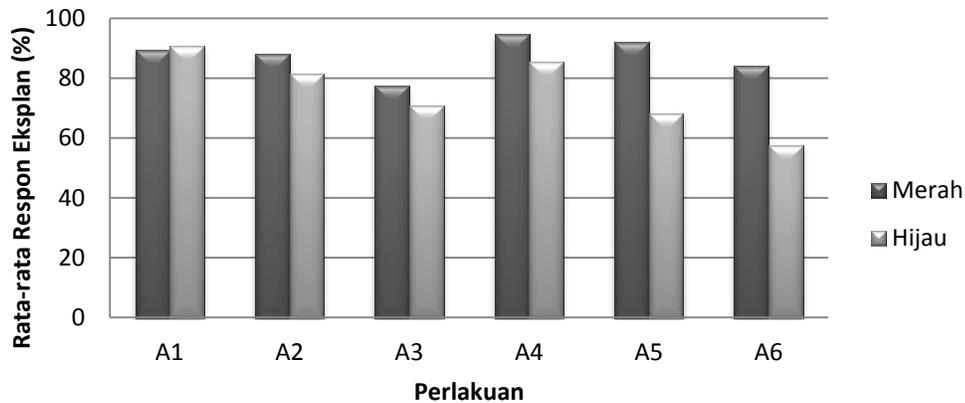
(*Secondary Callus Growth*) dengan berbagai konsentrasi 2,4-D ($1;3;5 \text{ mgL}^{-1}$) yang dikombinasikan dengan kinetin (0 dan 1 mgL^{-1}). Pengamatan terhadap respons eksplan pada media perlakuan dilakukan setelah 14 hari di dalam media perlakuan. Setiap perlakuan diulang sebanyak 3 kali. Parameter yang digunakan adalah persentase eksplan yang hidup, persentase eksplan yang respons, eksplan membentuk kalus, eksplan membentuk embrio somatik, jumlah embrio yang terbentuk per eksplan setelah 10 minggu dalam media SCG dan interaksi jenis genotipe kakao dengan kombinasi konsentrasi 2,4 D dan kinetin. Data diolah menggunakan Excel software.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ada perbedaan rata-rata persentase eksplan hidup dan persentase eksplan yang respons pada kedua genotipe kakao yang diuji seperti dapat dilihat pada Gambar 1 dan 2. Perbedaan ini ditandai dengan tingginya kematian pada eksplan asal kakao berwarna hijau yang dicirikan warna coklat kehitaman (*browning*). Eksplan yang berwarna coklat tersebut dapat dikatakan mengalami mati fisiologis (Rosita *et al.*, 2008). Menurut Rosita *et al.* (2008), pencokelatan disebabkan oleh dua faktor, yaitu faktor teknis saat penanaman yaitu scalpel dan pinset yang masih panas atau eksplan yang mengeluarkan senyawa fenol. Menurut Hendaryono & Wijayani (1994) bahwa senyawa fenol akan teroksidasi membentuk quinon yang memiliki sifat racun terhadap sel-sel tanaman dan dapat menyebabkan kematian pada sel-sel tanaman tersebut. Pencokelatan dapat menurunkan kemampuan regenerasi *in vitro*, toksisitas medium, dan kematian tunas *in vitro* (Hutami, 2008).



Gambar 1. Rata-rata Persentase Eksplan Hidupup dari Dua Genotipe Kakao pada Media DKW dengan Berbagai Kombinasi Konsentrasi ZPT di Minggu ke-10 Setelah Tanam.



Gambar 2. Rata-rata Persentase Eksplan Respon dari Dua Genotipe Kakao pada Media DKW dengan Berbagai Kombinasi Konsentrasi ZPT di Minggu ke-10 Setelah Tanam.

Pembentukan kalus pada kedua genotipe kakao yang diuji memiliki perbedaan yang signifikan. Rata-rata eksplan yang membentuk kalus pada eksplan asal genotipe berwarna merah mencapai 28,38% sedangkan kalus yang terbentuk pada eksplan asal genotipe berwarna hijau hanya 12,34 %. Tabel 1 menunjukkan bahwa secara umum genotipe berwarna hijau menunjukkan persentase eksplan membentuk kalus paling rendah. Hal ini menunjukkan bahwa genotipe berwarna hijau memiliki respons paling rendah terhadap media perlakuan yang diuji.

Pada pembentukan embrio somatik, eksplan asal genotipe berwarna merah memiliki respons terbaik dengan rata-rata 20,59%, sedangkan pada eksplan asal genotipe berwarna hijau hanya 3,43%. Pembentukan jumlah embrio somatik yang terbaik dijumpai pada genotipe kakao yang berwarna merah (Tabel 1). Dari Tabel 1 juga dapat dilihat bahwa pada kedua genotipe kakao yang diuji jumlah embrio yang terbentuk per eksplan antara 0,71% - 0,87% pada umur 10 MST. Berdasarkan uji DMRT terdapat perbedaan yang sangat nyata terhadap persentase eksplan yang

dapat menghasilkan jumlah embrio somatik pada kedua genotipe yang diuji.

Perbedaan respons setiap genotipe diduga disebabkan oleh kandungan zat pengatur tumbuh endogen yang berbeda, akibat perbedaan genetik antar genotipe serta akibat perbedaan perlakuan zat pengatur tumbuh yang ditambahkan ke dalam media. Pengaruh genotipe ini umumnya berhubungan erat dengan faktor-faktor lain yang mempengaruhi pertumbuhan eksplan, seperti kebutuhan nutrisi, zat pengatur tumbuh, lingkungan kultur, dan lain-lain. Perbedaan respons genotipe tanaman tersebut dapat diamati pada perbedaan eksplan masing-masing genotipe untuk tumbuh dan beregenerasi. Masing-masing genotipe berbeda kemampuannya dalam merangsang pertumbuhan pembentukan kalus, pembentukan embrio somatik serta kemampuan menghasilkan jumlah embrio somatik. Perbedaan pengaruh genetik ini disebabkan oleh perbedaan kontrol genetik dari masing-masing genotipe serta jenis kelamin tanaman induk (George & Sherrington, 1984). Kalus merupakan suatu kumpulan sel amorphous (belum terdiferensiasi) yang terjadi dari sel-sel jaringan yang membelah diri secara terus

menerus secara *in vitro* serta dapat diinisiasi dari hampir di seluruh bagian organ tanaman (Mentary, 2006).

Tabel 1 menunjukkan bahwa eksplan petala asal bunga kakao berwarna merah memberikan rata-rata eksplan membentuk kalus terbaik mencapai 10,37% dan berbeda nyata jika dibandingkan dengan eksplan petala asal bunga kakao berwarna hijau yang hanya 4,07%. Untuk rata-rata eksplan membentuk embrio somatik, persentase rata-rata tertinggi ditunjukkan eksplan petala asal bunga kakao berwarna merah 18,88% pada umur 10 MST, dan berbeda nyata dengan eksplan petala asal bunga kakao berwarna hijau yang hanya 1,11 %.

Salah satu faktor penting dalam memberikan pengaruh terhadap keberhasilan perbanyakan tanaman secara *in vitro* adalah zat pengatur tumbuh. Zat pengatur tumbuh (ZPT) adalah hormon tumbuhan sintesis yang dapat memacu pertumbuhan sel-sel atau jaringan tertentu dari sel-sel kalus yang belum terdiferensiasi (Rahardja, 1994). Perlakuan 3 mgL⁻¹ 2,4 D + 1 mgL⁻¹ kinetin dalam media SCG (*Secondary Callus Growth*) merupakan perlakuan terbaik dalam menginduksi kalus pada 10 MST.

Tabel 1. Rata-rata Eksplan Membentuk Kalus, Eksplan Membentuk Embrio Somatik, dan Jumlah Embrio Somatik per Eksplan pada Genotipe Kakao yang Berbeda 10 MST

Genotipe	Rata-rata Eksplan Membentuk Kalus (%) [*]	Rata-rata Eksplan Membentuk Embrio Somatik (%) [*]	Rata-rata Jumlah Embrio Somatik per Eksplan ^{**}
Buah Merah	10,37 B (28,38)	18,88 B (17,90)	0,27 B (0,87)
Buah Hijau	4,07 A (12,34)	1,11 A (2,69)	0,01 A (0,71)

Keterangan: Angka-angka yang diikuti huruf kapital pada baris yang sama menunjukkan berbeda nyata menurut uji DN MRT pada level 5 % , (.....) = Data Transformasi, (* = transformasi arcsin \sqrt{x}) (** = transformasi $(x+0,5)^{1/2}$)

Dari Tabel 2 dapat dilihat bahwa semua perlakuan 2,4 D yang dikombinasikan dengan 1 mg/L kinetin berpengaruh terhadap pembentukan kalus pada eksplan asal petala kakao. Hal serupa juga diperoleh oleh Riyadi dan Tirtoboma

(2004) bahwa semua perlakuan 2,4 D yang dikombinasikan dengan kinetin sebanyak 0,1 mgL⁻¹ berpengaruh terhadap induksi embrio secara langsung pada tanaman kopi Arabika varietas Kartika-1. Menurut Tahardi dan Mardiana (1995) penambahan

auksin dan kinetin selama 2 - 4 minggu cukup optimum bagi pembentukan calon embrio. Senyawa 2,4 D merupakan salah satu auksin yang berperan dalam pemanjangan sel, sedangkan kinetin (6-furfury amino purine) adalah salah satu jenis sitokinin yang berperan dalam pembelahan sel. Sitokinin bersama-sama dengan auksin akan memberikan pengaruh interaksi terhadap diferensiasi jaringan dalam kultur jaringan tanaman (Hendaryono & Wijayani, 1994).

Pada Tabel 2 dapat dilihat bahwa tidak semua perlakuan dapat membentuk kalus sampai umur 10 MST. Ini dapat terjadi karena kandungan auksin endogen yang tinggi dalam tanaman sehingga dapat mengakibatkan terjadinya pencoklatan serta meningkatnya aktivitas etilen yang dapat menyebabkan nekrosis (Lizawati *et al.*, 2009). Pada konsentrasi yang tinggi, 2,4-D merupakan jenis herbisida chlorophenoxy meregulasi pertumbuhan tanaman untuk tumbuh dan berkembang serta menyebabkan kerusakan membran sel eritrosit, sehingga menyebabkan

pertumbuhan yang sangat cepat dan akhirnya mengganggu transpor nutrisi dan menyebabkan kerusakan atau kematian pada tanaman itu sendiri (Bronstein, 2004). Terhambatnya pembentukan kalus pada perlakuan dengan penambahan 2,4 D kemungkinan disebabkan oleh ketidakmampuan eksplan menyerap unsur hara pada media karena terganggunya transpor nutrisi sehingga menekan pertumbuhan sel-sel pada eksplan yang akhirnya menyebabkan kematian (Suwardana, 2010).

Pada Tabel 3 dapat dilihat adanya pengaruh interaksi genotipe kakao dengan kombinasi konsentrasi 2,4 D dan kinetin. Pada umur 10 MST embrio telah muncul dengan kisaran 0 - 0,67 per unit eksplan. Menurut Traore *et al.* (2003), inisiasi embrio primer pada proses embriogenesis somatik memerlukan waktu 6-8 bulan, sedangkan pada penelitian ini untuk eksplan asal genotipe yang respons, inisiasi embrio somatik telah muncul pada minggu ke-10 walaupun persentasenya masih rendah.

Tabel 2. Rata-rata Pengaruh Eksplan Berkalus pada Berbagai Kombinasi Konsentrasi 2,4 D dan Kinetin pada 10 MST

Kombinasi Konsentrasi 2,4 D dan kinetin	Rata-rata Eksplan Berkalus (%)*	Rata-rata Eksplan Membentuk Embrio Somatik (%)*	Rata-rata Jumlah Embrio Somatik per Eksplan**
A1 (1 mgL ⁻¹ 2,4 D + 0 mgL ⁻¹ kinetin)	13,33abc (16,03)	16,67	0,135
A2 (3 mgL ⁻¹ 2,4 D + 0 mgL ⁻¹ kinetin)	0,00 a (1,28)	0,00	0,035
A3 (5 mgL ⁻¹ 2,4 D + 0 mgL ⁻¹ kinetin)	0,00 a (1,28)	6,66	0,135
A4 (1 mgL ⁻¹ 2,4 D + 1 mgL ⁻¹ kinetin)	23,33 abcd (22,18)	3,33	0,065
A5 (3 mgL ⁻¹ 2,4 D + 1 mgL ⁻¹ kinetin)	50 d (44,81)	20	0,165
A6 (5 mgL ⁻¹ 2,4 D + 1 mgL ⁻¹ kinetin)	43,33 cd (36,57)	13,3	0,335

Keterangan: Angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata menurut uji DMRT pada level 5 %, (*= transformasi arcsin \sqrt{x}) (** = transformasi $(x+0,5)^{1/2}$)

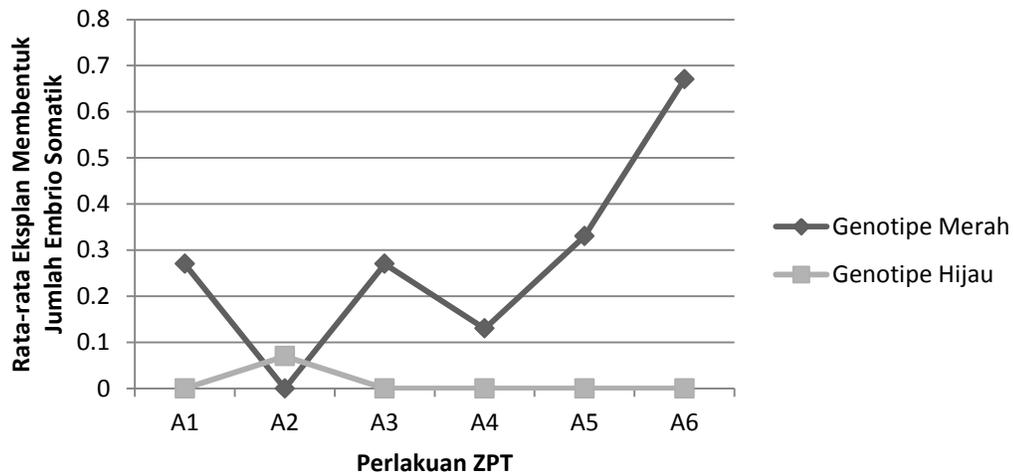
Eksplan asal genotipe berwarna hijau belum dapat menghasilkan embrio pada seluruh kombinasi perlakuan. Hal ini dapat terjadi kemungkinan adanya perbedaan fisiologis pada masing-masing eksplan. Hal ini sesuai dengan pendapat Winarsih et al. (2003), adanya perbedaan respons klon yang diuji disebabkan pengaruh konsentrasi zat pengatur tumbuh pada media terhadap jumlah embrio somatik yang terbentuk. Kebutuhan kinetin yang

termasuk dalam golongan sitokinin dikombinasikan dengan 2,4 D digunakan untuk membentuk embrioid pada embrio somatik. Aplikasi auksin saja pada kultur *in vitro* kurang efektif untuk pertumbuhan embrio somatik sedangkan auksin yang dikombinasikan dengan kinetin lebih efektif untuk merangsang pembentukan embrio somatik (Chantrapradist & Kanchanapoom, 1995).

Tabel 3. Rata-rata Eksplan Membentuk Jumlah Embrio Somatik pada Berbagai Genotipe Bunga Kakao dengan Kombinasi ZPT (2,4 D dan Kinetin) 10 MST

Genotipe	Kombinasi ZPT (%)					
	A1	A2	A3	A4	A5	A6
Buah Merah	0,27 Aab (0,85)	0,00Aa (0,71)	0,27 Aab (0,87)	0,13 Aab (0,79)	0,33Aab (0,9)	0,67Bb (1,08)
Buah Hijau	0,00Aa (0,71)	0,07Aa (0,75)	0,00Aa (0,71)	0,00Aa (0,71)	0,00Aa (0,71)	0,00Aa (0,71)

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada baris yang sama (huruf kecil) dan pada kolom yang sama (huruf kapital) menunjukkan tidak berbeda nyata menurut uji DMRT pada level 5%, (...) = (Transformasi $(x+0,5)^{1/2}$)



Gambar 3. Interaksi Jenis Genotipe Kakao dengan Kombinasi Konsentrasi 2,4 D dan Kinetin terhadap Pembentukan Jumlah Embrio Somatik pada 10 MST.

Pada Gambar 3 dapat dilihat hubungan interaksi kedua jenis genotipe kakao dengan kombinasi konsentrasi 2,4 D dan kinetin terhadap pembentukan jumlah

embrio somatik pada 10 MST. Ini menunjukkan bahwa setiap genotipe kakao memiliki kemampuan yang berbeda dalam merespon kombinasi konsentrasi ZPT dalam

pembentukan jumlah embrio somatik. Dari beberapa kombinasi konsentrasi ZPT, maka tampak perlakuan media 5 mgL^{-1} 2,4 D + 1 mgL^{-1} kinetin) memberikan respons terbaik dalam pembentukan jumlah embrio somatik pada eksplan asal genotipe kakao berwarna merah. Perlakuan media 3 mgL^{-1} 2,4-D + 0 mgL^{-1} kinetin memberikan respons terbaik dalam pembentukan jumlah embrio somatik kakao pada eksplan asal genotipe kakao berwarna hijau.

SIMPULAN

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa eksplan genotipe asal bunga kakao berwarna merah sangat baik dalam merespon pembentukan kalus, pembentukan embrio somatik, dan memiliki jumlah embrio somatik lebih banyak. Terdapat interaksi yang nyata antara genotipe dan kombinasi ZPT pada eksplan dalam membentuk jumlah embrio somatik. Kombinasi konsentrasi terbaik dalam merespon pembentukan embrio somatik adalah media SCG (*Secondary Callus Growth*) dengan perlakuan 3 mgL^{-1} 2,4 D dan 1 mgL^{-1} kinetin pada eksplan asal bunga kakao berwarna merah, dan 1 mgL^{-1} 2,4 D dan 0 mgL^{-1} kinetin untuk eksplan asal bunga kakao berwarna hijau.

SARAN

Dari penelitian ini, disarankan untuk dilakukan penelitian lanjutan ke tahapan regenerasi embrio somatik menjadi plantlet sampai tahap aklimatisasi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dibiayai oleh Universitas Syiah Kuala, Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan, sesuai dengan Surat Perjanjian Penugasan Dalam Rangka Pelaksanaan Program Penelitian Fundamental Tahun Anggaran 2012 Nomor: 140/UN11/A.01/APBN-P2T/2012 Tanggal 2 April 2012. Untuk itu kami mengucapkan terima kasih.

DAFTAR PUSTAKA

- Bronstein A. C. 2004. Herbisides. In: Dart RC, editor. Medical Toxicology. 3rd Edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- Chantrapadist, C. & Khanchanapoom, K. 1995. Somatik Embryo Formation from Cotyledonary Culture of *Theobroma cacao* L. Departement of Biology. Faculty of Science. Prince of Songkla University. Thailand.
- George, E. F. & P. D. Sherrington. 1984. Plant Propagation by Tissue Culture Handbook and Directory of Commercial Laboratories. England: Exegenetic Limited.
- Gunawan, L. W. 1992. Teknik Kultur Jaringan Tumbuhan. Laboratorium Kultur Jaringan. Pusat Antar Universitas (PAU) Bioteknologi. IPB. Bogor.
- Hendaryono, D. P. S. dan A. Wijayani. 1994. Teknik Kultur Jaringan Perbanyak dan Petunjuk Perbanyak Tanaman secara Vegetatif. Yogyakarta: Kanisius.
- Hutami, S. 2008. Masalah Pencoklatan pada Kultur Jaringan. Jurnal Ago Biogen 4 (2):83-88.
- Li Z., A. Traore, S. Maximova dan M. J. Gultinan. 1998. Somatik embryogenesis and plant regeneration from floral explants of Cacao (*Theobroma cacao* L.) using Thidiazuron. In Vitro Cell Dev. Biol. Plant 34:2293-299.
- Lizawati, T., Novita dan Purnamaningsih, R. 2009. Induksi dan multiplikasi tunas jarak pagar (*Jantropa curcas* L.) secara in vitro, J. Agon. Indonesia 37 (1); 78-85.
- Maximova, S. N., L. Alemanno, A. Young, N. Ferriere, A. Traore, M. J. Gultinan. 2002. Efficiency, Genotypic, Variability, and Cellular Origin of Primary and Secondary Somatic Embryogenesis of *Theobroma cacao* L. In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant 38: 252-259.

- Mentary, M. 2006. Induksi kalus dan tunas secara *In Vitro* tanaman mahkota dewa dengan manipulasi zat pengatur tumbuh dan eksplan. Thesis. Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor.
- Rahardja, P. C. 1994. Kultur Jaringan. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Riyadi, I. & Tirtoboma. 2004. Pengaruh 2,4 D terhadap Induksi Embrio Somatik Kopi Arabika. Buletin Plasma Nutfah Vol. 10 No.2.
- Rosita, E., M. Ariyanti dan S. Amien. 2008. Induksi akar dari eksplan daun tiga varietas nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) dalam media MS yang mengandung Paclobutrazol in vitro. Zuriat 19 (1): 16-31
- Sriyanti, D. P. & A. Wijayani. 1994. Teknik Kultur Jaringan. Yayasan Kanisius. Yogyakarta.
- Suwardana, W. I. 2010. Pembentukan Kalus Embriozigotik Kakao (*Theobroma cacao* L.) dengan Penambahan Zat Pengatur Tumbuh Golongan Auksin. <http://tanamanhutan.blogspot.com/2010/08/potensi-pembentukan-kalus-embryozigotik.html>. [18 April 2013].
- Tahardi, J. S., & Mardiana, N. 1995. Cocoa Regeneration via Somatic Embriogenesis. Menara Perkebunan.
- Tan C. L. & D. B. Furtek. 2004. Recurrent embryogenesis and implication for gene transfer in *Theobroma cacao* L. Malaysian Cocoa Journal, 1, 28—35.
- Traore, A., S. N. Maximova, dan M. J. Guiltinan. 2003. Micropropagation of *Theobroma cacao* L. Using somatic embryo-derived plants. In Vitro Cell Dev. Biol. Plant. 1:1-7.
- Winarsih, S., S. Djoko & W. Tatik. 2003. Embriogenesis Somatik dan Regenerasi Tanaman pada Kultur *In Vitro* Organ Bunga Kakao. Pelita Perkebunan 19(1): 1-16.
- Young, A., C. Miller, G.A. de Mayolo, J.D. Swanson, S. Pishak and S. Maximova, 2003. Cacao Tissue Culture Protocol. Version 1.4. American Cocoa Research Institute, USA., p:32.
- Zuyasna & Siti Hafisah, 2013. Induksi Kalus dari Tanaman Kakao Adaptive Aceh Menggunakan Eksplan Bunga serta Zat Pengatur Tumbuh Picloram. J.Floratek 8(1):1-9
- Zuyasna, 2012. Induksi Embrio Somatik dari Tanaman Kako Adaptive Aceh Menggunakan Staminodia serta Zat Pengatur Tumbuh IAA. J.Penelitian Rekayasa 5(2): 42-49
- Zuyasna, Siti Hafisah, Ashabul Anwar dan Ovan Syahputra, 2013. Pengaruh Ukuran Bunga Kakao dan Picloram Terhadap Induksi Embrio Somatik Secara In Vitro. J.Penelitian Rekayasa 6(1):33-38