

Jurnal
**TANAMAN INDUSTRI
DAN PENYEGAR**
Journal of Industrial and Beverage Crops
Volume 6, Nomor 2, Juli 2019

**PENGARUH TIPE KULTUR KONTAINER PADA KEBERHASILAN
PEMBENTUKAN EMBRIO SOMATIK KAKAO**

***EFFECT OF CONTAINER CULTURE TYPES ON THE SUCCESS OF CACAO SOMATIC EMBRYOS
FORMATION***

* Nur Ajjah, Cici Tresniawati, dan Syafaruddin

Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar
Jalan Raya Pakuwon Km 2 Parungkuda, Sukabumi 43357 Indonesia
* jijah_ridwan@yahoo.co.id

(Tanggal diterima: 28 November 2018, direvisi: 15 April 2019, disetujui terbit: 30 Juli 2019)

ABSTRAK

Kultur kontainer memiliki peran penting dalam penentuan keberhasilan kultur *in vitro* karena akan berpengaruh terhadap perkembangan kultur, seperti pembentukan struktur embrio. Tujuan penelitian adalah mengetahui pengaruh tipe kultur kontainer (cawan petri dan botol kultur) terhadap embriogenesis somatik kakao. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan, Unit Pengembangan Benih Unggul Balitbangtan, Bogor, mulai bulan April sampai September 2016. Pengujian dilakukan terhadap pengaruh tipe kontainer dan jenis eksplan serta pengaruh tipe kontainer dan genotipe. Pada pengujian pengaruh tipe kontainer dan jenis eksplan, kalus diinduksi dari eksplan mahkota bunga dan staminoid klon Sca 6, selanjutnya embrio somatik diinduksi menggunakan cawan petri atau botol kultur sesuai perlakuan, sedangkan pada pengujian pengaruh tipe kontainer dan genotipe, kalus diinduksi dari eksplan mahkota bunga klon Sca 6 dan ICCRI 4, selanjutnya embrio somatik diinduksi menggunakan cawan petri atau botol kultur sesuai perlakuan. Hasil penelitian menunjukkan tidak terdapat interaksi antara tipe kontainer dengan jenis eksplan terhadap rata-rata persentase pembentukan dan jumlah embrio somatik kakao. Persentase pembentukan dan jumlah embrio somatik pada botol kultur adalah 10,28% dengan 1,33 embrio/eksplan dan pada cawan petri 7,89% dengan 0,76 embrio/eksplan. Pada penelitian genotipe dan tipe kontainer terdapat interaksi pada periode awal pembentukan embrio somatik (15 dan 18 minggu setelah kultur), namun pengaruhnya tidak nyata pada periode akhir pengamatan (21 minggu setelah kultur) dengan pembentukan embrio somatik 22,5% dan 23,1% serta jumlah embrio somatik per eksplan 2,2 dan 3,2. Hasil penelitian ini mengindikasikan botol kultur, yang harganya lebih murah, dapat digunakan untuk menginduksi pembentukan embrio somatik kakao menggantikan cawan petri yang harganya lebih mahal.

Kata kunci: Botol kultur, cawan petri, embriogenesis somatik, kultur kontainer, *Theobroma cacao* L.

ABSTRACT

Container culture have an important role in determining the success of *in vitro* culture since it will affect the development of culture, such as the formation of embryonic structures. The study aimed to determine the effect of culture container types on cacao somatic embryogenesis. The study was conducted at Tissue Culture Laboratory, Superior Seed Development Unit of IAARD, Bogor, from April to September 2016. The tests were conducted on the effect of container and explant types as well as the effect of container types and genotypes. The effects of container and explant types were tested using callus induced from petal and staminoid explants of Sca 6, whereas the effects of container types and genotypes were tested using callus induced from petal explants of Sca 6 and ICCRI 4. Afterwards, the somatic embryos were induced using petri dishes or culture bottles according to treatment.

The results showed no significant interaction between container and explant types on the average percentage of the formation and number of somatic embryos (10.28% embryos/explants in culture bottles and 7.89% embryos/explants in petri dishes). Meanwhile, there was significant interaction between genotypes and container types in the initial period of somatic embryos formation (15 and 18 weeks after culture), but the effect was not significant in the final period of observation (21 weeks after culture). The results indicate that culture bottles, which have lower prices, can be used to replace petri dishes to induce the formation of somatic embryos in cacao.

Keywords: Container cultures, explants, genotypes, somatic embryos, *Theobroma cacao L.*

PENDAHULUAN

Kultur kontainer (*culture containers*) yang digunakan sebagai wadah untuk menumbuhkan biakan atau eksplan secara *in vitro* mempunyai fungsi yang sangat penting. Spesifikasi kultur kontainer yang paling penting adalah mampu memberikan kualitas pencahayaan yang seragam dan memadai, mencegah kontaminasi mikroorganisme, mencegah kehilangan air, menjaga kelembaban, serta memungkinkan terjadinya pertukaran udara (Huang & Chen, 2005). Kontainer yang dapat digunakan di dalam kultur *in vitro* diantaranya tabung reaksi (kaca), erlenmeyer, cawan petri (kaca atau plastik), botol kaca, dan kontainer makanan. Faktor yang harus dipertimbangkan dalam memilih tipe kontainer adalah biaya dan kesesuaian dengan jenis kultur (Prakash, Hoque, & Brinks, 2004; Islam, Dembele, & Keller, 2005). Menurut Prakash *et al.* (2004), pilihan tipe kontainer akan memengaruhi efisiensi saat subkultur dan biaya produksi propagul per unit area.

Pemilihan tipe kontainer, tidak hanya terkait dengan efisiensi, juga berpengaruh terhadap keberhasilan kultur tanaman yang dihasilkan (Tisserat & Silman, 2000; Fal, Majada, & Tames, 2002; Islam, Dembele, & Keller, 2005; de Santana, Paiva, de Souza, & de Oliveira, 2011; Badr-Elden, Nower, Ibrahim, Ebrahim, & Elaziem, 2012). Tipe kontainer (sifat fisik) yang meliputi bentuk, ukuran, dan bahan, memengaruhi kondisi internal di dalam kultur seperti kuantitas dan kualitas pencahayaan, kelembaban dan distribusi O₂ dan CO₂ (Huang & Chen, 2005). Hasil penelitian Chen (2015) menunjukkan kondisi internal di dalam kultur kontainer berpengaruh terhadap pertumbuhan kultur planlet *Phalaenopsis sp.* Sementara hasil penelitian Fal *et al.* (2002) menunjukkan adanya perbedaan di dalam pencahayaan dan pertukaran gas di antara empat tipe kultur kontainer yang diuji, yaitu botol selai volume 370 ml ditutup dengan tutup logam, botol makanan bayi volume 200 ml ditutup dengan tutup logam, botol makanan bayi volume 200 ml ditutup dengan tutup *polypropylene* (Magenta™ B-cups) dan kultur kontainer *polycarbonate* (Magenta™ GA7) ditutup dengan tutup *polypropylene* (Magenta™ B-cups). Chunchukov & Yancheva (2015) juga melaporkan bahwa volume

kontainer berpengaruh terhadap mikropropagasi *Paulownia sp.* secara *in vitro*.

Tipe kultur kontainer yang direkomendasikan untuk produksi embrio somatik kakao adalah cawan petri. Namun demikian cawan petri memiliki harga yang mahal sehingga diperlukan alternatif tipe kontainer yang lebih murah seperti botol selai berbahan kaca dengan tutup berbahan plastik putih. Penelitian bertujuan mengevaluasi pengaruh penggunaan kontainer botol kultur dan cawan petri terhadap pembentukan embrio somatik kakao.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Unit Pengembangan Benih Unggul Balitbangtan, Bogor mulai bulan April sampai September 2016. Bahan tanaman yang digunakan adalah eksplan staminoid dan mahkota bunga kakao klon Sca 6 serta eksplan mahkota bunga klon ICCRI 4 yang merupakan koleksi Laboratorium Kultur Jaringan Unit Pengembangan Benih Unggul, Bogor. Eksplan mahkota bunga dan staminoid diambil dari bunga yang masih kuncup.

Sterilisasi Eksplan

Sterilisasi eksplan dilakukan berdasarkan Ajijah *et al.* (2014) dan Ajijah *et al.* (2016). Eksplan disterilisasi di dalam *laminar air flow* menggunakan klorox 5% selama 10 menit, kemudian dibilas akuades steril 3 kali masing-masing selama 10, 5, dan 3 menit. Staminoid dan mahkota bunga dipisahkan dari kuncup bunga di dalam cawan petri steril menggunakan skalpel dan pinset berujung runcing.

Embriogenesis Somatik

Pembentukan embrio somatik dimulai dengan tahapan induksi kalus primer dan sekunder. Kalus primer diinduksi dari eksplan mahkota bunga dan staminoid pada media induksi kalus primer (*primary callus induction*) selama 14 hari. Setelah itu kalus primer disubkultur pada media untuk induksi kalus sekunder (*secondary callus growth*) selama 14 hari. Media induksi kalus primer terdiri dari media dasar Driver dan

Kuniyuki (DKW), ditambah glutamin 250 mg/l, glukosa 20 g/l, pematat *phytagel* 2 g/l, serta zat pengatur tumbuh (ZPT) *dichlorophenoxyacetic acid* (2,4-D) 9 μ M dan kinetin 1,16 μ M. Media induksi kalus sekunder terdiri dari media dasar *woody plant media* (WPM) dengan penambahan air kelapa 50 ml/l, glukosa 20 g/l, pematat *phytagel* 2,2 g/l, 2,4-D 9 μ M dan kinetin 1,16 μ M (Ajjah, 2016; Ajjah *et al.*, 2016).

Setelah 14 hari dalam media induksi kalus sekunder, kalus dipindahkan ke dalam media DKW tanpa zat pengatur tumbuh untuk menginduksi pembentukan embrio somatik. Selanjutnya, kalus disubkultur setiap 3 minggu ke dalam media yang sama sampai terbentuk embrio somatik fase globuler, hati, torpedo, dan kotiledon dewasa. Kultur diinkubasi pada suhu 25°C–26°C dalam keadaan gelap.

Pengaruh Tipe Kontainer dan Jenis Eksplan

Kalus diinduksi dari eksplan mahkota bunga dan staminoid kuncup bunga kakao klon Sca 6 menggunakan metode yang telah diuraikan di atas. Kalus yang terbentuk dipindahkan ke dalam media induksi pembentukan embrio somatik menggunakan botol kultur atau cawan petri sesuai perlakuan. Percobaan disusun dalam rancangan acak lengkap (RAL) faktorial dengan 2 faktor. Faktor pertama adalah tipe kontainer (cawan petri dan botol kultur) dan faktor kedua adalah jenis eksplan (mahkota bunga dan staminoid). Masing-masing perlakuan terdiri dari lima ulangan, dengan sepuluh unit percobaan untuk setiap ulangan, dan tiap unit percobaan terdiri dari sepuluh eksplan.

Pengaruh Tipe Kontainer dan Genotipe

Kalus diinduksi dari eksplan mahkota bunga klon kakao Sca 6 dan ICCRI 4 menggunakan metode yang telah diuraikan di atas. Kalus yang terbentuk

dipindahkan ke dalam media induksi pembentukan embrio somatik menggunakan botol kultur atau cawan sesuai perlakuan. Percobaan disusun dalam rancangan acak lengkap (RAL) dengan 2 faktor. Faktor pertama adalah tipe kontainer (cawan petri dan botol kultur) dan faktor kedua adalah genotipe (Sca 6 dan ICCRI 4). Masing-masing perlakuan terdiri dari 5 ulangan, dan setiap ulangan terdiri dari sepuluh unit percobaan. Setiap unit percobaan terdiri dari sepuluh eksplan.

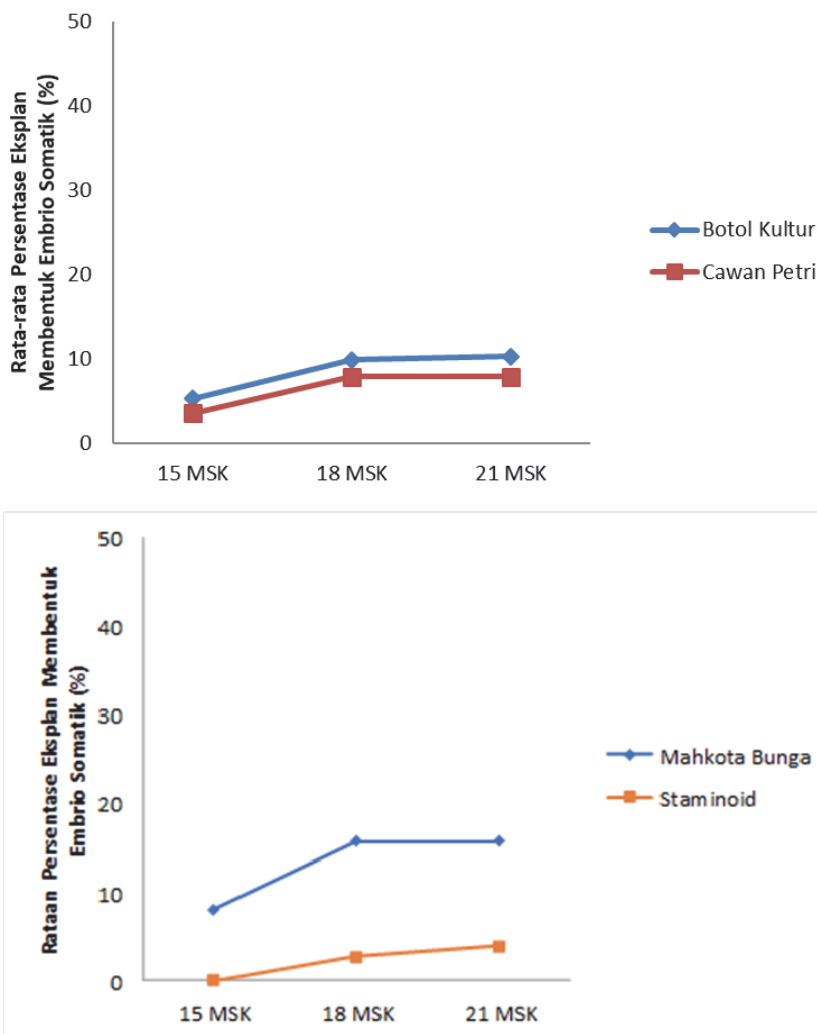
Pengamatan dan Analisis Data

Pengamatan dilakukan terhadap persentase dan jumlah total embrio somatik fase globuler, hati, torpedo, dan kotiledon dewasa per eksplan pada 15, 18, dan 21 minggu setelah kultur (MSK). Data yang diperoleh dianalisis ragam, dan apabila hasilnya berbeda nyata maka dilanjutkan dengan uji Duncan pada taraf 5%. Analisis data dilakukan dengan program SPSS Statistics 20.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Tipe Kontainer dan Jenis Eksplan

Pengaruh tipe kontainer terhadap rata-rata persentase pembentukan embrio somatik tidak nyata pada 15, 18, dan 21 MSK (berturut-turut $p = 0,465$; $p = 0,626$; $p = 0,539$), demikian juga dengan pengaruh interaksi antara tipe kontainer dengan jenis eksplan (berturut-turut $p = 0,090$; $p = 0,308$; $p = 0,979$). Tidak nyatanya pengaruh tipe kontainer dan interaksinya dengan jenis eksplan mengindikasikan kedua faktor bersifat saling bebas dan tidak saling memengaruhi pada pembentukan embrio somatik klon kakao klon Sca 6 (Gambar 1).



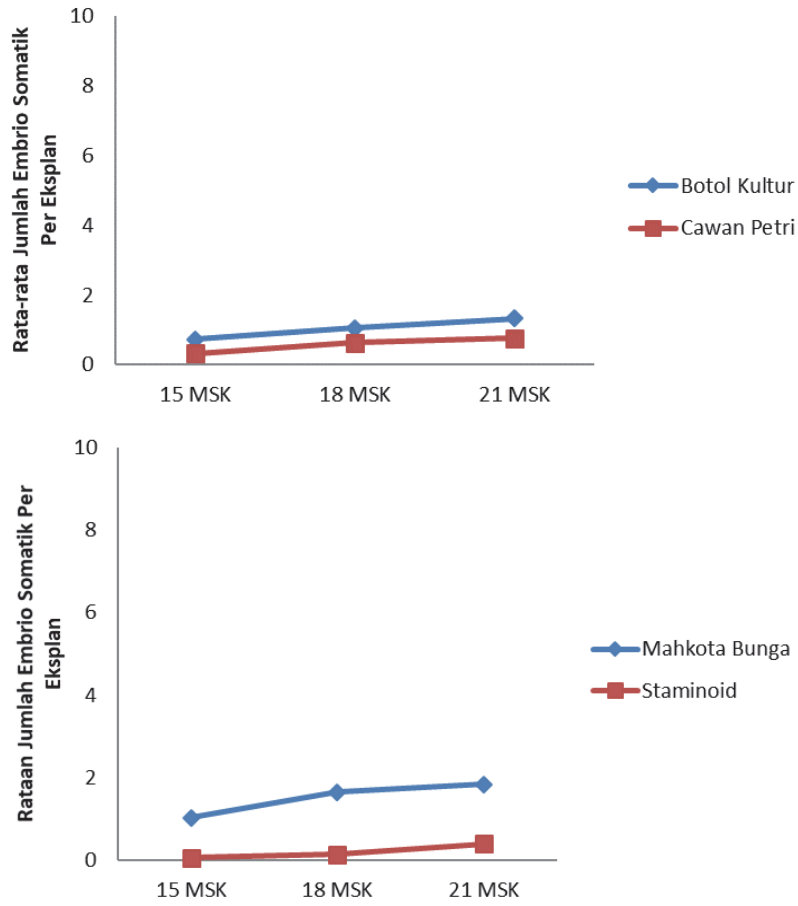
Gambar 1. Pengaruh tipe kontainer dan jenis eksplan terhadap rata-rata persentase pembentukan embrio somatik kakao klon Sca 6 pada 15, 18, dan 21 MSK

Figure 1. Effect of container and explant types on the average percentage of somatic embryos formation of Sca 6 clone at 15, 18, and 21 weeks after culture.

Pengaruh tipe kontainer dan interaksinya dengan jenis eksplan juga tidak nyata terhadap rata-rata jumlah embrio per eksplan pada 15, 18, dan 21 MSK (berturut-turut $p = 0,339$; $p = 0,625$; dan $p = 0,447$ untuk pengaruh tipe kontainer dan $p = 0,102$; $p = 0,117$; $p = 0,365$ untuk pengaruh interaksi). Hasil ini mengindikasikan bahwa penggunaan botol kultur atau cawan petri juga memberikan pengaruh yang sama secara statistik terhadap peubah rata-rata jumlah embrio somatik per eksplan kakao klon Sca 6 (Gambar 2).

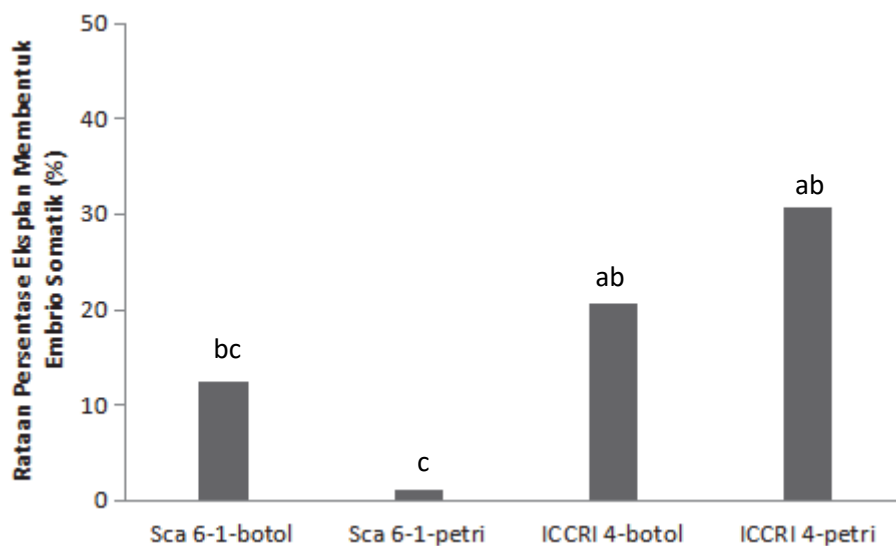
Pada penelitian ini kalus yang diinduksi dari eksplan mahkota bunga menghasilkan rata-rata persentase pembentukan embrio somatik (berturut-turut 8,0%; 15,68%; dan 15,7% pada 15,18, dan 21 MSK) dan rata-rata jumlah embrio (berturut-turut

1,03; 1,66; dan 1,84 pada 15, 18, dan 21 MSK) yang nyata lebih tinggi dibandingkan kalus yang diinduksi dari eksplan staminoid (pembentukan embrio 1,0%; 2,62%; 3,69% dan jumlah embrio 0,06; 0,14; dan 0,40 pada 15, 18, dan 21 MSK). Adanya perbedaan respon embriogenesis somatik eksplan mahkota bunga dan staminoid telah dilaporkan sebelumnya. Ajjiah *et al.* (2016) melaporkan bahwa respons jenis eksplan pada pembentukan embrio somatik kakao sangat bergantung pada genotipenya. Pada klon kakao tertentu (PA 300, GC 7, ICCRI 2, Cimanggu 1) eksplan mahkota bunga lebih responsif dibandingkan eksplan staminoid, namun sebaliknya pada klon lainnya (Sca 6, UIT 1, ICS 13, DR 2, Cimanggu 2) eksplan staminoid lebih responsif dibandingkan eksplan mahkota bunga.



Gambar 2. Pengaruh tipe kontainer dan jenis eksplan terhadap rata-rata jumlah embrio somatik per eksplan kakao klon Sca 6 pada 15, 18, dan 21 MSK

Figure 2. Effect of container and explant types on the average number of somatic embryos per explant of Sca 6 clone at 15, 18, and 21 weeks after culture



Gambar 3. Pengaruh interaksi tipe kontainer dan genotipe terhadap persentase pembentukan embrio somatik pada 15 MSK. Huruf yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji Duncan pada taraf 5%.

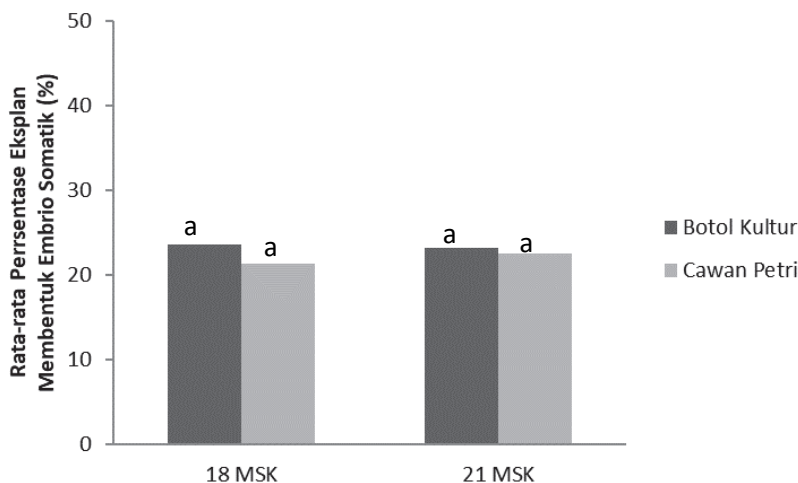
Figure 3. Effect of interaction between container types and genotypes on the percentage of somatic embryos formation at 15 weeks after culture. Same letters are not significantly different according to Duncan test at 5% level.

Hasil penelitian sebelumnya juga menunjukkan pada klon ICCRI 4 eksplan mahkota bunga lebih responsif dibandingkan eksplan staminoid (Ajijah, 2016). Oleh karena itu, pada tahap penelitian selanjutnya, yaitu pengujian pengaruh tipe kontainer dan genotipe digunakan eksplan yang sama (mahkota bunga baik pada klon Sca 6 maupun ICCRI 4).

Pengaruh Tipe Kontainer dan Genotipe

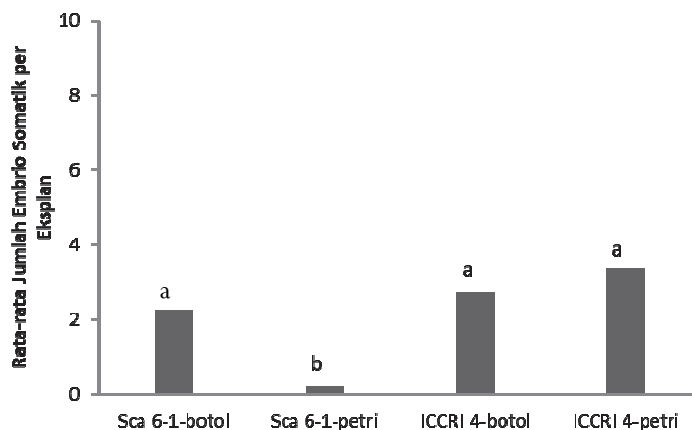
Hasil penelitian menunjukkan pengaruh tipe kontainer sebagai faktor tunggal tidak nyata secara statistik terhadap persentase pembentukan embrio somatik pada 15, 18, dan 21 MSK (berturut-turut $p = 0,901$; $p = 0,175$; $p = 0,296$). Sementara, pengaruh interaksi antara tipe kontainer dengan genotipe nyata pada periode awal pembentukan embrio somatik, yaitu pada 15 MSK ($p = 0,025$) (Gambar 3). Pada 15 MSK, rata-rata persentase pembentukan embrio somatik

paling tinggi diperoleh pada klon ICCRI 4 dengan penggunaan cawan petri (30,69%) dan terendah pada klon Sca 6 juga dengan penggunaan cawan petri (1,11%) (Gambar 3). Pengaruh interaksi tidak nyata secara statistik setelah periode kultur mencapai 18 dan 21 MSK (berturut-turut $p = 0,611$ dan $p = 0,937$), mengindikasikan bahwa pada periode kultur yang lebih lanjut respons kedua klon terhadap tipe kontainer tidak berbeda secara statistik atau dengan kata lain kedua tipe kontainer memberikan pengaruh yang sama secara statistik pada kedua klon yang diuji (Gambar 4). Pada penelitian ini klon ICCRI 4 menghasilkan rata-rata persentase pembentukan embrio somatik yang nyata lebih tinggi secara statistik (berturut-turut 33,96% dan 35,02% pada 18 dan 21 MSK) dibandingkan klon Sca 6 (berturut-turut 11,28% dan 10,22% pada 18 dan 21 MSK).



Gambar 4. Pengaruh faktor tunggal tipe kontainer terhadap rata-rata persentase pembentukan embrio somatik kakao pada 18 dan 21 MSK. Huruf yang sama pada umur yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji Duncan pada taraf 5%.

Figure 4. Effect of container types on the average percentage of cacao somatic embryos formation at 18 and 21 weeks after culture. Same letters at the same age are not significantly different according to Duncan test at 5% level.



Gambar 5. Pengaruh interaksi antara tipe kontainer dengan genotipe terhadap rata-rata jumlah embrio somatik pada 18 MSK. Huruf yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji Duncan pada taraf 5%.

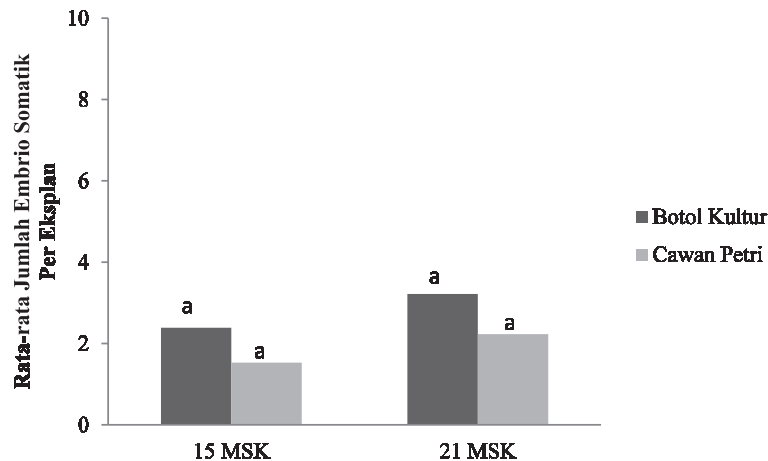
Figure 5. Effect of interaction between container types and genotypes on the average number of somatic embryos at 18 weeks after culture. Same letters are not significantly different according to Duncan test at 5% level.

Pengaruh faktor tunggal genotipe nyata terhadap rata-rata jumlah embrio somatik umur 15, 18, dan 21 MSK (berturut-turut $p = 0,000$; $p = 0,000$; dan $p = 0,000$), sedangkan pengaruh faktor tunggal tipe kontainer tidak nyata ($p = 0,193$; $p = 0,205$; $p = 0,106$). Sementara pengaruh interaksi nyata pada 18 MSK ($p = 0,023$), namun tidak nyata pada 15 dan 21 MSK (berturut-turut $p = 0,057$ dan $p = 0,086$). Delapan belas MSK adalah periode terbaik untuk melihat respons pembentukan embrio somatik pada kakao karena pada 18 MSK terjadi puncak pembentukan embrio somatik. Pembentukan embrio somatik cenderung tidak bertambah setelah 18 sampai 21 MSK. Hasil penelitian menunjukkan pada 18 MSK rata-rata jumlah embrio somatik per eksplan paling tinggi diperoleh pada klon ICCRI 4 dengan penggunaan cawan petri (3,36) namun tidak berbeda nyata secara statistik dengan penggunaan botol kultur (2,72). Sedangkan rata-rata jumlah embrio somatik paling rendah diperoleh pada klon Sca 6 dengan penggunaan cawan petri (0,24) yang berbeda nyata dengan penggunaan botol kultur (2,26) (Gambar 5).

Hasil penelitian menunjukkan rata-rata jumlah embrio somatik klon ICCRI 4 nyata lebih tinggi (berturut-turut 2,81 dan 3,61 pada 15 dan 21 MSK) dibandingkan klon Sca 6 (berturut-turut 1,13 dan 1,79 pada 15 dan 21 MSK). Sementara penggunaan botol kultur tidak menghasilkan rata-rata jumlah embrio

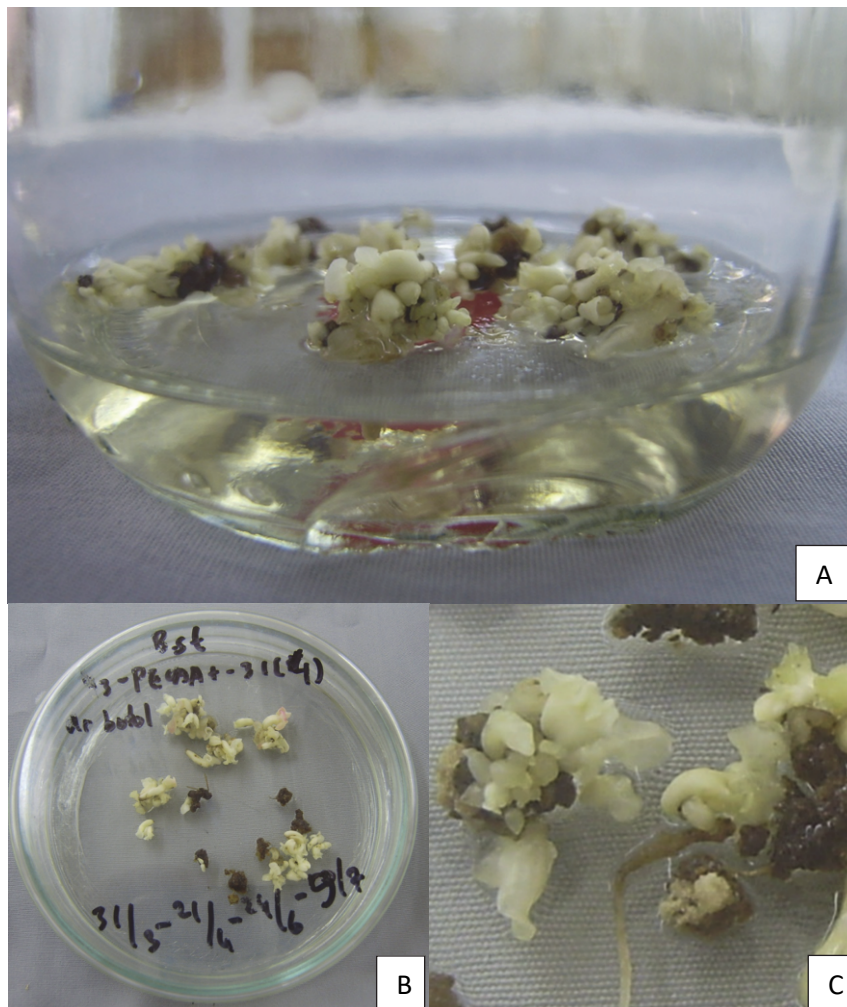
somatik yang berbeda nyata secara statistik (2,39 dan 3,22 berturut-turut pada 15 dan 21 MSK) dengan penggunaan cawan petri (1,53 dan 2,23 berturut-turut pada 15 dan 21 MSK) (Gambar 6).

Hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan respons genotipe terhadap tipe kontainer pada tahap awal embriogenesis somatik, yaitu 15 dan 18 MSK. Adanya perbedaan respons genotipe disebabkan oleh perbedaan kebutuhan dan sensitifitas setiap klon atau genotipe terhadap kondisi di dalam kultur *in vitro*. Fal *et al.* (2002) melaporkan bahwa tipe kultur memengaruhi mikropropagasi 4 kultivar *Dianthus caryophyllus* L. Perbedaan respons genotipe terhadap tipe kultur kontainer juga dilaporkan pada empat aksesori tanaman mint (Islam *et al.*, 2005). Perbedaan respons kultur disebabkan adanya perbedaan kondisi lingkungan mikro di dalam masing-masing tipe kultur kontainer. Perbedaan paling signifikan antara cawan petri dan botol kultur adalah volume udara (aerasi) di dalam kultur. Menurut de Santana *et al.* (2011), tipe kultur kontainer berpengaruh terhadap laju pertukaran CO_2 dan O_2 di dalam kultur. Hasil penelitian de Santana *et al.* (2011) menunjukkan ukuran volume kontainer memengaruhi respons pertumbuhan tunas *lettuce* dan *spearmint*. Tipe penutup kontainer juga berpengaruh terhadap pertumbuhan dan perkembangan kultur *in vitro Annona glabra* (de Santana *et al.*, 2011).



Gambar 6. Pengaruh tipe kontainer terhadap rata-rata jumlah embrio somatik per eksplan pada 15 dan 21 MSK. Huruf yang sama pada umur yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji Duncan pada taraf 5%.

Figure 6. Effect of container types on the average number of cacao somatic embryos per explant at 15 and 21 weeks after culture. Same letters at the same age are not significantly different according to Duncan test at 5% level.



Gambar 7. Pembentukan embrio somatik dari eksplan staminoid klon Sca 6: A = pada penggunaan botol kultur, B = cawan petri, dan C = beberapa tahap perkembangan embrio somatik fase globuler, hati, torpedo, dan kotiledon.

Figure 7. Formation of somatic embryos from staminoid explants of Sca 6 clone: A = in culture bottle, B = in petri dish, and C = Various stage of somatic embryos development: globular, heart shape, torpedo, and cotyledonary stage.

Al Shamari (2014) melaporkan produksi kalus embriogenik dan struktur seperti embrio dipengaruhi oleh tipe kontainer, dimana kontainer tipe *jar* lebih baik dari cawan petri, namun hasil penelitian ini menunjukkan tidak terdapat perbedaan respons embriogenesis somatik yang nyata pada penggunaan botol kultur dan cawan petri. Perbedaan respons antar genotipe hanya tampak pada periode awal pembentukan embrio somatik, yaitu 15 dan 18 MSK. Perbedaan respons tidak tampak pada periode akhir pembentukan embrio somatik (21 MSK). Hal ini kemungkinan disebabkan embriogenesis somatik kakao tidak sensitif terhadap kondisi kontainer kultur, khususnya kondisi di dalam kontainer cawan petri dan botol kultur. Hasil penelitian ini mendukung penggunaan botol kultur untuk menginduksi pembentukan embrio somatik pada kakao. Menurut Prakash *et al.* (2004), pemilihan tipe kontainer yang tepat akan mengurangi biaya produksi. Botol gelas merupakan kontainer yang paling

banyak dipakai serta paling ekonomis dan murah. Gambar 7 memperlihatkan pembentukan embrio somatik dari eksplan staminoid klon Sca 6 pada penggunaan botol kultur (Gambar 7A) dan cawan petri (Gambar 7B). Gambar 7C memperlihatkan beberapa tahap perkembangan embrio somatik, yaitu globuler, hati, torpedo, dan kotiledon.

KESIMPULAN

Penggunaan kontainer botol kultur dan cawan petri tidak memberikan pengaruh yang berbeda terhadap pembentukan embrio somatik kakao. Dengan demikian botol kultur dapat digunakan untuk menggantikan cawan petri. Diperlukan pengujian pada rentang genotipe kakao yang lebih luas untuk melihat lebih lanjut pengaruh interaksi antara tipe kontainer dengan genotipe.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan ucapan terimakasih kepada Cindy Amelianty, teknisi di Laboratorium Kultur Jaringan Unit Produksi Benih Unggul Balitbangtan, atas bantuan teknis yang diberikan selama penelitian berlangsung.

DAFTAR PUSTAKA

- Ajjah, N. (2016). Pengaruh komposisi media dasar dan jenis eksplan terhadap pembentukan embrio somatik kakao. *Jurnal Tanaman Industri dan Penyegar*, 3(3), 127–134.
- Ajjah, N., & Hartati, R. S. (2016). Pengaruh sitokinin, jenis eksplan, dan genotipe terhadap embriogenesis somatik kakao. *Jurnal Tanaman Industri dan Penyegar*, 3(2), 71–82.
- Ajjah, N., Hartati, R. S., Rubiyo, Sukma, D., & Sudarsono. (2016). Effective cacao somatic embryo regeneration on kinetin supplemented DKW medium and somaclonal variation assessment using SSRs markers. *Agrivita*, 38(1), 80–92. <https://doi.org/10.17503/agrivita.v38i1.619>
- Ajjah, N., Rubiyo, & Sudarson. (2014). Pembentukan kalus dan embrio somatik kakao menggunakan thidiazuron melalui satu tahap induksi kalus. *Jurnal Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar*, 20(4), 179–186.
- Badr-Elden, A. M., Nower, A. A., Ibrahim, A. I., Ebrahim, M. K. H., & Elaziem, T. M. A. (2012). Minimizing the hyperhydricity association with in vitro growth and development of watermelon by modifying the culture conditions. *African Journal of Biotechnology*, 11(35), 8705–8717. <https://doi.org/10.5897/AJB11.4276>
- Chen, C. (2015). Application of growth models to evaluate the microenvironmental conditions using tissue culture plantlets of Phalaenopsis Sogo Yukidian “V3.” *Scientia Horticulturae*, 191(1), 25–30. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.05.007>
- Chunchukov, A., & Yancheva, S. (2015). Micropropagation of paulownia species and hybrids. *First National Conference of Biotechnology Vol 100*, 223–230. Sofia: Universite de Sofia faculte de Biologie.
- de Santana, J. R. F., Paiva, R., de Souza, A. V., & de Oliveira, L. M. (2011). Effect of different culture tube caps and concentrations of activated charcoal and sucrose on in vitro growth and budding induction of *Annona glabra* L. *Cienc. Agrotec*, 35(5), 916–923. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2013.12.022>
- Fal, M. A., Majada, J. P., & Tames, R. . (2002). Physical environment in non-ventilated culture vessels affects in vitro growth and morphogenesis of several cultivars of *Dianthus caryophyllus* L. *In Vitro Cell. Dev. Biol.Plant*, 38, 589–594.
- Huang, C., & Chen, C. (2005). Physical properties of culture vessels for plant tissue culture. *Biosystems Engineering*, 91(4), 501–511. <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2005.05.005>
- Islam, T., Dembele, D. P., & Keller, E. R. J. (2005). Influence of explant, temperature and different culture vessels on in vitro culture for germplasm maintenance of four mint accessions. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 81, 123–130.
- Prakash, S., Hoque, M., & Brinks, T. (2004). Culture media and containers. *Low Cost Options for Tissue Culture Technology in Developing Countries*, (February), 29–40. Vienna: International Atomic Energy Agency. <https://doi.org/10.1016/j.baae.2007.04.003>
- Al Shamari, M. (2014). *Somatic embryogenesis and cryopreservation of cauliflower (Brassica oleracea var. botrytis)*(Doctoral disertation, University of Plymouth).
- Takazawa, A., & Kozai, T. (1992). Effect of types of culture vessels with supporting materials on the growth of carnation plantlets in vitro. *Environment Control in Biology*, 30(2), 65–70. <https://doi.org/10.2525/ecb1963.30.65>
- Tisserat, B., & Silman, R. (2000). Interactions of culture vessels, media volume, culture density, and carbon dioxide levels on lettuce and spearmint shoot growth in vitro. *Plant Cell Reports*, 19(5), 464–471. <https://doi.org/10.1007/s002990050757>

