

KERAGAAN TANAMAN KAKAO (*Theobroma cacao* L.) HASIL PERBANYAKAN EMBRIO SOMATIK DI KEBUN PERCOBAAN PAKUWON

THE PERFORMANCE OF CACAO (Theobroma cacao L.) FROM SOMATIC EMBRYOGENESIS IN PAKUWON EXPERIMENTAL INSTALLATION

Enny Randriani, Dani dan Indah Sulistiyorini

Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar
JL. Raya Pakuwon km. 2 Parungkuda, Sukabumi 43357
Telp. (0266) 7070941, Faks. (0266) 6542087
enny.1215@gmail.com

ABSTRAK

Teknik embrio somatik (SE) adalah salah satu alternatif untuk mengatasi permasalahan dalam penyediaan bahan tanaman kakao yang dilakukan secara *in vitro*. Perbanyakan tanaman dengan SE lebih menguntungkan karena selain memperoleh bibit klonal dalam jumlah massal dengan waktu yang singkat juga diharapkan memiliki variasi somaklonal yang lebih sedikit. Hal ini dikarenakan planlet yang terbentuk berasal dari sel embriogenik. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk melihat keragaan tiga klon kakao hasil embriogenesis somatik fase vegetatif. Penelitian dilakukan di Kebun Percobaan Pakuwon, Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar pada Juni sampai Agustus 2014. Ketinggian tempat 450 meter di atas permukaan laut, jenis tanah latosol. Penelitian menggunakan rancangan acak kelompok dengan 3 perlakuan tanaman kakao asal SE yaitu ICCRI 03, ICCRI 04, dan Sulawesi 2 yang diulang sebanyak 5 kali. Jarak tanam kakao yang digunakan adalah 3 x 3 m, tahun tanam Desember 2012. Hasil penelitian menunjukkan terdapat keragaman karakter vegetatif yaitu tinggi jorquet, diameter batang utama, panjang daun, lebar daun dan panjang tangkai daun. Terdapat varian yang tidak sama karakter flush (daun muda) dengan deskripsi klon referensi yang dijadikan tetua SE. Diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui penyebab keragaman ini dengan analisis molekuler.

Kata kunci: kakao, embrio somatik, karakter morfologi, keragaan tanaman

ABSTRACT

Somatic embryogenesis (SE) is alternative solution of cocoa planting material supply. Propagation of plants by SE has advantage because it can produce abundance clonal seed in a short time and also have a fewer somaclonal variation. This study aims to analyze the performance of three cacao clones from SE at vegetative phase. The study was conducted at the Pakuwon Experimental Installation, Indonesian Industrial and Beverage Crops Research Institute at June – August 2013 with altitude of 450 meters above sea level and latosols soil type. The study used a randomized block design with three treatment plants cocoa from SE ie ICCRI 03, ICCRI 04, and Sulawesi 2 and repeated 5 times. The results showed that there was a high variation of vegetative character such us jorquette, main stem diameter, leaf length, leaf width and length of the petiole. There were difference character for flush (young leaves) with a description of which is used as a reference clone elders of SE. Further research is needed to determine the cause of this variation by molecular analysis.

Keyword: Cocoa, somatic embriogenesis, morphological characters, the performance of the plant

PENDAHULUAN

Perbanyakan tanaman kakao 75-90% dilakukan secara generatif melalui biji hibrida F1 (*inter clonal hybrid*). Perbanyakan dengan biji relatif lebih mudah namun tanaman yang dihasilkan tidak seragam (Maximova *et al.*, 2002). Selain itu, biji kakao mempunyai daya simpan pendek karena termasuk benih

rekalsitran. Benih rekalsitran tidak tahan dikeringkan dan tidak tahan disimpan pada suhu rendah (Pence, 1992; Benson, 2000; Fang *et al.*, 2004). Perbanyakan untuk menghasilkan tanaman yang seragam dapat dilakukan secara vegetatif melalui metode setek, sambungan dan okulasi (Winarsih *et al.*, 2003). Namun, perbanyakan tersebut membutuhkan jumlah bahan tanam yang cukup banyak.

Alternatif untuk mengatasi permasalahan dalam penyediaan bahan tanam kakao dapat dilakukan secara *in vitro* melalui teknik embrio somatik (SE). SE merupakan proses perkembangan sel-sel somatik membentuk tanaman lengkap melalui tahap embrio yang spesifik tanpa melalui fusi gamet. Embrio somatik lebih menguntungkan dibandingkan pembentukan tunas secara organogenesis karena mempunyai struktur yang bipolar, yaitu mempunyai dua calon meristem (meristem akar dan meristem batang). Tahapan perkembangan embrio somatik mirip dengan tahapan embrio zigotik. Tahapan tersebut adalah fase globular, hati, torpedo, dan planlet (George *et al.*, 2008).

Perbanyakan *in vitro* sendiri dapat dilakukan melalui 2 cara, yaitu organogenesis dan SE. Perbanyakan tanaman dengan SE lebih menguntungkan karena selain memperoleh bibit klonal dalam jumlah massal dengan waktu yang singkat juga diharapkan memiliki variasi somaklonal yang lebih sedikit. Hal ini dikarenakan planlet yang terbentuk berasal dari sel embriogenik (Priyono 1993; Sumaryono dan Tahardi 1993; Suryowinoto 1996). Penyediaan bibit tanaman kakao melalui SE mempunyai prospek yang cukup bagus. Teknik embrio somatik dapat menghasilkan propagul tidak terbatas dalam waktu yang relatif lebih singkat. Selain itu, tanaman yang dihasilkan seragam dan *true to type*. Sifat bipolar yang dimiliki SE menjadikan tanaman yang dihasilkan berakar tunggang sehingga tanaman memiliki perakaran lebih kokoh (Husein *et al.*, 2006).

Perbanyakan tanaman kakao melalui SE sudah banyak diteliti. Hasil penelitian Li *et al.* (1998); Maximova *et al.* (2002) dan Purnamaningsih (2002) melaporkan keberhasilan SE kakao pada beberapa genotipe. Menurut Fang *et al.* (2009) bahwa SE kakao rentan terhadap variasi somaklonal. Disamping itu dilaporkan pula adanya kimera dan keragaman somaklonal pada SE (Lopes *et al.*, 2010). Evaluasi keragaman pertumbuhan tanaman kakao asal SE telah dilaporkan oleh Maximova *et al.* (2008) dan Paulin *et al.* (2007).

Dari beberapa penelitian mengenai SE kakao masih terdapat beberapa kendala antara lain daya regenerasi masih rendah, abnormalitas yang tinggi serta diduga terjadi variasi somaklonal. Variasi somaklonal yang terjadi antara lain akibat subkultur berulang yang dapat menyebabkan mutasi. Identifikasi variasi somaklonal pada tanaman hasil SE dapat dilakukan antara lain melalui identifikasi morfologi, sitologi (jumlah dan struktur kromosom), analisis protein dan analisis molekuler (DNA) (Rani & Raina 2000). Identifikasi morfologi dapat dilakukan pada fase vegetatif maupun generatif. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi keragaan morfologi tiga klon kakao hasil perbanyakan embriogenesis somatik pada fase juvenil (vegetatif).

BAHAN DAN METODA

Penelitian dilaksanakan di Kebun Percobaan Pakuwon Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar, Parungkuda, Sukabumi pada bulan Juni sampai Agustus tahun 2014. Ketinggian tempat 450 meter di atas permukaan laut, jenis tanah latosol dan tipe iklim B (Schmidt dan Fergusson). Tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah kakao ICCRI 03, ICCRI 04, dan Sulawesi 2 hasil SE yang berasal dari Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia, yang ditanam Desember 2012. Penelitian menggunakan rancangan acak kelompok dengan 3 perlakuan ICCRI 03, ICCRI 04 dan Sulawesi 2 hasil SE, diulang sebanyak 5 kali. Jarak tanam kakao 3 x 3 m. Sebagai pohon peneduh adalah tanaman pisang dan gliricidae dengan jarak tanam 6 x 6 meter. Jumlah sampel tanaman kakao SE yang diamati sebanyak 12 pohon dari setiap plot. Pemeliharaan tanaman meliputi pemupukan dilakukan setahun 2 kali, bobok dan penyiangan gulma dilakukan 2 bulan sekali. Parameter pengamatan data kuantitatif meliputi: tinggi jorket, jumlah cabang primer, lingkaran batang, lebar daun, panjang daun, dan panjang tangkai daun. Pengamatan data kualitatif meliputi: percabangan, pangkal daun, ujung daun, tekstur daun, dan flush (daun muda).

Data kuantitatif kemudian diolah menggunakan program *MS Excel* untuk menghitung nilai tengah dan koefisien keragaman (KK). Data kualitatif dihitung proporsinya dengan referensi deskripsi klon yang digunakan sebagai induk pembuatan SE.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengamatan menunjukkan adanya keragaman yang tinggi antar individu dalam masing-masing klon asal perbanyakan SE untuk semua karakter morfologi kuantitatif yang diamati (nilai KK > 20%), kecuali karakter jumlah cabang primer (nilai KK < 20%). Rendahnya keragaman karakter jumlah cabang

primer disebabkan oleh pemangkasan bentuk yang sudah dilakukan. Keragaman paling tinggi ditunjukkan oleh karakter panjang tangkai daun (nilai KK: 50,57–84,02%). Karakter tinggi jorket, diameter batang, panjang daun, dan lebar daun masing-masing menunjukkan nilai KK 23,08–35,42%, 26,64–39,46%, 20,61–25,42%, dan 19,60–25,04%. Kisaran tinggi jorket pada klon ICCRI 03, ICCRI 04 dan Sulawesi 2 asal SE masing-masing bervariasi antara 41–123 cm, 49–142,5 cm dan 34–148 cm (Tabel 1). Ini sejalan dengan hasil penelitian Ajjjah *et al.* (2013) yang menunjukkan bahwa tinggi jorket tanaman kakao asal SE umur dua tahun di Kabupaten Mamuju Sulawesi Barat sangat bervariasi, yaitu antara 70–265 cm.

Tabel 1. Rata-rata tinggi jorket, diameter batang utama, jumlah cabang primer, panjang daun, lebar daun, panjang tangkai daun tiga klon kakao hasil SE umur 1,5 tahun

Klon	Tinggi jorket (cm)	Diameter batang utama (cm)	Jumlah cabang primer	Panjang daun (cm)	Lebar daun (cm)	Panjang tangkai daun (cm)
ICCRI 03	41 - 123 (27.44)	3.8 - 15.3 (26.64)	3- 5 (11.70)	17.8 - 42 (20.61)	7.5 - 15 (19.60)	1.5 -10 (52.81)
ICCRI 04	49 - 142.50 (23.08)	3.5 - 12.3 (26.64)	3 - 6 (17.05)	18 - 42.5 (25.42)	6 - 17.5 (25.04)	1.5 - 9.3 (50.57)
Sulawesi 2	30 - 138.5 (35.42)	2 - 16.5 (39.46)	2 - 6 (19.64)	13 - 37 (22.95)	3.6 - 15 (24.56)	2 - 9 (84.02)

Keterangan: angka dalam kurung adalah koefisien keragaman

Keragaman antar individu dalam masing-masing klon juga terlihat untuk karakter-karakter kualitatif, yaitu tipe percabangan, duduk pangkal daun, bentuk ujung daun, tekstur daun serta warna *flush* (Tabel 2) sehingga terjadi penyimpangan terhadap deskripsi klon. Penyimpangan yang ditunjukkan oleh munculnya keragaman warna *flush* paling mudah diidentifikasi secara visual. Berdasarkan deskripsi varietas, klon ICCRI 03, ICCRI 04 dan Sulawesi 2 masing-masing memiliki warna *flush* merah kekuningan, merah dan coklat kemerahan (Tabel 3). Meskipun demikian, hasil

pengamatan menunjukkan bahwa adanya keragaman warna *flush* antar individu dalam klon ICCRI 03 asal perbanyakan SE, yaitu coklat kekuningan (23%), merah (31%), dan merah kecokelatan (46%). Antar individu dalam klon ICCRI 04 asal SE memperlihatkan keragaman warna *flush* yang meliputi merah (35%) dan merah kecokelatan (65%). Keragaman warna *flush* juga diperlihatkan oleh antar individu dalam klon Sulawesi 2 asal SE, yaitu coklat kekuningan (17%), merah (33%), dan merah kecokelatan (50%).

Tabel 2. Karakteristik percabangan, pangkal daun, ujung daun, tekstur daun, dan warna flush (daun muda) tanaman kakao asal SE umur 1,5 tahun

Klon	Percabangan	%	Pangkal daun	%	Ujung daun	%	Tekstur daun	%	Warna flush	%
ICCRI 03	Vertikal	38,46	Runcing	60,38	Runcing	5,77	Bergelombang	66,04	Cokelat kekuningan	23
	Agak vertikal	48,08	Membulat	39,62	Meruncing pendek	40,38	Datar	33,96	Merah	31
	Horizontal	13,46			Meruncing panjang	53,85			Merah kecokelatan	46
ICCRI 04	Vertikal	36,17	Runcing	50	Runcing	47,83	Bergelombang	77,55	Merah	35
	Agak vertikal	55,32	Membulat	50	Meruncing pendek	43,48	Datar	22,45	Merah kecokelatan	65
	Horizont	27,19			Meruncing panjang	8,69				
Sulawesi 2	Vertikal	41,86	Runcing	52,17	Meruncing pendek	41,30	Bergelombang	71,74	Cokelat kekuningan	17
	Agak vertikal	30,23	Membulat	47,83	Meruncing panjang	58,70	Datar	28,26	Merah	33
	Horizont	27,91							Merah kecokelatan	50

Tabel 3. Deskripsi morfologi daun tanaman kakao klon referensi (tetua SE)

Klon	Warna daun muda	Bentuk daun
ICCRI 03	Merah kekuningan	Elip
ICCRI 04	Merah	Obovate
Sulawesi 2	Cokelat kemerahan	Obovate ukuran besar

Sumber: Ditjenbun, 2008.

Dari sudut pandang sumberdaya genetik, munculnya variasi somaklonal dari teknik perbanyakan SE berpotensi meningkatkan keragaman genetik plasma nutfah (Sangthong *et al.*, 2005) yang diperlukan dalam seleksi klon unggul baru. Beberapa karakter pertumbuhan tanaman kakao, seperti tinggi jorket dan diameter batang, dapat dijadikan sebagai penduga daya hasil (Velayutham *et al.*, 2013). Dengan demikian, adanya variasi yang lebar untuk dua karakter tersebut memberikan peluang keberhasilan yang tinggi terhadap seleksi klon unggul baru

KESIMPULAN DAN SARAN

Terdapat keragaman karakter vegetatif yaitu tinggi jorket, diameter batang utama, panjang daun, lebar daun dan panjang tangkai daun. Terdapat varian yang tidak sama dengan deskripsi klon referensi yang dijadikan tetua SE. Diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui penyebab keragaman ini dengan analisis molekuler, dan pada saat ini tanaman kakao asal somatik embriogenesis belum berbuah.

DAFTAR PUSTAKA

- Ajijah, N. Randriani, E., Rubiyo & Sudarsono. 2013. Karakteristik morfologi dan agronomi tanaman kakao (*Theobroma cacao* L.) asal embrio somatik di lapangan. Prosiding Simposium Nasional Ekonomi Kakao. Universitas Haluoleo, Kendari. 11-12 Februari 2013.
- Benson, E.E. 2000. In vitro plant recalcitrance: an introduction. In *Vitro Cell. Dev. Biol. Plant.* 36:141-148.
- Ditjenbun. 2008. Kumpulan Surat Keputusan Menteri Pertanian Tentang Pelepasan Varietas Tanaman Kakao. Ditjenbun. Jakarta.
- Fang JY, wetten A. Adu-Gyamfi R., Wilkinson M., & Rodriguez-Lopez C. 2009. Use of secondary somatic embryos promote genetic fidelity in cryopreservation of cocoa (*Theobroma cacao* L.) *Agricultural and Food Sci.* 18: 152 -159.

- Fang, J.Y., A. Wetten, & P. Hadley. 2004. Cryopreservation of cocoa (*Theobroma cacao* L.) somatic embryos for long-term germplasm storage. *Plant Sci.* 166:669-675.
- George, Edwin F., Hall, Michael A., & De Klerk. 2008. Plant propagation by Tissue Culture 3rd Edition (pp 335-354).
- Hussein S, Ibrahim R, & Kiong ALP. 2006. Somatic embryogenesis: an alternative method for in vitro micropropagation. *Iranian Journal of Biotechnology*: 4;3:156-161
- Li. Z., A. Traore, S. Maximova, & Gultinan, M.J. 1998. Somatic embryogenesis and plant regeneration from floral explants of cacao (*Theobroma cacao* L.) using thidiazuron. *In Vitro Cell dev. Biol. Plant* 34 : 293-299.
- Lopes, R.C.M., Wetten A.C., & Wilkinson M.J. 2010. Progressive erosion of genetic and epigenetic variation in callus-derived cocoa (*Theobroma cacao* L.) plants. *New phytologist* 186: 856-868.
- 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.
- Maximova, S.N., Young, N., Pishak, S., & M.J. Gultinan. 2008. Field performance of *Theobroma cacao* L. Plants propagated via somatic embryogenesis. *In Vitro Cell. Dev. Biol.-Plant* (2008) 44 : 487-493.
- Paulin D., Garzon I., & Alemano L. 2007. Clonal propagation by somatic embryogenesis: preliminary result. *Ingenic Newsletter* 11:16- 18.
- Pence, V.C. 1992. Abscisic acid & the maturation of cacao embryos *in vitro*. *Plant Physiol.* 98:1391-1395.
- Priyono. 1993. Embriogenesis somatik langsung pada kultur *in vitro* eksplan daun kopi Arabika (*Coffea arabica*). *J II. Pert. Indon.* 3(1):16-20.
- Purnamaningsih, R. 2002. Regenerasi tanaman melalui embriogenesis somatik dan beberapa gen yang mengendalikan. *Buletin AgroBio.5*(2): 51-58.
- Rani V., dan Raina S.N. 2000. Genetic fidelity of organized meristem-derived micropropagated plants: a critical reappraisal. *In Vitro Cell. Dev. Biol.-Plant.* 36 : 319-330.
- Sangthong, R., Mii M., Soonthornchainaksaeng, P., & Supaibulwatana, K. (2005). Characteristics of Tetraploid Plant Derived as a Somaclonal Variation in *Lilium longiflorum*. In Okubo, H., Miller, W.B., & Chastagner (Eds.). *Proc. IXth Intl. Symp. on Plowe Bulbs.* Acta Hort. 673, ISHS 2005.
- Sumaryono & Tahardi, J.S. 1993. Perbanyakan klon kopi robusta toleran nematoda melalui embriogenesis somatik langsung. *Menara Perkebunan* 61(3):50-55.
- Suryowinoto, M. 1996. Prospek kultur jaringan dalam perkembangan pertanian modern. Universitas Gadjah Mada. Hal 1-10.

- Velayutham, T., Rajamani, K., Shoba, N., Joel, A.J., & Senthil, N. (2013). Variability studies and identification of high yielding plus trees of cocoa (*Theobroma cacao* L.) in Tamil Nadu. *Afr. J. Agric. Res.*, 8(26), 3444–3453.
- Winarsih, S., Santoso, D., & Wardiyati, T. 2003. Embriogenesis somatik dan regenerasi tanaman pada kultur in vitro organ bunga kakao. *Pelita Perkebunan* 19 : 1-16.

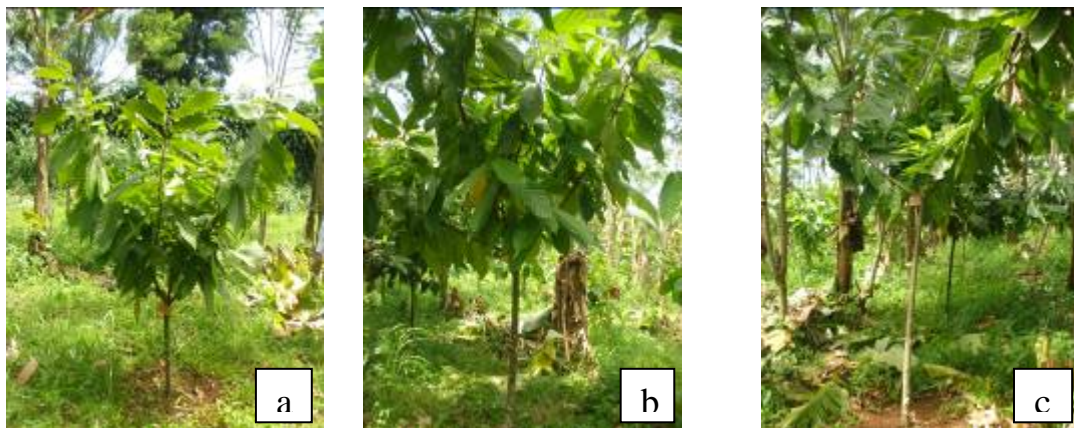
Lampiran 1. Penampilan tinggi jorket klon ICCRI 03 hasil SE a.pendek, b.sedang, dan c.tinggi



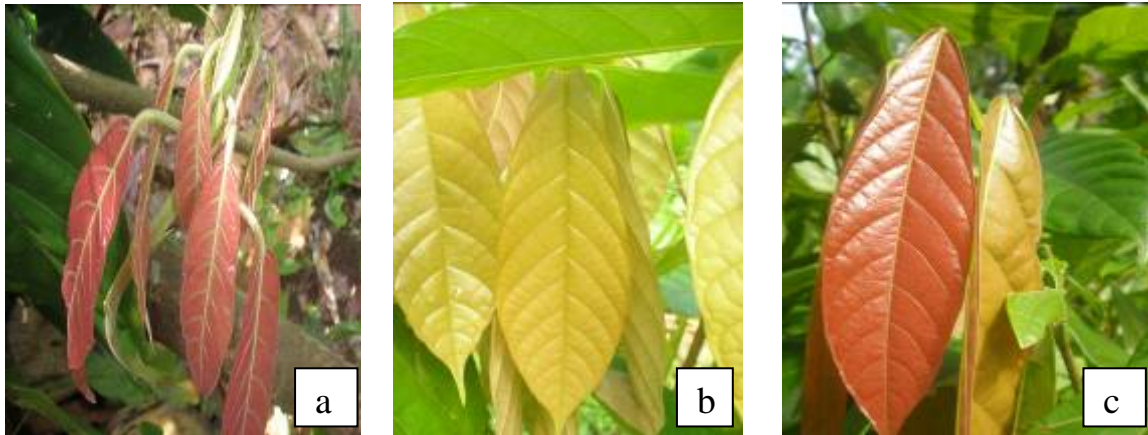
Lampiran 2. Penampilan tinggi jorket klon ICCRI 04 hasil SE a.pendek, b.sedang, dan c.tinggi



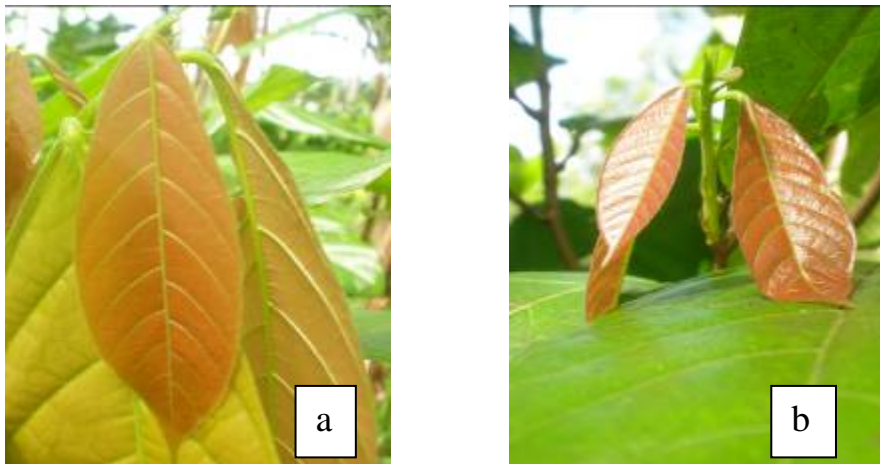
Lampiran 3. Penampilan tinggi jorket klon Sulawesi 2 hasil SE a.pendek, b.sedang, dan c.tinggi



Lampiran 4. Penampilan flush klon ICCRI 03 hasil SE. a. merah, b.cokelat kekuningan, dan c.merah kecokelatan



Lampiran 5. Penampilan flush klon ICCRI 04 hasil SE. a. merah kecokelatan, dan b.merah



Lampiran 6. Penampilan flush klon Sulawesi 2 hasil SE. a.cokelat kekuningan, b.merah kecokelatan, dan c.merah

