

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kakao (*Theobroma cacao* L.) merupakan tanaman perkebunan tropis yang penting sebagai sumber bahan baku industri pangan, lemak kakao, minuman, kosmetik, dan berbagai produk turunan. Publikasi Badan Pusat Statistik mengenai tanaman perkebunan tahunan menunjukkan bahwa kakao tetap menjadi salah satu komoditas unggulan yang dicatat luas areal, produksi, ekspor, dan impornya secara nasional. Kondisi tersebut menegaskan pentingnya penyediaan bahan tanam bermutu serta pengembangan teknologi perbanyakan untuk mendukung keberlanjutan perkakaoan Indonesia (Badan Pusat Statistik, 2025).

Penyediaan bahan tanam kakao menghadapi kendala biologis karena tanaman bersifat heterozigot, memiliki siklus hidup panjang, dan respons perbanyakannya dipengaruhi oleh genotipe. Perbanyakan generatif dapat menghasilkan keturunan yang beragam, sedangkan perbanyakan vegetatif konvensional memiliki keterbatasan jumlah bahan dan kecepatan multiplikasi. Bioteknologi kultur jaringan menawarkan peluang perbanyakan klonal, pelestarian plasma nutfah, regenerasi tanaman, dan dukungan bagi program pemuliaan serta transformasi genetik kakao (Wickramasuriya & Dunwell, 2018).

Kultur jaringan adalah teknik menumbuhkan sel, jaringan, atau organ tanaman pada media buatan dalam kondisi lingkungan terkendali dan aseptik. Teknik ini dapat mendukung perbanyakan bahan tanaman bermutu secara relatif

cepat dan tidak bergantung musim. Akan tetapi, keberhasilan kultur jaringan ditentukan oleh kualitas eksplan, komposisi media, keseimbangan zat pengatur tumbuh, kondisi ruang kultur, dan terutama kemampuan mempertahankan keadaan aseptik selama tahap inisiasi (Loyola-Vargas & Ochoa-Alejo, 2018; Abdalla et al., 2022).

Pada kakao, berbagai tipe eksplan telah digunakan untuk kultur *in vitro*, termasuk staminodia, petal, embrio somatik, nodus, pucuk, dan tunas apikal. Tunas memiliki jaringan meristematik yang berpotensi tumbuh menjadi tanaman, tetapi bahan yang berasal dari tanaman lapang dapat membawa debu, spora jamur, bakteri epifit, dan mikroorganisme endofit. Kesulitan memperoleh bahan awal yang steril telah dilaporkan sejak penelitian awal kultur jaringan kakao dan tetap menjadi salah satu tahap kritis dalam pembentukan kultur aseptik (Hall & Collin, 1975; Traore et al., 2003).

Kontaminasi merugikan karena mikroorganisme mampu memanfaatkan sukrosa, mineral, vitamin, dan senyawa organik pada media kultur. Pertumbuhan mikroba dapat mengubah pH, menghasilkan metabolit yang menghambat eksplan, menutupi permukaan media, serta menyebabkan kematian jaringan. Kontaminan eksternal dapat berasal dari permukaan eksplan, tangan operator, alat, ruang kerja, udara, dan wadah kultur; sementara kontaminan internal dapat berasal dari bakteri atau jamur yang berada di dalam jaringan dan tidak selalu dapat dihilangkan melalui sterilisasi permukaan (Leifert et al., 1991; Moreno-Vázquez et al., 2014).

Sterilisasi permukaan ditujukan untuk menurunkan jumlah mikroorganisme pada eksplan tanpa merusak jaringan tanaman. Alkohol

digunakan karena memiliki aktivitas antimikroba melalui gangguan membran dan denaturasi protein, tetapi efektivitasnya dipengaruhi konsentrasi dan lama kontak. Konsentrasi yang terlalu rendah dapat tidak cukup menekan mikroba, sedangkan konsentrasi atau paparan yang terlalu tinggi berpotensi menyebabkan dehidrasi dan cedera jaringan. Oleh sebab itu, setiap jenis eksplan memerlukan optimasi yang mempertimbangkan keseimbangan antara kebersihan mikrobiologis dan kelangsungan hidup jaringan (McDonnell & Russell, 1999; Sivanesan et al., 2021).

Penilaian keberhasilan sterilisasi tidak hanya didasarkan pada jumlah eksplan yang tetap bersih pada akhir pengamatan. Waktu munculnya kontaminasi memberikan informasi tambahan tentang kecepatan pertumbuhan mikroba. Kontaminasi yang muncul awal dapat berkaitan dengan jumlah inokulum permukaan yang tinggi atau kegagalan teknik aseptik, sedangkan kontaminasi yang muncul lebih lambat dapat mengindikasikan mikroba dalam jumlah kecil, mikroorganisme yang tumbuh lambat, atau kontaminasi endofitik. Identifikasi awal berdasarkan tampilan koloni dapat membedakan kelompok jamur dan bakteri secara operasional, tetapi tidak dapat menentukan genus atau spesies tanpa pemeriksaan mikrobiologi (Ali et al., 2018; Quambusch & Winkelmann, 2018).

Berdasarkan catatan pengamatan harian, penelitian ini membandingkan konsentrasi alkohol 40%, 50%, dan 60% pada eksplan tunas kakao dengan enam ulangan per perlakuan. Parameter yang dikaji adalah persentase sterilitas dan kontaminasi akhir, waktu muncul kontaminasi, serta persentase kontaminan yang secara visual dikelompokkan sebagai jamur atau bakteri. Penelitian ini diharapkan

memberikan informasi awal mengenai konsentrasi alkohol yang lebih menjanjikan untuk tahap inisiasi kultur tunas kakao dan menjadi dasar bagi optimasi protokol berikutnya.

1.2 Identifikasi Masalah

1. Eksplan tunas kakao yang berasal dari tanaman induk berpotensi membawa mikroorganisme permukaan maupun endofit.
2. Belum diketahui konsentrasi alkohol di antara 40%, 50%, dan 60% yang menghasilkan persentase sterilitas akhir tertinggi pada kondisi penelitian.
3. Informasi mengenai waktu muncul kontaminasi dan dominansi kelompok kontaminan pada eksplan tunas kakao masih terbatas.
4. Jumlah unit percobaan yang kecil dan identifikasi kontaminan secara visual membatasi kekuatan generalisasi hasil penelitian.

1.3 Rumusan Masalah

1. Bagaimana persentase sterilitas dan kontaminasi akhir eksplan tunas kakao pada perlakuan alkohol 40%, 50%, dan 60%?
2. Bagaimana waktu muncul kontaminasi pada masing-masing perlakuan?
3. Bagaimana persentase kontaminan yang secara visual dikelompokkan sebagai jamur dan bakteri?
4. Apakah terdapat perbedaan proporsi sterilitas dan WMK antarperlakuan pada data yang diamati?

1.4 Tujuan Penelitian

1. Menghitung persentase sterilitas dan kontaminasi akhir eksplan tunas kakao pada perlakuan alkohol 40%, 50%, dan 60%.
2. Menghitung waktu muncul kontaminasi pada setiap perlakuan.
3. Mendeskripsikan persentase kontaminan jamur dan bakteri berdasarkan ciri visual makroskopis.
4. Menguji secara eksploratif perbedaan proporsi sterilitas dan WMK antarperlakuan.

1.5 Manfaat Penelitian

1. Memberikan data awal mengenai respons kebersihan kultur tunas kakao terhadap tiga konsentrasi alkohol.
2. Menjadi bahan evaluasi prosedur sterilisasi permukaan di Laboratorium Kultur Jaringan Universitas Labuhanbatu.
3. Mendukung perancangan penelitian lanjutan dengan jumlah ulangan lebih besar dan pengujian viabilitas eksplan.
4. Menambah informasi akademik mengenai pola waktu dan jenis kontaminasi pada tahap inisiasi kultur *in vitro* kakao.