P-ISSN : 2356-1297
E-ISSN : 2528-7222

Jurnal TANAMAN INDUSTRI DAN PENYEGAR

Journal of Industrial and Beverage Crops

Volume 3, Nomor 2, Juli 2016

Terakreditasi No.699/AU2/P2MI-LIPI/10/2015
Tanggal 30 Oktober 2015

BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN PERTANIAN
Indonesian Agency for Agricultural Research and Development

PUSAT PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN PERKEBUNAN
Indonesian Center for Estate Crops Research and Development
Bogor, Indonesia

ISSN: 2356-1297

Jurnal TANAMAN INDUSTRI DAN PENYEGAR

Journal of Industrial and Beverage Crops

Dahulu **Buletin Riset Tanaman Rempah dan Aneka Tanaman Industri**, terbit pertama kali tahun 2008 memuat karya tulis ilmiah hasil penelitian dan tinjauan hasil penelitian tentang tanaman rempah dan industri. Sejak tahun 2014 berganti nama menjadi **Jurnal Tanaman Industri dan Penyegar** yang melaporkan hasil penelitian tanaman industri dan penyegar yang belum pernah dipublikasikan. Terbit tiga nomor dalam setahun, setiap bulan Maret, Juli, dan November.

Volume 3, Nomor 2, Juli 2016

Terakreditasi No. 699/AU2/P2MI-LIPI/10/2015
Tanggal 30 Oktober 2015

PENANGGUNG JAWAB
Kepala Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan

DEWAN EDITOR
Ketua
Dr. Rita Harni, M.Si. - Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar (Fitopatologi)
Anggota
Ir. Syafaruddin, Ph.D. - Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar (Biologi Molekuler/Pemuliaan)
Dr. Ir. Rr. Sri Hartati, MP. - Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan (Pemuliaan)
Dr. Ir. Samsudin, M.Si. - Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar (Entomologi)
Dr. Ir. Bariot Hafif, M.Sc. - Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar (Ilmu Tanah)
Ir. Edi Wardiana, M.Si. - Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar (Agronomi)
Nur Kholilatul Izzah, SP, MP, Ph.D. - Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar (Biologi Molekuler/Pemuliaan)

EDITOR PELAKSANA
Widi Amaria, SP, MP. - Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar
Dani, SP, M.Sc. - Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar
Arifa Nofriyaldi Chan - Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar
Intan Nurhayati, S.Sos. - Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar

Alamat Redaksi
Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar
Jl. Raya Pakuwon Km 2 Parungkuda, Sukabumi 43357
Telp. (0266) 6542181 Faks. (0266) 6542087
e-mail: balittri@litbang.pertanian.go.id
http://balittri.litbang.pertanian.go.id

Sumber Dana
DIPA 2016 Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar

PENERBIT
Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan

MITRA BESTARI
JURNAL TANAMAN INDUSTRI DAN PENYEGAR

Prof. Dr. Ir. Sudarsono, M.Sc.
Institut Pertanian Bogor – Biologi Molekuler/Pemuliaan

Prof. Dr. Ir. Sutrisno, M.Agr.
Institut Pertanian Bogor – Pascapanen Pertanian

Dr. Amzul Rifin, S.P., M.A.
Institut Pertanian Bogor – Agribisnis

Dr. Ir. Ade Wachjar, M.S.
Institut Pertanian Bogor – Agronomi

Dr. Ir. Taryono, M.Sc.
Universitas Gadjah Mada – Genetika dan Biologi Molekuler

Ir. Arifin Noor Sugiharto, M.Sc, Ph.D.
Universitas Brawijaya – Pemuliaan

Dr. Hagus Tarno, Agr. Sc.
Universitas Brawijaya – Entomologi

Prof. Ir. I. G. A. Mas Sri Agung, M.Rur.Sc, Ph.D.
Universitas Udayana – Ekofisiologi

Prof (R). Dr. Ika Mariska Soedharma
Masyarakat Kelapa Sawit Indonesia – Bioteknologi Pertanian

Dr. Ir. Isroi, M.Si.
Pusat Penelitian Bioteknologi dan Bioindustri Indonesia – Bioteknologi Pertanian

Prof (R). Dr. Supriadi, M.Sc.
Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat – Fitopatologi

Prof (R). Dr. Elna Karmawati, M.S.
Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan – Entomologi

Prof (R). Dr. Ir. I Wayan Rusastra, M.S.
Pusat Sosial Ekonomi dan Analisis Kebijakan – Agroekonomi

Puji Lestari, SP, M.Si, Ph.D.
Bala Besar Litbang Bioteknologi & SDG Pertanian – Biologi Molekuler

Dr. Ir. Rubiyo, M.Si.
Balai Besar Pengkajian dan Pengembangan Teknologi Pertanian – Agronomi

Prof. Dr. Ir. Risfaheri, M.Si.
Balai Besar Pascapanen – Pascapanen Pertanian

Dr. Ir. Agus Wahyudi, M.S.
Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat – Agroekonomi

PENGANTAR EDITOR

Jurnal Tanaman Industri dan Penyegar sebagai media komunikasi penelitian Tanaman Industri dan Penyegar, menyajikan hasil-hasil penelitian di bidang pemuliaan dan bioteknologi, agronomi, fisiologi, ekologi, entomologi, fitopatologi serta sistem dan usaha agribisnis tanaman industri dan penyegar.

Volume 3 Nomor 2 ini menyajikan 7 artikel: 1 artikel karet di bidang agronomi, 3 artikel kakao di bidang kultur jaringan, agronomi, dan proteksi tanaman, 2 artikel kopi di bidang pascapanen dan genetika molekuler, serta 1 artikel teh di bidang pemuliaan tanaman.

Semoga Jurnal Tanaman Industri dan Penyegar ini dapat memberikan sumbangan yang nyata bagi pengembangan ilmu pengetahuan serta teknologi di bidang perkebunan.

Ketua Dewan Editor

ISSN: 2356-1297

Jurnal
TANAMAN INDUSTRI
DAN PENYEGAR
Journal of Industrial and Beverage Crops
Volume 3, Nomor 2, Juli 2016

UDC 663.933-15

Juniaty Towaha dan Rubiyo
Mutu Fisik Biji dan Citarasa Kopi Arabika Hasil Fermentasi Mikrob Probiotik Asal Pencernaan Luwak

J. TIDP 3(2), 61–70
Juli, 2016

Kopi luwak dihasilkan dari proses pencernaan biji kopi oleh mikrob yang berlangsung intensif dalam organ *intestinum tenue* (usus halus) dan *caecum* (usus buntu) luwak. Oleh karena itu, proses fermentasi biji kopi menggunakan mikrob probiotik yang diisolasi dari organ pencernaan hewan luwak diharapkan dapat menghasilkan produk kopi dengan citarasa dan aroma khas mirip kopi luwak. Tujuan penelitian adalah mengetahui pengaruh periode fermentasi terhadap mutu fisik biji dan profil citarasa kopi Arabika probiotik. Penelitian dilaksanakan di Desa Belanga dan Belantih, Kecamatan Kintamani, Kabupaten Bangli, laboratorium BPTP Bali, laboratorium PPKKI Jember, dan laboratorium Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian Bogor, mulai bulan Juni sampai Desember 2013. Fermentasi dilakukan dalam 2 tahap: (1) menggunakan mikrob probiotik yang diisolasi dari *intestum tenue* luwak dan (2) menggunakan mikrob probiotik yang diisolasi dari *caecum* luwak. Perlakuan disusun sebagai berikut: P1 = fermentasi tahap I dan II, masing-masing selama 4 hari, P2 = fermentasi tahap I dan II, masing-masing selama 5 hari, P3 = fermentasi tahap I dan II, masing-masing selama 6 hari, P4 = fermentasi tahap I dan II, masing-masing selama 7 hari, dan sebagai pembanding P5 = biji kopi luwak asli dari pembudidaya luwak. Hasil penelitian menunjukkan bahwa biji kopi Arabika probiotik mempunyai mutu fisik yang cukup baik dan sesuai dengan spesifikasi SNI 01-2907-2008. Mutu citarasa terbaik diperoleh pada 2 tahap fermentasi masing-masing selama 6 dan 7 hari dengan total skor 81,44 dan 80,91 sehingga dapat digolongkan sebagai kopi spesialti. Mutu tersebut lebih baik dibandingkan dengan kopi asli dari pembudidaya luwak.

Kata kunci: Kopi Arabika, citarasa, fermentasi, mikrob probiotik, pencernaan luwak

UDC 633.74-315.22:602.72

Nur Ajijah dan RR. Sri Hartati
Pengaruh Sitokinin, Jenis Eksplan, dan Genotipe terhadap Embriogenesis Somatik Kakao

J. TIDP 3(2), 71–82
Juli, 2016

Informasi tentang pengaruh sitokinin terhadap pembentukan embrio somatik primer kakao (*Theobroma cacao* L.) serta interaksinya dengan genotipe dan jenis eksplan belum diketahui. Tujuan penelitian adalah mengevaluasi pengaruh sitokinin serta interaksinya dengan jenis eksplan dan genotipe terhadap pembentukan embrio somatik kakao. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Unit Pengembangan Benih Unggul Pertanian Balitbangtan, Bogor, mulai bulan April sampai Desember 2012, dilanjutkan Oktober 2014 sampai Februari 2016. Tiga jenis sitokinin pada media induksi kalus primer, yaitu kinetin (0,58; 1,16; dan 2,32 µM), thidiazuron (0,01; 0,02; dan 0,04 µM) dan benzylaminopurin (0,55; 1,11; dan 2,22 µM) dikombinasikan dengan 2,4-D 9 µM diuji efektivitasnya dalam menginduksi embriogenesis somatik dari eksplan mahkota bunga dan staminoid kakao aksesi Cimanggu 1. Selanjutnya, tiga taraf kinetin (0,58; 1,16; dan 2,32 µM) juga dikombinasikan dengan 2,4-D 9 µM diuji pengaruhnya terhadap pembentukan embrio somatik dari eksplan mahkota bunga dan staminoid 3 genotipe kakao (Sulawesi 02, ICCRI 04, dan Cimanggu 3). Hasil penelitian menunjukkan kinetin 2,32 µM dan penggunaan eksplan staminoid lebih efektif untuk menginduksi embriogenesis somatik kakao aksesi Cimanggu 1 (7% dengan 0,23 embrio/eksplan). Terdapat interaksi antara taraf kinetin dengan jenis eksplan dan genotipe terhadap persentase eksplan membentuk embrio umur 12 minggu setelah kultur. Persentase pembentukan embrio somatik yang paling tinggi ditunjukkan oleh klon ICCRI 04 dengan penggunaan eksplan mahkota bunga dan taraf kinetin 1,16 µM (31,85%), namun tidak berbeda nyata dengan taraf kinetin 2,23 µM (25,55%). Pembentukan embrio somatik primer kakao ditentukan oleh jenis dan taraf sitokinin, jenis eksplan, serta genotipe.

Kata kunci: *Theobroma cacao* L., sitokinin, genotipe, embrio somatik, jenis eksplan

ISSN: 2356-1297

Jurnal
TANAMAN INDUSTRI
DAN PENYEGAR
Journal of Industrial and Beverage Crops
Volume 3, Nomor 2, Juli 2016

UDC 633.73:577.21

Dani, Nur Kholilatul Izzah, dan Enny Randriani

Variasi Genetik dalam Populasi Kultivar Kopi Arabika Berbuah Kuning di Lahan Petani Berdasarkan Penanda SSRs

J. TIDP 3(2), 83–94
Juli, 2016

Identifikasi keragaman genetik dalam kultivar kopi Arabika berbuah kuning berdasarkan karakter morfologi tanaman dihadapkan pada kendala sulitnya menemukan kondisi lingkungan yang seragam di lahan petani. Oleh sebab itu, diperlukan pendekatan lain yang tidak dipengaruhi perbedaan kondisi lingkungan, yaitu berdasarkan polimorfisme DNA. Tujuan penelitian adalah menganalisis variasi genetik dalam populasi kultivar kopi Arabika berbuah kuning berdasarkan penanda SSRs. Penelitian dilakukan di Laboratorium Terpadu Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar (Balittri), Sukabumi, mulai bulan April sampai Mei 2015. Sampel daun untuk ekstraksi DNA diambil dari kultivar kopi Arabika berbuah kuning (AGK-1) dan dua kultivar berbuah merah sebagai pembanding, yaitu ABP-1 (tipe katai) dan *Typica* (tipe tinggi). Kultivar AGK-1 dan ABP-1 masing-masing terdiri dari 17 dan 5 nomor individu, sedangkan kultivar *Typica* terdiri dari 3 individu. Amplifikasi PCR menggunakan 12 primer SSR yang telah dirancang untuk mengidentifikasi keragaman genetik kopi Arabika. Empat primer SSR di antaranya, yaitu M24, SSRCa052, M32, dan M42, menghasilkan pola pita DNA polimorfik. Data biner diolah menggunakan program NTSYS-PC versi 2.1. Pengelompokan genotipe berdasarkan matriks kesamaan genetik menggunakan *unweighted pair group method with arithmetic average* (UPGMA). Hasil analisis menunjukkan adanya variasi genetik antar nomor/individu kultivar AGK-1 sehingga membentuk tiga klaster pada nilai kesamaan genetik 67%. Salah satu klaster menunjukkan kedekatan jarak genetik antara beberapa individu dalam populasi kultivar AGK-1 dengan kultivar *Typica*. Dua klaster lainnya menggambarkan kemiripan genetik yang tinggi antara kultivar AGK-1 dengan kultivar ABP-1. Dugaan adanya aliran gen antar kultivar dan atau residu heterozigositas dalam populasi kultivar AGK-1 di lahan petani perlu dibuktikan lebih lanjut.

Kata kunci: Kopi Arabika, intra kultivar, buah kuning, keragaman genetik, SSRs

UDC 633.912.1-153.01: 681.7.057

Saefudin dan Edi Wardiana

Pengaruh Penyimpanan dan Pengemasan Batang Entres terhadap Keberhasilan Okulasi Hijau Tanaman Karet

J. TIDP 3(2), 95–102
Juli, 2016

Jarak yang jauh antara kebun entres dengan kebun produksi menyebabkan batang entres untuk okulasi hijau tanaman karet memerlukan proses penyimpanan dan pengangkutan. Oleh karena itu, teknologi penyimpanan dan pengemasan batang entres karet perlu diketahui. Tujuan penelitian adalah mengetahui pengaruh periode penyimpanan dan jenis pengemasan batang entres terhadap keberhasilan dan pertumbuhan okulasi hijau tanaman karet. Penelitian dilakukan di Kebun Percobaan Pakuwon, Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar (Balittri), Sukabumi, mulai bulan Februari sampai Mei 2015. Rancangan yang digunakan adalah petak terpisah yang diulang 3 kali. Sebagai petak utama adalah 3 periode penyimpanan batang entres, yaitu 3, 4, dan 5 hari setelah panen. Sebagai anak petak adalah 4 teknik pengemasan batang entres: (1) kotak kayu dengan media 5 lapis kertas koran yang dibasahi dan batang entres tanpa kantong plastik, (2) kotak kayu dengan media serbuk gergaji yang dibasahi dan batang entres tanpa kantong plastik, (3) kotak kayu dengan media 5 lapis kertas koran dibasahi dan batang entres dibungkus kantong plastik, dan (4) kotak kayu dengan media serbuk gergaji dibasahi dan batang entres dibungkus kantong plastik. Peubah yang diamati adalah tingkat keberhasilan okulasi dan pertumbuhan tunas hasil okulasi. Hasil penelitian menunjukkan tingkat keberhasilan serta pertumbuhan tunas okulasi hijau dari batang entres karet yang disimpan selama 4 hari tidak berbeda nyata dengan yang disimpan selama 3 hari. Teknik pengemasan paling baik adalah berupa kotak kayu dengan media 5 lapis kertas koran atau serbuk gergaji yang dibasahi dan batang entres dibungkus kantong plastik.

Kata kunci: Karet, okulasi hijau, penyimpanan, pengemasan, batang entres

ISSN: 2356-1297

Jurnal
TANAMAN INDUSTRI
DAN PENYEGAR
Journal of Industrial and Beverage Crops
Volume 3, Nomor 2, Juli 2016

UDC 633.72:575.116

Vitria Puspitasari Rahadi, Heri Syahrian Khomaeni, Liberty Chaidir, dan Budi Martono

Keragaman dan Kekerabatan Genetik Koleksi Plasma Nutfah Teh Berdasarkan Karakter Morfologi Daun dan Komponen Hasil

J. TIDP 3(2), 103–108
Juli, 2016

Teh (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) merupakan tanaman menyerbuk silang dan memiliki sifat *self incompatible*. Upaya perakitan varietas unggul melalui persilangan buatan memerlukan informasi tingkat kekerabatan antar klon sebagai acuan dalam memilih tetua. Tujuan penelitian adalah mengetahui keragaman dan tingkat kekerabatan 49 aksesi koleksi plasma nutfah teh berdasarkan karakter morfologi daun dan komponen hasil tanaman. Penelitian dilaksanakan di KP Pasir Sarongge, Kabupaten Cianjur, Jawa Barat, mulai bulan April sampai November 2015. Karakter morfologi meliputi panjang dan lebar daun, luas daun, sudut daun, jumlah tulang daun, dan panjang ruas antara daun ke–1 dengan ke–2. Komponen hasil meliputi jumlah peko, bobot peko (p+3), jumlah pucuk burung, bobot pucuk burung (b+1), dan hasil. Data hasil pengamatan digunakan untuk analisis deskriptif dan *unweighted pair group method with arithmetic average* (UPGMA) dengan matriks kesamaan menggunakan software XL-STAT versi 2009 hingga menghasilkan dendrogram antar aksesi plasma nutfah teh. Hasil penelitian menunjukkan 49 klon koleksi plasma nutfah teh yang dievaluasi memiliki keragaman pada karakter hasil, luas daun, jumlah pucuk burung, dan jumlah peko dengan nilai koefisien keragaman 27,77%–51,83%. Hasil dendrogram terbagi ke dalam 4 kelompok. Kelompok I, 34 klon dengan karakteristik morfologi mendekati tipe sinensis, berdaun kecil, dan produktivitas rendah. Kelompok II terdiri dari 12 klon dengan karakteristik morfologi daun dan produktivitas tinggi mendekati tipe assamica. Kelompok III dan IV, masing-masing 1 klon bertipe assamica dengan ciri memiliki daun lebar. Tingkat kekerabatan paling jauh adalah antara kelompok I dengan II (55,59%), sedangkan paling dekat antara kelompok III dan IV (5,76%).

Kata kunci: Teh, plasma nutfah, keragaman, kekerabatan

UDC 633.74-315.22-138.162

Bambang Eka Tjahjana dan Yulius Ferry

Pengujian Klon Batang Atas dan Dosis Pupuk NPK Pada Sambung Samping Kakao Rakyat

J. TIDP 3(2), 109–116
Juli, 2016

Produktivitas kakao di Indonesia masih rendah, antara lain disebabkan umur tanaman yang sudah tua. Program peremajaan kakao memerlukan biaya mahal dan waktu yang lama sehingga perlu alternatif yang lebih murah dan cepat, yaitu program rehabilitasi dengan cara sambung samping menggunakan batang atas dari klon unggul. Tujuan penelitian adalah mengetahui pengaruh sepuluh klon kakao sebagai batang atas dan dosis pupuk terhadap sambung samping pertanaman kakao rakyat. Penelitian dilaksanakan pada kebun rakyat di Kabupaten Way Kanan, Lampung Utara, mulai tahun 2012 sampai 2013. Penelitian menggunakan rancangan petak terpisah dengan tiga ulangan; petak utamanya adalah 10 klon unggul kakao sebagai batang atas, yaitu K_1 = PA150, K_2 = Sca12, K_3 = TSH 908, K_4 = ICS60, K_5 = TSH 858, K_6 = IMC67, K_7 = Sulawesi 02, K_8 = Jumbo, K_9 = Sulawesi 01, dan K_{10} = ICCRI 04. Sebagai anak petak adalah dosis pupuk NPK, yaitu P_0 = tanpa pupuk, P_1 = 300 g NPK, P_2 = 600 g NPK, dan P3 = 300 g NPK + 100 g mikoriza. Setiap unit percobaan terdiri dari 6 tanaman. Peubah yang diamati meliputi tingkat keberhasilan penyambungan serta pertumbuhan panjang tunas dan diameter batang tunas. Hasil penelitian menunjukkan tingkat keberhasilan dan pertumbuhan tunas hasil sambung samping yang terbaik untuk kakao rakyat di Kabupaten Way Kanan, Lampung Utara, adalah dengan menggunakan batang atas klon TSH 908 dan TSH 858. Pupuk NPK yang optimal untuk sambung samping tersebut adalah 600 g/pohon/tahun dan 300 g/pohon/tahun ditambah 100 g mikoriza/pohon.

Kata kunci: Kakao, rehabilitasi, klon unggul, dosis pupuk, sambung samping

ISSN: 2356-1297

Jurnal
TANAMAN INDUSTRI
DAN PENYEGAR
Journal of Industrial and Beverage Crops
Volume 3, Nomor 2, Juli 2016

UDC 632.936.3-134.8

Samsudin, Funny Soesanthy, dan Syafaruddin

Aktivitas Repelensi dan Insektisidal Beberapa Ekstrak dan Minyak Nabati terhadap Hama Gudang *Ephestia cautella*

J. TIDP 3(2), 117–126
Juli, 2016

Ephestia cautella merupakan salah satu jenis hama gudang yang menyebabkan penurunan kualitas biji kakao. Pengendalian hama ini menggunakan insektisida kimia tidak dianjurkan karena berbahaya bagi lingkungan dan kesehatan konsumen. Tujuan penelitian adalah menguji aktivitas repelensi dan insektisidal dari beberapa jenis ekstrak dan minyak nabati terhadap larva *E. cautella*. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Proteksi Tanaman, Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar (Balittri), mulai bulan Maret sampai November 2012. Bahan nabati yang digunakan adalah ekstrak air dari daun *Ageratum conyzoides*, biji *Azadirachta indica*, dan umbi *Allium sativum*, serta minyak dari *Reutalis trisperma*, *Syzygium aromaticum*, dan *Andropogon nardus* dengan konsentrasi masing-masing 0,5%. Serangga uji yang digunakan adalah larva instar ke-3 hasil perbanyakan di laboratorium. Uji pendahuluan terhadap aktivitas repelensi menggunakan metode banyak pilihan (*multiple-choice*), sedangkan uji lanjutan menggunakan metode dua pilihan (*dual-choice*) dengan parameter jumlah larva yang menetap pada masing-masing perlakuan sampai 72 jam setelah perlakuan. Uji aktivitas insektisidal menggunakan metode residual pada pakan pengganti dengan menghitung tingkat mortalitas serangga uji. Pengamatan dilakukan pada 24, 48, dan 72 jam setelah perlakuan. Hasil penelitian menunjukkan persentase repelensi ekstrak air dari umbi *A. sativum* dan daun *A. conyzoides* terhadap larva *E. cautella* tergolong tinggi, yaitu masing-masing 81,33% dan 78,67%. Dengan demikian, kedua ekstrak nabati tersebut berpotensi menjadi bahan pelindung biji kakao dari serangan hama gudang *E. cautella*. Ekstrak dari biji *A. Indica* dan umbi *A. sativum* serta minyak dari *R. trisperma* dan *S. aromaticum* menunjukkan indikasi bersifat insektisidal yang mampu mematikan larva *E. cautella*.

Kata kunci: *Ephestia cautella*, hama gudang, repelensi, insektisidal

ISSN: 2356-1297

Jurnal
TANAMAN INDUSTRI
DAN PENYEGAR
Journal of Industrial and Beverage Crops
Volume 3, Nomor 2, Juli 2016

UDC 663.933-15

Juniaty Towaha and Rubiyo

Physical Quality and Flavor of Arabica Coffee Beans Fermented by Probiotic Microbes From Civet Digestive System

J. TIDP 3(2), 61–70
July, 2016

Civet coffee is produced through microbial digestion inside the civet's tenue intestinal and caecum. Therefore, fermented coffee using probiotic microbes isolated from the civet digestive organs presumably will produce coffee with a distinctive flavor and aroma, which is similar to civet coffee. The research aimed to determine the effect of the fermentation period on physical quality of beans and flavor profile of probiotics Arabica coffee. The research was conducted at Belanga and Belantih Village, Kintamani District, Bangli Regency, laboratory of Assessment Institute for Agricultural Technology (AIAT) Bali, laboratory of Indonesian Coffee and Cocoa Research Institute Jember, and laboratory of Indonesian Center for Agricultural Postharvest Research and Development Bogor, from June to December 2013. Fermentation was carried out in 2 phases: (1) fermentation using probiotic microbes isolated from civet's intestum tenue, (II) fermentation using probiotic microbes isolated from civet's caecum. The treatments were arranged as follows: P1 = fermentation at phases I and II, each for 4 days, P2 = fermentation at phases I and II, each for 5 days, P3 = fermentation at phases I and II, each for 6 days, P4 = fermentation at phases I and II, each for 7 days. The result showed that probiotics Arabica coffee has a reasonably good physical quality and met the requirements of SNI 01-2907-2008. The best flavor was obtained in 2 fermentation phases, each for 6 and 7 days with a total score of 81.44 and 80.91, respectively, which then classified as specialty coffee. The qualities shown are better compared to original Arabica civet coffee.

Keywords: *Arabica coffee, flavor, fermentation, microbial probiotic, civet digestion*

UDC 633.74-315.22:602.72

Nur Ajijah and RR. Sri Hartati

The Effect of Cytokinins, Explant Types, and Genotypes on Cacao Somatic Embryogenesis

J. TIDP 3(2), 71–82
July, 2016

*Information on the effect of cytokinins on cacao (*Theobroma cacao *L.) primary somatic embryogenesis and its interaction with explant types and genotypes is not yet known. This study aimed to evaluate the effect of cytokinins and its interaction with explant types and genotypes on cacao somatic embryogenesis. The study was conducted at tissue culture laboratory of IAARD, Bogor from April until December 2012 and October 2014 until February 2016. Three types of cytokinins i.e. kinetin (0.58, 1.16, and 2.32 μM), thidiazuron (0.01, 0.02, and 0.04 μM) and benzylaminopurine (0.55, 1.11, and 2.22 μM) in combination with 9 μM 2,4-D were tested for their effectiveness in inducing somatic embryogenesis from petals and staminoid explants of Cimanggu 1 genotype. Furthermore, three levels of kinetin (0.58, 1.16, and 2.32 μM) also in combination with 9 μM 2,4-D were evaluated for their influences on the somatic embryogenesis from petals and staminoid explants of three cacao genotypes i.e. Sulawesi 02, ICCRI 04 and Cimanggu 3. The result demonstrated that 2.32 μM kinetin and staminoids explant were more effective to induce cacao somatic embryogenesis of Cimanggu 1 genotype (7%, 0.23 embryos/explant). Additionally, there were interaction effects between the level of kinetin with explant types and genotype on the percentage of explants forming embryo at 12 weeks after culture. The highest percentage of somatic embryo formation was shown by ICCRI 04 genotype with the use of petals explant and a kinetin level of 1.16 μM (31.85%), but not significantly different from the level of kinetin 2.23 μM (25.55%). The formation of primary somatic embryos of cacao is largely determined by the type and level of cytokinins, type of explant, and genotype.*

Keywords: Theobroma cacao *L., cytokinins, genotypes, somatic embryos, explants types*

ISSN: 2356-1297

Jurnal
TANAMAN INDUSTRI
DAN PENYEGAR
Journal of Industrial and Beverage Crops
Volume 3, Nomor 2, Juli 2016

UDC 633.73:577.21

Dani, Nur Kholilatul Izzah, and Enny Randriani

Genetic Variation Within Population of Yellow-Berried Arabica Coffee Cultivars at Farmers Field Based on SSRs Markers

J. TIDP 3(2), 83–94
July, 2016

Identification of the genetic diversity within populations of yellow-berried Arabica coffee cultivar based on morphological characters faced an obstacle in finding identical environmental conditions at farmers field. Therefore, an approach which is not influenced by differences in environmental conditions is required, for instance based on DNA polymorphism. The research aimed to analyze genetic variation within populations of yellow-berried Arabica coffee cultivar based on SSRs markers. The research was conducted in the Integrated Laboratory, Indonesian Industrial and Beverage Crops Research Institute, Sukabumi, from April until June 2015. The leaf samples for DNA extraction were obtained from yellow-berried Arabica coffee cultivar (AGK-1) and two red-berried cultivars as controls, namely ABP-1 (dwarf type) and Typica (tall type). AGK-1 and ABP-1 cultivars consisted of 17 and 5 individual numbers, respectively, whereas Typica cultivar comprised three individuals. PCR amplification was carried out using 12 SSR primers. Four primers (M24, SSRCa052, M32, and M42) produced polymorphic band. The binary data obtained in this research was subsequently processed using NTSYS-PC program version 2.1. The genotypes were grouped based on a genetic similarity matrix using the unweighted pair group method arithmetic mean (UPGMA). The result showed the existence of genetic variation among individual of AGK-1 cultivars, which forming three clusters at the genetic similarity value of 67%. One cluster exhibited close genetic relationships between some individuals within the population of AGK-1 cultivar and Typica cultivar. Meanwhile, the other two clusters showed high genetic similarity between AGK-1 cultivar and ABP-1 cultivar. The result demonstrated the possibility of gene flow between genotypes or residual heterozygosity within the population of AGK-1 cultivar at farmers field, which required a further study.

Keywords: *Arabica coffee, intra cultivar, yellow berry, genetic variability, SSRs*

UDC 633.912.1-153.01: 681.7.057

Saefudin and Edi Wardiana

Effect of Storing and Packaging of Scion Sticks on The Success of Rubber Green Budding

J. TIDP 3(2), 95–102
July, 2016

The long distance between scion and production garden requires storage and transport processes for the scion that are needed in rubber green budding. Therefore, information about the rubber scion storage and packaging technology need to be known. This study was aimed to determine the effect of storage period and packaging types of scion on the success and growth of rubber green budding. The study was conducted at Pakuwon Experimental Station of Indonesian Industrial and Beverage Crops Research Institute, Sukabumi, from February until May 2015. The split plot design with three replications was used in this study. The main plot factor was three levels of scion storage periods, i.e. 3, 4, and 5 days after harvesting the scion. The subplot factor was the 4 techniques of scion packaging: (1) the wood box with five layers of moistened newsprint paper, (2) the wood box with moistened sawdust, (3) the wood box with five layers of moistened newsprint paper and scion wrapped in plastic bags, and (4) the wood box with moistened sawdust and scion wrapped in plastic bags. The variables measured were the success level and bud growth of rubber green budding. The results showed that the success level and growth of rubber green budding from scion stored for 4 days are not significantly different compared to those that stored for 3 days. Meanwhile, the best technique of scion packaging is the woodbox with five layers of moistened newsprint or moistened sawdust medium and the scion wrapped in plastic bags.

Keywords: *Rubber, green budding, storage, packaging, scion sticks*

ISSN: 2356-1297

Jurnal
TANAMAN INDUSTRI
DAN PENYEGAR
Journal of Industrial and Beverage Crops
Volume 3, Nomor 2, Juli 2016

UDC 633.72:575.116

Vitria Puspitasari Rahadi, Heri Syahrian Khomaeni, Liberty Chaidir, and Budi Martono

Genetic Diversity and Relationships of Tea Germplasm Collection Based on Leaf Morphology Character and Yield Components

J. TIDP 3(2), 103–108
July, 2016

*Tea (*Camellia sinensis *(L.) O. Kuntze) is a cross-pollinated plant that has self-incompatible character. Assembly of superior clones through artificial pollination requires information of genetic relationships between accessions as a reference for parental lines selection. The study was aimed to determine the genetic diversity and relationships of 49 tea clones based on leaf morphology and yield components. The research was conducted at Pasir Sarongge experimental garden, Cianjur, West Java, from April to November 2015. The observed morphological characters were leaf length and width, leaf area, leaf angle, number of vein leaf, and internode between first and second leaves. Meanwhile, yield components were pecco number, pecco weight (p+3), banji bud number, banji bud weigth (b+1), and yield. The data were then used for descriptive analysis and grouping using UPGMA method based on dissimilarity matrix by XL-STAT software version 2009. The research showed that 49 clones observed here have variability on yield, leaf area, number of banji bud, and pecco number with coefficient of diversity 27.77%–51.83%. On the other hand, result of cluster analysis divided tea clones into four groups. The first group consisted of 34 clones with morphological characteristics similar to sinensis type (narrow leaves and low productivity). Group II comprised 12 clones with morphological characteristics (wide leaf) and productivity (high) similar to assamica type. Group III and IV, each contained one clone, and have similarity to assamica. The most far genetic relationships was found between group I and II (55.59%), while the closest one observed between group III and IV (5.76%).*

Keywords: *Tea, germplasm, diversity, genetic relationship*

UDC 633.74-315.22-138.162

Bambang Eka Tjahjana and Yulius Ferry

Evaluation of Clones For Scion and Dosage of NPK Fertilizer on Side Grafting of Smallholder Cacao

J. TIDP 3(2), 109–116
July, 2016

The productivity of cacao in Indonesia is still low, as most of cacao plants in farmers' plantation have grown old. Rejuvenation of old cacao plants needs a lot of cost and time, therefore, it requires a cheaper and faster alternative. One of the alternatives is rehabilitation through side grafting using scion from superior clones. The study was aimed to know the effect of ten cacao clones as scion and dosage of NPK fertilizer for side grafting of cacao plants. The research was conducted in cacao plantation, Way Kanan district, North Lampung, from 2012 to 2013. The split plot design with three replications was used in this study; with the main plot factor was the 10 cacao superior clones as scion i.e. K_1 = PA150, K_2 = Sca12, K_3 = TSH 908, K_4 = ICS60, K_5 = TSH 858, K_6 = IMC67, K_7 = Sulawesi 02, K_8 = Jumbo, K_9 = Sulawesi 01, and K_{10} = ICCRI 04. The subplot factor was the NPK fertilizer dosage, i.e. P_0 = without fertilizer, P_1 = 300 g NPK, P_2 = 600 g NPK, and P3 = 300 g NPK + 100 g mycorrhiza. Each of the expeimental unit consisted of 6 plants. The variables observed were the success level of side grafting, growth of shoot length and diameter of shoot stem. The results showed that the best success level and growth of shoot length of side grafting for cacao plantation in Way Kanan district, North Lampung was using scion obtained from TSH 908 and TSH 858 clones. Meanwhile, the optimal dosage of NPK fertilizer was 600 g/plant/year and 300 g/plant/year + 100 g mycorrhizal/plant.

Keywords: *Cacao, rehabilitation, superior clones, fertilizer dosage, side grafting*

ISSN: 2356-1297

Jurnal
TANAMAN INDUSTRI
DAN PENYEGAR
Journal of Industrial and Beverage Crops
Volume 3, Nomor 2, Juli 2016

UDC 632.936.3-134.8

Samsudin, Funny Soesanthy, and Syafaruddin

***Repellency and Insecticidal Activity of Some Botanical Extracts and Oils on Storage Pest of* Ephestia cautella**

J. TIDP 3(2), 117–126
July, 2016

Ephestia cautella *is one type of storage pests that causes a decrease in cocoa bean quality. Control of this pest using chemical insecticides is not recommended because it is harmful to the environment and consumer health. The research aimed to examine the repellency and insecticidal activity of several types of extract and botanical oil against* E. cautella *larvae. The research was conducted in the Plant Protection Laboratory, Indonesian Industrial and Beverage Crops Research Institute, from March to November 2012. Botanical materials used were water extracts from* Ageratum conyzoides *leaves,* Azadirachta indica *seeds, and* Allium sativum *tubers, as well as oil from* Reutalis trisperma, Syzygium aromaticum, *and* Andropogon nardus, *with respective concentration of 0.5%. The insects test used was the 3rd instar larvae generated in the laboratory. Preliminary testing of the repellency activity was performed used the multiple-choice method, while subsequent testing used the dual-choice method with the parameters of larvae number remains in each treatment until 72 hours. The insecticidal activity was conducted using residual method on the feed substitute, by calculating mortality rate of the test insects. Observations were made at 24, 48, and 72 hours after treatment. The results showed that water extract from* A. sativum *bulbs and* A. conyzoides *leaves have high repellency percentage on the* E. cautella *larvae, i.e. of 81.33% and 78.67%, respectively. Thus, these two vegetable extracts have the potential to be used as cocoa bean protectant from storage pest attacks. The extracts from* A. indica *seed,* A. sativum *bulbs, as well as oil from* R. trisperma *and* S. aromaticum *showed insecticidal properties that are able to kill* E. cautella *larvae.*

Keywords: Ephestia cautella, *storage pest, repellency, insecticidal*

ISSN: 2356-1297

Jurnal TANAMAN INDUSTRI DAN PENYEGAR

Journal of Industrial and Beverage Crops

Volume 3, Nomor 2, Juli 2016

Mutu Fisik Biji dan Citarasa Kopi Arabika Hasil Fermentasi Mikrob Probiotik Asal Pencernaan Luwak 61-70
(Juniaty Towaha dan Rubiyo)

Pengaruh Sitokinin, Jenis Eksplan, dan Genotipe terhadap Embriogenesis Somatik Kakao 71-82
(Nur Ajijah dan RR. Sri Hartati)

Variasi Genetik dalam Populasi Kultivar Kopi Arabika Berbuah Kuning di Lahan Petani Berdasarkan Penanda SSRs 83-94
(Dani, Nur Kholilatul Izzah, dan Enny Randriani)

Pengaruh Penyimpanan dan Pengemasan Batang Entres terhadap Keberhasilan Okulasi Hijau Tanaman Karet 95-102
(Saefudin dan Edi Wardiana)

Keragaman dan Kekerabatan Genetik Koleksi Plasma Nutfah Teh Berdasarkan Karakter Morfologi Daun dan Komponen Hasil 103-108
(Vitria Puspitasari Rahadi, Heri Syahrian Khomaeni, Liberty Chaidir, dan Budi Martono)

Pengujian Klon Batang Atas dan Dosis Pupuk NPK Pada Sambung Samping Kakao Rakyat 109-116
(Bambang Eka Tjahjana dan Yulius Ferry)

Aktivitas Repelensi dan Insektisidal Beberapa Ekstrak dan Minyak Nabati terhadap Hama Gudang *Ephestia cautella* 117-126
(Samsudin, Funny Soesanthy, dan Syafaruddin)

PUSAT PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN PERKEBUNAN
Indonesian Center for Estate Crops Research and Development
Bogor, Indonesia

MUTU FISIK BIJI DAN CITARASA KOPI ARABIKA HASIL FERMENTASI MIKROB PROBIOTIK ASAL PENCERNAAN LUWAK

PHYSICAL QUALITY AND FLAVOR OF ARABICA COFFEE BEANS FERMENTED BY PROBIOTIC MICROBES FROM CIVET DIGESTIVE SYSTEM

* Juniaty Towaha[1)] dan Rubiyo[2)]

Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar[1)]
Jalan Raya Pakuwon Km 2 Parungkuda, Sukabumi 43357 Indonesia
*juniaty_tmunir@yahoo.com
Balai Besar Pengkajian dan Pengembangan Teknologi Pertanian[2)]
Jalan Tentara Pelajar No.10, Bogor 16114 Indonesia
rubiyo_rb@yahoo.co.id

(Tanggal diterima: 27 April 2016, direvisi: 20 Mei 2016, disetujui terbit: 1 Juli 2016)

ABSTRAK

Kopi luwak dihasilkan dari proses pencernaan biji kopi oleh mikrob yang berlangsung intensif dalam organ *intestinum tenue* (usus halus) dan *caecum* (usus buntu) luwak. Oleh karena itu, proses fermentasi biji kopi menggunakan mikrob probiotik yang diisolasi dari organ pencernaan hewan luwak diharapkan dapat menghasilkan produk kopi dengan citarasa dan aroma khas mirip kopi luwak. Tujuan penelitian adalah mengetahui pengaruh periode fermentasi terhadap mutu fisik biji dan profil citarasa kopi Arabika probiotik. Penelitian dilaksanakan di Desa Belanga dan Belantih, Kecamatan Kintamani, Kabupaten Bangli, laboratorium BPTP Bali, laboratorium PPKKI Jember, dan laboratorium Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian Bogor, mulai bulan Juni sampai Desember 2013. Fermentasi dilakukan dalam 2 tahap: (1) menggunakan mikrob probiotik yang diisolasi dari *intestum tenue* luwak dan (2) menggunakan mikrob probiotik yang diisolasi dari *caecum* luwak. Perlakuan disusun sebagai berikut: P1 = fermentasi tahap I dan II, masing-masing selama 4 hari, P2 = fermentasi tahap I dan II, masing-masing selama 5 hari, P3 = fermentasi tahap I dan II, masing-masing selama 6 hari, P4 = fermentasi tahap I dan II, masing-masing selama 7 hari, dan sebagai pembanding P5 = biji kopi luwak asli dari pembudidaya luwak. Hasil penelitian menunjukkan bahwa biji kopi Arabika probiotik mempunyai mutu fisik yang cukup baik dan sesuai dengan spesifikasi SNI 01-2907-2008. Mutu citarasa terbaik diperoleh pada 2 tahap fermentasi masing-masing selama 6 dan 7 hari dengan total skor 81,44 dan 80,91 sehingga dapat digolongkan sebagai kopi spesialti. Mutu tersebut lebih baik dibandingkan dengan kopi asli dari pembudidaya luwak.

Kata kunci: Kopi Arabika, citarasa, fermentasi, mikrob probiotik, pencernaan luwak

ABSTRACT

Civet coffee is produced through microbial digestion inside the civet's tenue intestinal and caecum. Therefore, fermented coffee using probiotic microbes isolated from the civet digestive organs presumably will produce coffee with a distinctive flavor and aroma, which is similar to civet coffee. The research aimed to determine the effect of the fermentation period on physical quality of beans and flavor profile of probiotics Arabica coffee. The research was conducted at Belanga and Belantih Village, Kintamani District, Bangli Regency, laboratory of Assessment Institute for Agricultural Technology (AIAT) Bali, laboratory of Indonesian Coffee and Cocoa Research Institute Jember, and laboratory of Indonesian Center for Agricultural Postharvest Research and Development Bogor, from June to December 2013. Fermentation was carried out in 2 phases: (1) fermentation using probiotic microbes isolated from civet's intestum tenue, (II) fermentation using probiotic microbes isolated from civet's caecum. The treatments were arranged as follows: P1 = fermentation at phases I and II, each for 4 days, P2 = fermentation at phases I and II, each for 5 days, P3 = fermentation at phases I and II, each for 6 days, P4 = fermentation at phases I and II, each for 7 days. The result showed that probiotics Arabica coffee has a reasonably good physical quality and met the requirements of SNI 01-2907-2008. The best flavor was obtained in 2 fermentation phases, each for 6 and 7 days with a total score of 81.44 and 80.91, respectively, which then classified as specialty coffee. The qualities shown are better compared to original Arabica civet coffee.

Keywords: *Arabica coffee, flavor, fermentation, microbial probiotic, civet digestion*

PENDAHULUAN

Proses fermentasi merupakan salah satu tahapan pada pengolahan biji kopi secara basah. Proses tersebut tidak sekedar degradasi lapisan lendir yang tersisa di permukaan kulit tanduk, tetapi juga terjadi peristiwa kimiawi yang sangat berguna dalam pembentukan karakter citarasa, yaitu pembentukan senyawa prekursor citarasa, seperti asam organik, asam amino, dan gula reduksi (Avallone, Brillouet, Guyot, Olguin & Guiraud, 2002; Jackels & Jackels, 2005; Redgwell & Fischer, 2006; Lin, 2010). Oleh karena itu, proses fermentasi merupakan tahapan yang penting dalam pengolahan kopi secara basah, mengingat pengaruhnya yang positif bagi peningkatan citarasa (FAO, 2004; Mondello *et al.*, 2005; Singh & Singh, 2013; Correa *et al.*, 2014).

Kopi luwak (*civet coffee*) merupakan salah satu produk kopi khas Indonesia yang dihasilkan dari feses luwak (*Paradoxurus hermaphroditus*), setelah biji kopi mengalami proses fermentasi secara alami oleh mikrob dan enzim dalam sistem pencernaan luwak. Proses fermentasi alamiah dalam sistem pencernaan luwak memberikan perubahan komposisi kimia pada biji kopi yang mampu meningkatkan kualitas citarasa menjadi khas dan berbeda dengan kopi biasa (Marcone, 2004a; Marcone, 2004b; Mahendradatta, Zainal, Israyanti & Tawali, 2011; Panggabean, 2011; Yusianto, Ismayadi, Saryono, Nugroho & Mawardi, 2012a). Fermentasi biji kopi olah basah menggunakan mikrob probiotik yang diisolasi dari organ pencernaan luwak menghasilkan produk kopi yang memiliki citarasa dan aroma mendekati kopi luwak asli (Guntoro, 2010).

Proses pencernaan biji kopi oleh mikrob berlangsung intensif dalam organ *intestinum tenue* (usus halus) dan *caecum* (usus buntu) hewan luwak (Guntoro, 2010; Hill, Wyse, & Anderson, 2012). Proses fermentasi dalam sistem pencernaan luwak terjadi selama ± 12 jam pada tingkat suhu 35°C–37°C (Marcone, 2004a,b; Yusianto, Nugroho & Mawardi, 2012b; Hadipernata & Nugraha, 2012). Oleh karena itu, periode fermentasi diduga berpengaruh terhadap aktivitas mikrob probiotik. Penelitian bertujuan mengetahui pengaruh periode fermentasi terhadap mutu fisik biji dan profil citarasa kopi Arabika probiotik.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan mulai bulan Juni sampai Desember 2013. Kegiatan yang dilakukan meliputi panen dan seleksi buah kopi, pascapanen (pengupasan kulit, fermentasi, penjemuran, dan pembubukan), uji kualitas fisik, test citarasa (*cupping test*), dan analisis kandungan asam organik. Kegiatan panen dan seleksi bahan baku biji kopi gelondongan dilakukan di Desa Belanga dan Belantih, Kecamatan Kintamani, Kabupaten Bangli, Provinsi Bali. Pengupasan kulit buah, fermentasi hingga pengupasan kulit ari, dan pengukuran rendemen biji kopi dilakukan di laboratorium Balai Pengkajian Teknologi Pertanian (BPTP) Bali. Uji kualitas fisik biji beras dan citarasa kopi dilakukan di laboratorium Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia (PPPKI), Jember. Analisis asam organik dilakukan di laboratorium Balai Besar Pasca Panen Hasil Pertanian, Bogor.

Proses Fermentasi

Buah kopi Arabika varietas Kopyol yang telah berwarna merah dipanen dan disortasi secara manual dengan ketat untuk memisahkan buah yang berwarna hijau dan hitam, kemudian dikupas kulitnya menggunakan mesin *pulper*. Biji kopi basah yang telah terpisah dari kulit buah (paling lama 2 jam setelah pengupasan) diberi perlakuan fermentasi menggunakan mikrob probiotik. Fermentasi dilakukan dalam 2 tahap, yaitu tahap I, menggunakan mikrob probiotik yang diisolasi dari usus halus luwak, dan tahap II, menggunakan mikrob probiotik yang diisolasi dari usus buntu luwak.

Perlakuan yang dicoba sebagai berikut: P1 = biji kopi basah difermentasi tahap I dan II, masing-masing selama 4 hari; P2 = biji kopi basah difermentasi tahap I dan II, masing-masing selama 5 hari; P3 = biji kopi basah difermentasi tahap I dan II, masing-masing selama 6 hari; P4 = biji kopi basah difermentasi tahap I dan II, masing-masing selama 7 hari; dan P5 = biji kopi luwak asli dari pembudidaya luwak (sebagai pembanding). Setiap perlakuan diulang tiga kali dan setiap satuan perlakuan menggunakan 10 kg kopi hasil proses *pulper* secara basah.

Setelah proses fermentasi berakhir, biji kopi yang masih berkulit tanduk dicuci sampai bersih, kemudian dijemur hingga kering (kadar air <12%). Kulit tanduk pada biji kopi kemudian dikupas menggunakan mesin *huller* hingga dihasilkan kopi beras (*green bean*). Tahap selanjutnya adalah penyangraian dan penggilingan biji kopi hingga berbentuk serbuk atau yang dikenal sebagai kopi bubuk.

Uji Rendemen

Pengukuran rendemen dilakukan terhadap biji kopi setelah perlakuan fermentasi probiotik, yaitu terhadap biji kopi dengan kulit tanduk (kopi gabah), biji kering tanpa kulit tanduk (kopi beras), biji kering sangrai, dan kopi bubuk. Untuk pengujian rendemen ini digunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan lima ulangan.

Uji Kualitas Fisik dan Citarasa

Biji kopi beras dari masing-masing perlakuan diuji kualitas fisiknya, meliputi kadar air, kadar kotoran, dan lolos ayak. Setelah disortasi menjadi mutu I sesuai SNI 01-2907-2008 (Badan Standardisasi Nasional [BSN], 2008), biji kopi kemudian disangrai menggunakan wadah sangrai tipe drum berputar. Setiap penyangraian menggunakan 120 g biji kopi sebagai contoh. Uji citarasa mengacu kepada standar pengujian dari *Specialty Coffee Association of America* (Lingle, 2001; SCAA, 2009a). Parameter yang diuji meliputi *aroma, flavor, body, acidity, aftertaste, sweetness, balance, uniformity, clean cup*, dan *overall*. Skala parameter citarasa meliputi: 6,00 – <7,00 = bagus; 7,00 – <8,00 = sangat bagus; 8,00 – <9,00 = unggul; 9,00 – <10,00 = luar biasa; 10 = sempurna. Pengujian citarasa dilakukan oleh 3 orang panelis ahli citarasa kopi yang sudah terlatih.

Uji Kandungan Asam Organik

Analisis kandungan asam organik terhadap biji tanpa fermentasi, biji dengan fermentasi, dan biji kopi luwak asli menggunakan metode *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rendemen Biji Kopi Arabika Probiotik

Hasil analisis statistik pada Tabel 1 memperlihatkan bahwa perlakuan fermentasi probiotik terhadap biji kopi Arabika tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap rendemen biji kopi kering. Hasil tersebut sesuai dengan hasil penelitian Widyotomo & Yusianto (2013) yang menyatakan bahwa proses fermentasi tidak memberikan pengaruh nyata terhadap perubahan beberapa sifat fisik biji kopi.

Nilai rendemen biji gabah dan biji beras kopi Arabika hasil fermentasi probiotik masing-masing adalah 18,46%–18,79% dan 13,34%–13,51% (Tabel 1). Nilai tersebut tidak terpaut jauh dengan nilai rendemen biji gabah dan biji beras kopi luwak Arabika hasil budi daya, masing-masing 19,35% dan 14,54% (Hadipernata, Nugraha, & Tjahjohutomo, 2011).

Mutu Fisik Biji Kopi Arabika Probiotik

Pengamatan secara visual menunjukkan bahwa warna biji kopi semakin gelap dengan semakin lamanya waktu fermentasi. Hal ini menunjukkan bahwa penetrasi mikrob ke dalam biji kopi semakin kuat dengan semakin lamanya waktu fermentasi. Hasil ini sesuai dengan pernyataan Marcone (2004a) serta Hadipernata & Nugraha (2012) bahwa pada biji kopi luwak asli terjadi perubahan warna biji kopi menjadi lebih gelap setelah proses pencernaan dalam perut luwak.

Hasil pengujian menunjukkan kadar air biji kopi kering semua perlakuan <12,5% (Tabel 2) sehingga memenuhi spesifikasi persyaratan mutu SNI 01-2907-2008 (BSN, 2008). Begitu juga kadar kotoran dan lolos ayakan diameter 6,5 mm pada semua perlakuan memenuhi spesifikasi persyaratan mutu SNI 01-2907-2008 (BSN, 2008). Biji kopi lolos ayakan diameter 6,5 mm adalah 0% sehingga digolongkan berukuran sedang (BSN, 2008). Ukuran biji merupakan karakter penting dalam penentuan kualitas biji kopi dan sangat berpengaruh terhadap harga jualnya (Nugroho, Mawardi, Yusianto, & Arimersetiowati, 2011).

Tabel 1. Rendemen biji dan bubuk kering kopi Arabika hasil fermentasi probiotik
Table 1. The yield of dried beans and powder of Arabica coffee resulted from probiotic fermentation

Perlakuan	Rendemen			
	Biji gabah (%)	Biji beras (%)	Biji sangrai (%)	Kopi bubuk (%)
P1	18,79	13,51	10,90	9,81
P2	18,76	13,34	10,94	9,71
P3	18,46	13,34	10,80	9,74
P4	18,46	13,36	10,72	9,68
	tn	tn	tn	tn

Keterangan : P1 = fermentasi tahap I dan II, masing-masing selama 4 hari; P2 = fermentasi tahap I dan II, masing-masing selama 5 hari; P3 = fermentasi tahap I dan II, masing-masing selama 6 hari; P4 = fermentasi tahap I dan II, masing-masing selama 7 hari; tn = tidak nyata

Notes : P1 = fermented coffee for 4 days of phase I and II; P2 = fermented coffee for 5 days of phase I and II; P3 = fermented coffee for 6 days of phase I and II; P4 = fermented coffee for 7 days of phase I and II; tn = not significant

Tabel 2. Kualitas fisik biji kopi Arabika hasil fermentasi probiotik
Table 2. Physical quality of Arabica coffee beans resulted from probiotic fermentation

Parameter	P1	P2	P3	P4	P5
Kadar air (%)	8,0	7,9	8,5	9,7	12,3
Kadar kotoran (%)	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Lolos ayakan diameter 6,5 mm (%)	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

Keterangan : P1 = fermentasi tahap I dan II, masing-masing selama 4 hari; P2 = fermentasi tahap I dan II, masing-masing selama 5 hari; P3 = fermentasi tahap I dan II, masing-masing selama 6 hari; P4 = fermentasi tahap I dan II, masing-masing selama 7 hari; dan P5 = biji kopi luwak asli dari pembudidaya luwak

Notes : *P1 = fermented coffee for 4 days of phase I and II*; P2 *= fermented coffee for 5 days of phase I and II; P3 = fermented coffee for 6 days of phase I and II; P4 = fermented coffee for 7 days of phase I and II; and P5 = original civet coffee*

Biji kopi yang memiliki ukuran biji lebih kecil dihargai lebih rendah dibandingkan dengan yang berukuran lebih besar (Leroy *et al.*, 2006). Lebih lanjut, dikemukakan bahwa sebaran ukuran biji berperanan penting karena berhubungan dengan permintaan konsumen dan karakteristik pada industri hilir (Yusianto, Hulupi, Sulistyowati, Mawardi, & Ismayadi, 2005). Bahkan ukuran biji berpengaruh nyata terhadap susut sangrai, densitas kamba kopi sangrai, pH seduhan, keasaman total, dan karakteristik *body* seduhan (Sulistyowati, Sumartono, & Ismayadi, 1996).

Mutu Citarasa Seduhan

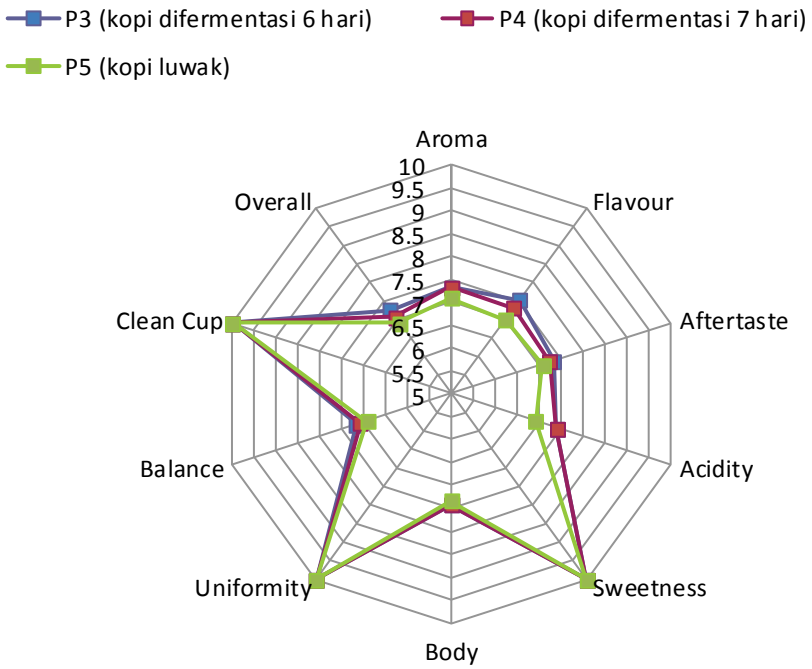
Hasil pengujian citarasa seduhan memperlihatkan bahwa perlakuan P3 dan P4 memiliki total skor masing-masing 81,44 dan 80,91, lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya, termasuk kopi luwak asli, yang hanya memiliki total skor <80 (Tabel 3, Gambar 1). Hal ini menunjukkan bahwa untuk menghasilkan kopi dengan citarasa terbaik, waktu fermentasi menggunakan mikrob probiotik pada tahap I dan II adalah masing-masing selama 6–7 hari. Total skor citarasa yang dihasilkan kedua perlakuan tersebut dapat dikategorikan sebagai kopi spesialti. SCAA (2009b; 2013) menentukan batasan kopi spesialti apabila total skor citarasa hasil *cupping test* >80,00.

Tabel 3. Skor *cupping test* kopi probiotik Arabika dibandingkan dengan kopi luwak Arabika
Table 3. Cupping test score of probiotics Arabica coffee compared with original civet Arabica coffee

Parameter	P1	P2	P3	P4	P5
Aroma	7,42	7,25	7,33	7,33	7,08
Flavor	7,17	6,58	7,52	7,33	7,00
Aftertaste	7,05	6,50	7,33	7,25	7,08
Acidity	6,92	6,58	7,42	7,42	6,92
Body	7,17	6,92	7,42	7,42	7,33
Uniformity	10,00	8,62	10,00	10,00	10,00
Balance	7,00	6,33	7,17	7,08	6,92
Clean Cup	10,00	8,67	10,00	10,00	10,00
Sweetness	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00
Overall	7,00	6,17	7,25	7,08	6,92
Defect	-3,30	-16,00	-	-	-
Total skor	76,43	57,62	81,44	80,91	79,25

Keterangan : P1 = fermentasi tahap I dan II, masing-masing selama 4 hari; P2 = fermentasi tahap I dan II, masing-masing selama 5 hari; P3 = fermentasi tahap I dan II, masing-masing selama 6 hari; P4 = fermentasi tahap I dan II, masing-masing selama 7 hari; dan P5 = biji kopi luwak asli dari pembudidaya luwak

Notes : *P1 = fermented coffee for 4 days of phase I and II*; P2 *= fermented coffee for 5 days of phase I and II; P3 = fermented coffee for 6 days of phase I and II; P4 = fermented coffee for 7 days of phase I and II; and P5 = original civet coffee*



Gambar 1. Profil citarasa kopi probiotik Arabika dan kopi luwak Arabika
Figure 1. Flavor profile of probiotics Arabica coffee and civet Arabica coffee

Salah satu tahapan proses pengolahan primer yang sangat menentukan mutu seduhan kopi adalah fermentasi (Widyotomo & Yusianto, 2013). Saat proses fermentasi terjadi peristiwa kimiawi yang sangat berguna dalam pembentukan karakter citarasa kopi, yaitu pembentukan senyawa prekursor citarasa seperti asam organik, asam amino, dan gula reduksi (Jackels & Jackels, 2005; Redgwell & Fischer, 2006; Lin, 2010). Buah kopi yang dimakan hewan luwak mengalami proses fermentasi dalam sistem pencernaannya selama ± 12 jam, kemudian dikeluarkan bersama feses pada proses ekskresi (Marcone, 2004a; Hadipernata & Nugraha, 2012).

Pada perlakuan yang terbaik, yaitu P3 dan P4, fermentasi probiotik dilakukan masing-masing selama 2 × 6 hari dan 2 × 7 hari. Ini berarti dalam batasan maksimum 7 hari proses fermentasi terjadi perubahan kimia yang lebih intensif sehingga menyebabkan lebih banyak senyawa prekursor asam organik, asam amino, dan gula reduksi yang terbentuk. Akibatnya, semakin banyak senyawa citarasa *volatile* dan *non volatile* yang terbentuk melalui reaksi Maillard selama proses penyangraian sehingga berpengaruh terhadap citarasa dan aroma kopi seduh (Bumhiratana, Adhikari, & Chambers, 2011; Sari, Ismayadi, Wahyudi, & Sulihkanti, 2012; Cecilia, Glanton, Simon, Renaud, & Fredrick, 2012). Selama proses fermentasi terjadi penurunan kandungan bahan organik seperti protein dan karbohidrat (Lin, 2010; Murthy & Naidu, 2011), serta pembentukan senyawa yang bersifat *volatile* (mudah menguap) seperti alkohol, aldehid, dan ester (Selmar *et al.*, 2004; Rios *et al.*, 2007).

Tabel 3 dan Gambar 1 memperlihatkan kelebihan citarasa kopi P3 dan P4 dibandingkan dengan kopi luwak P5 terutama pada karakter *aroma*, *flavor*, *aftertaste,* dan *acidity*. Adapun kelebihan citarasa kopi P3 dibandingkan dengan kopi P4 adalah pada karakter *flavor, aftertaste, balance,* dan *overall.* Oleh karena itu, sangat wajar apabila kopi Arabika probiotik dalam penelitian ini mempunyai citarasa yang sedikit lebih baik dibandingkan kopi luwak Arabika. Hal ini sesuai dengan pernyataan Guntoro (2010) bahwa kopi probiotik memiliki aroma yang lebih kuat dibandingkan dengan kopi luwak.

Kandungan Asam Organik

Kandungan asam organik pada biji kopi sangat penting karena perannya sebagai senyawa prekursor yang berkontribusi dalam membentuk kualitas citarasa terutama untuk komponen *acidity* (rasa asam) pada seduhan kopi (Theron & Lues, 2010; Velmourougane, 2011; Taba, 2012). Di samping itu, asam organik berperan juga dalam pembentukan senyawa ester, yaitu senyawa *volatile* yang membentuk aroma kopi (Janzen, 2010; Somporn, Kamtuo, Theerakulpisur, & Siriamompun, 2011).

Tabel 4. Kandungan asam organik biji kopi Arabika tanpa fermentasi, fermentasi probiotik, dan kopi luwak
Table 4. Organic acids content of unfermented, fermented by probiotics, and original civet Arabica coffee beans

Jenis asam organik	Kandungan asam organik (ppm) pada perlakuan					
	P0	P1	P2	P3	P4	P5
Asam oksalat	972	250	390	190	290	170
Asam format	96,74	49,83	60,35	63,45	48,04	60,41
Asam sitrat	108	85	100	104	108	107
Asam laktat	-	102	448	163	382	123,41
Asam asetat	-	63,22	76,26	76,39	140,92	-
Asam butirat	-	-	-	383	-	-

Keterangan : P0 = tanpa fermentasi; P1 = fermentasi tahap I dan II, masing-masing selama 4 hari; P2 = fermentasi tahap I dan II, masing-masing selama 5 hari; P3 = fermentasi tahap I dan II, masing-masing selama 6 hari; P4 = fermentasi tahap I dan II, masing-masing selama 7 hari; dan P5 = kopi luwak asli dari pembudidaya luwak

Notes : P0 = unfermented; P1 = fermented coffee for 4 days of phase I and II; P2 = fermented coffee for 5 days of phase I and II; P3 = fermented coffee for 6 days of phase I and II; P4 = fermented coffee for 7 days of phase I and II; and P5 = original civet coffee

Berdasarkan hasil analisis pada biji kopi Arabika tanpa fermentasi, hasil fermentasi probiotik, dan kopi luwak terdapat kandungan berbagai jenis asam organik (Tabel 4). Dari data tersebut terlihat bahwa pada biji kopi yang tidak difermentasi hanya terdapat kandungan asam oksalat, asam format, dan asam sitrat, dikarenakan memang jenis asam organik tersebut yang merupakan asam organik utama yang terkandung dalam biji kopi yang belum difermentasi (Jham, Fernandes, Garcia, & Da Silva, 2002). Setelah proses fermentasi terjadi penambahan jenis asam organik, yaitu asam laktat dan asam asetat akibat terurainya gula reduksi (Silva, Batista, Abreu, Dias, & Schwan, 2008; Lin, 2010; Murthy & Naidu, 2011). Secara umum dengan semakin lamanya fermentasi, keasaman kopi akan semakin meningkat, yang disebabkan oleh terbentuknya asam-asam organik (Sulistyowati & Sumartono, 2002). Clarke & Macrae (1987) menyatakan bahwa produk akhir dari proses fermentasi yang berlangsung lama dalam mendegradasi substrat dinding sel biji kopi di antaranya berupa asam asetat dan asam butirat. Hal tersebut menjelaskan mengapa pada kopi probiotik Arabika yang difermentasi lebih lama dibandingkan dengan kopi luwak terdapat asam asetat (pada P1, P2, P3, dan P4) dan asam butirat (pada P3).

Pada Tabel 4 terlihat pula bahwa kopi Arabika probiotik P3 dan P4 mempunyai kandungan total asam organik lebih tinggi dibandingkan dengan kopi luwak P5 sehingga mencerminkan rasa asam (*acidity*) yang lebih tinggi (Tabel 3). Nilai keasaman yang tinggi akan memberikan kualitas aroma kopi yang lebih baik (Clarke & Macrae, 1985; Yusianto, 1999).

Adanya kandungan asam asetat pada kopi probiotik Arabika sangat bermanfaat bagi tubuh, di antaranya meningkatkan penyerapan mineral kalsium, mengontrol kadar gula darah, menurunkan kolesterol, dan membantu mengurangi berat badan (Miller, Vandome, & McBrewster, 2009). Di samping itu, adanya kandungan asam butirat pada P3 memberikan keuntungan tersendiri, mengingat manfaatnya untuk kesehatan tubuh, di antaranya mencegah kanker usus, menekan stress, dan mencegah radang usus (Aluko, 2012; Vaseji, Mojgani, Amirinia, & Iranmanesh, 2012). Proses fermentasi memberikan keuntungan lain, yaitu adanya penurunan kadar asam oksalat yang cukup tinggi. Dengan kandungan asam oksalat yang rendah maka akan mengurangi efek negatif terbentuknya batu ginjal yang mengganggu kesehatan, apabila bereaksi dengan mineral kalsium dalam tubuh manusia (Bhat, Dhume, Dalal, & Goswamy, 2008).

KESIMPULAN

Bji kopi Arabika yang difermentasi menggunakan mikrob probiotik dari pencernaan luwak mempunyai mutu fisik cukup baik dan memenuhi spesifikasi persyaratan mutu SNI 01-2907-2008. Mutu citarasa terbaik diperoleh pada perlakuan P3 dan P4, yaitu 2 tahap fermentasi selama masing-masing 6 dan 7 hari. Citarasa kopi Arabika probiotik tersebut lebih baik dibandingkan dengan kopi luwak asli dan dapat dikategorikan ke dalam kopi spesialti.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada masyarakat Desa Belanga dan Desa Belantih, Kecamatan Kintamani, Kabupaten Bangli, Provinsi Bali, dan BPTP Bali, Denpasar, yang telah membantu terlaksananya penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

Aluko, R.E. (2012). *Functional foods and nutraceutical* (p. 155). New York, USA: Springer.

Avallone, S., Brillouet, J.M., Guyot, B., Olguin, E., & Guiraud, J.P. (2002). Involvement of pectolytic micro-organisms in coffee fermentation. *International Journal of Food Science and Technology, 37*, 191–198.

Bhat, N., Dhume, N., Dalal, L.T.B., & Goswamy, S. (2008). *A text book a nutrition for nurses*. First Edition (p. 74). Mumbai, India: Nurali Prakashan Press.

Bhumiratana, N., Adhikari, K., & Chambers, E. (2011). Evolution of sensory aroma attributes from coffee beans to brewed coffee. *LWT Food Science and Technology*, *44*, 2185–2192.

Badan Standardisasi Nasional. (2008). *Standar Nasional Indonesia Biji Kopi*. *SNI 01-2907-2008* (p. 20). Jakarta: Badan Standardisasi Nasional.

Cecilia, K., Glanton, K., Simon, M., Renaud, B., & Fredrick, N. (2012). Volatile organic compounds in brewed Kenyan arabica coffee genotypes by solid phase extraction gas chromatography mass spectrometry. *Food Science and Quality Management*, *8*, 18–22.

Clarke, R.J., & Macrae, R. (1987). *Coffe chemestry*. Volume 1. New York, USA: Elsevier Applied Science.

Correa, E.C., Jiménez-Ariza, T., Díaz-Barcos, V., Barreiro, P., Diezma, B., Oteros, ... Ruiz-Altisent, M. (2014). Advanced characterisation of a coffee fermenting tank by multi-distributed wireless sensors: spatial interpolation and phase space graphs. *Food and Bioprocess Technology*, *2*, 46–54.

FAO. (2004). *Fermentation of coffee control of operation* (p. 10). Roma, Italia: Food and Agricultural Organization.

Guntoro, S. (2010). *Proses memproduksi kopi luwak probiotik*. Proposal Paten. Denpasar: Balai Pengkajian Teknologi Pertanian (BPTP) Bali.

Hadipernata, M., Nugraha, S., &. Tjahjohutomo, R. (2011). Peningkatan nilai tambah kopi luwak sebagai produk diversifikasi di Kecamatan Pangalengan, Jawa Barat. *Prosiding Seminar Nasional Teknologi Inovatif Pascapanen Pertanian III* (pp. 432–442). Bogor, 17 November 2011.

Hadipernata, M., & Nugraha, S. (2012). Identifikasi fisik, kimia dan mikrobiologi biji kopi luwak sebagai acuan teknologi proses kopi luwak artificial. *Prosiding Seminar Nasional Insentif Riset Sinas* (pp. 117–121). Bandung, 29–30 November 2012.

Hill, R.W., Wyse, G.A., & Anderson, M. (2012). *Animal Physiology*. 3rd Edition (p. 800). Michigan, USA: Sinauer Associates Inc.

Jackels, S.C., & Jackels, C.H. (2005). Characterization of the coffee mucilage fermentation process using chemical indicator: A field study in Nicaragua. *Journal of Food Science*, *70*, 321–325.

Janzen, S.O. (2010). Chemistry of coffee. *In* L. Mender, & H.W. Liu (Eds.). *Comprehensive Natural Products II, Chemistry and Biology* (pp. 1085–1113). Kidlington, UK: Elsevier Ltd.

Jham, G.N., Fernandes, S.A., Garcia, C.F., & Da Silva, A.A. (2002). Comparison of GC and HPLC for the quantification of organic acid in coffee. *Phytochemical Analysis*, *13*, 99–104.

Leroy, T., Ribeyre, F., Bertrand, B., Charmetant, P., Dufour, M., Montagnon, C., Maraccini, P., & Pot, D. (2006). Genetics of coffee quality. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, *18*, 229–242.

Lin, C.C. (2010). Approach of improving coffee industry in Taiwan promote quality of coffee bean by fermentation. *The Journal of International Management Studies*, *5*, 154–159.

Lingle, T.R. (2001). *The coffee cuppers handbook: a systematic guide to the sensory evaluation of coffees flavor* (p. 72). Third Edition. Longbeach, California, USA: Specialty Coffee Association of America.

Mahendradatta, M., Zainal, Israyanti, & Tawali, A.B. (2011). Comparison chemical characteristics and sensory value between luwak coffee and original coffee from arabica (*Coffea arabica* L.) and robusta (*Coffea canephora* L.) varieties. Makassar: Department of Agricultural Technology, Faculty of Agriculture, Hasanuddin University.

Marcone, N.F. (2004a). Composition and properties of Indonesia palm civet coffee (Kopi Luwak) and Ethopian civet coffee. *Food Research International*, *37*, 901–912.

Marcone, N.F. (2004b). *The science behind luwak coffee: an analysis of the worlds rarest and most expensive coffee*. Ontario, Canada: Departement of Food Science, University of Guelph.

Miller, F.P., Vandome, A.F., & McBrewster, J. (2009). *Acetic acid*. New York, USA: Alphascript Publishing.

Mondello, L., Costa, F., Tranchida, P.Q., Dugo, P., Presti, M.L., Festa, S., Fazio, A., & Dugo, G. (2005). Reliable characterization of coffee bean aroma profiles by automated headspace solid phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry with the support of a dual-filter mass spectra library. *Journal of Separation Science*, *28*, 1101–1109.

Murthy, P.S., & Naidu, M.M. (2011). Improvement of robusta coffee fermentation with microbial enzymes. *European Journal of Applied Sciences*, *3*, 130–139.

Nugroho, D., Mawardi, S., Yusianto, & Arimersetiowati, R. (2012). Karakterisasi mutu fisik dan citarasa biji kopi Arabika varietas Maragogip (*Coffea arabica* L. var. *Maragogype* Hort. ex. Froehner) dan seleksi pohon induk di Jawa Timur. *Pelita Perkebunan*, *28*, 1–13.

Oliveira, A.L.D., Cabral, F.A., Eberlin, M.N., &. Cordello, H.M.A.B. (2009). Sensory evaluation of black instant coffee beverges with some volatile compounds present in aromatic oil from roasted coffee. *Ciencia e Tecnologia de Alimentos*, *29*, 76–80.

Panggabean, E. (2011). *Mengeruk untung dari bisnis kopi luwak* (p. 97). Jakarta: PT. Agro Media Pustaka.

Redgwell, R., & Fischer, M. (2006). Coffee carbohidrates. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, *18*, 165–174.

Rios, O.G., Quiroz, M.L.S., Boulanger, R., Barel, M., Guyot, B., Guiraud, J.P., & Galindo, S.S. (2007). Impact of ecological post harvest processing on the volatile fraction of coffee beans: I. Green coffee. *JournaI of Food Composition and Analysis, 20*, 289–296.

Sari, A.B.T., Ismayadi, C., Wahyudi, T., & Sulihkanti, A. (2012). Analysis of luwak coffee volatile by using solid phase microextraction and gas chromatography. *Pelita Perkebunan*, *28*, 111–118.

Selmar, D., Bytof, G., Knopp, S.E., Bradbury, A., Wilkens, J., & Becker, R. (2004). Biochemical insight into coffee processing: Quality and nature of green coffees are interconnected with an active seed metabolism. *ASIC 2004. 20th International Conference on Coffee Science* (pp. 111–119). Bangalore, India. 11–15 October 2004.

Silva, C.F., Batista, L.R., Abreu, L.M., Dias, E.S., & Schwan, R.F. (2008). Succession of bacterial and fungal communities during natural coffee (*Coffea arabica*) fermentation. *Food Microbiology*, *25*, 951–957.

Singh, V., & Singh, G. (2013). Coffee: process technology and health benefits. *International Journal of Innovative Research & Studies*, *2*, 153–160.

Somporn, C., Kamtuo, A., Theerakulpisur, P., & Siriamompun, S. (2011). Effects of roasting degree on radical scavenging activity, phenolics and volatile compounds of Arabica coffee beans. *International Journal of Food Science and Technology*, *46*, 2287–2296.

Speciality Coffee Association of America. (2009a). *SCAA protocols: Cupping specialty coffee*. Long Beach, California, USA: Speciality Coffee Association of America.

Speciality Coffee Association of America. (2009b). *What is specialty coffee?* (p. 2). Long Beach, California, USA: Speciality Coffee Association of America.

Speciality Coffee Association of America. (2013). *Coffee term from the Speciality Coffee Association of America*. The Event Specialty Coffee of The Year. Boston, USA.

Sulisyowati, & Sumartono, B. (2002). *Metode uji cita rasa kopi* (p. 21). Materi Pelatihan Uji Citarasa Kopi. Jember: Pusat Penelitian Kopi dan Kakao.

Sulistyowati, Sumartono, B., & Ismayadi, C. (1996). Pengaruh ukuran biji dan lama penyangraian terhadap beberapa sifat fisiko-kimia dan organoleptik kopi robusta. *Pelita Perkebunan*, *12*, 48–60.

Taba, J. (2012). *Coffee taste analysis of an espresso coffee using nuclear magnetic spectroscopy*. (Bachelor Thesis Central Ostrobothnia University of Applied Sciences, Eindhoven Holland).

Theron, M.M., & Lues, J.F.R. (2010). *Organic acids and food preservation* (p. 340). New York, USA: CRC Press, Taylor and Francis Group.

Vaseji, N., Mojgani, N., Amirinia, C., & Iranmanesh, M. (2012). Comparison of butyric acid concentration in ordinary and probiotic yogurt samples in Iran. *Iranian Journal of Microbilogy, 2*, 87–93.

Velmourougane, K. (2011). Effects of wet processing methods and subsequent soaking of coffee under different organic acids on cup quality. *World Journal of Science and Technology*, *1*, 32–38.

Widyotomo, S., & Yusianto (2013). Optimasi proses fermentasi biji kopi Arabika dalam fermentor terkendali. *Pelita Perkebunan*, *29*, 53–68.

Yusianto. (1999). Komposisi kimia biji kopi dan pengaruhnya terhadap citarasa seduhan. *Warta Pusat Penelitian Kopi dan Kakao*, *15*, 190–202.

Yusianto, Hulupi, R., Sulistyowati, Mawardi, S., & Ismayadi, C. (2005). Sifat fisiko-kimia dan cita rasa beberapa varietas kopi Arabika. *Pelita Perkebunan*, *21*, 200–222.

Yusianto, Ismayadi, C., Saryono, A., Nugroho, D., & Mawardi, S. (2012a). Characterization of animal preference to arabica coffee varieties and cup taste profile on domesticated "luwak" (*Paradoxorus hermaphroditus*). *Procidings of 24th ASIC International Conference on Coffee Science* (pp.136–144). San Jose, Costa Rica. November 11th–16th 2012.

Yusianto, Nugroho, D., & Mawardi, S. (2012b). Enhancing arabica coffee cup taste profile by involving biological agents during fermentation process. *Procidings of 24th ASIC International Conference on Coffee Science* (pp. 430–437). San Jose, Costa Rica. November 11th–16th 2012.

Solichin, M. A., Anwar, & Tedjapura, N. (2007). Penggunaan asap cair deorub dalam pengolahan RSS. *Jurnal Penel. Karet.*, *25*(1), 1–12.

Suhendry, Irwan, & Ompusunggu. (2005). Analisis jumlah padatan dengan oven mini KTiga SP tipe 1 untuk menetapkan kadar karet kering di tempat pengumpulan hasil. *J. Penelt. Karet.*, *24*(1), 81–90.

Sugiyono. (2010). *Metode penelitian kuantitatif kualitatif R&D* (p. 380). Bandung: Penerbit Alfabeta.

Sujarwo, R. M., Kopp, T., Nurmalina, R., Asmarantak, R. W. & Ummer, B. (2014). Choice of marketing channels by rubber small traders in the Jambi Province, Indonesia. Tropentag 2014: Conference Proceedings. Prague, Czech Republic.

Tan, S.S., & Humaedah, U. (2011). Kajian efektivitas metode diseminasi dalam upaya mempercepat adopsi inovasi teknologi. *J. Peng. dan Pengemb. Teknol. Pert., 14*(2), 131–140.

Tekasakul, P., & Tekasakul, S. (2006). Environmental problems related to natural rubber production in Thailand. *J. of Aerosol Research*, *21*, 122–129.

Trangadisaikul, S. (2011). Oligopsony in the tire industry: a study of its impacts on the natural rubber industry in Thailand. *Thammasat Economic Journal, 29*(1), 129–164.

Yulita, E. (2012). Pengaruh asap cair serbuk kayu limbah industri terhadap mutu bokar. *J. Riset Industri, VI*(1), 13–22.

PENGARUH SITOKININ, JENIS EKSPLAN, DAN GENOTIPE TERHADAP EMBRIOGENESIS SOMATIK KAKAO

THE EFFECT OF CYTOKININS, EXPLANT TYPES, AND GENOTYPES ON CACAO SOMATIC EMBRYOGENESIS

* Nur Ajijah[1)] dan RR. Sri Hartati[2)]

Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar[1)]
Jalan Raya Pakuwon Km 2 Parungkuda, Sukabumi 43357 Indonesia
**jijah_ridwan@yahoo.co.id*
Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan[2)]
Jalan Tentara Pelajar No. 1, Bogor 16111 Indonesia
tatiekjoe@yahoo.co.id

(Tanggal diterima: 11 April 2016, direvisi: 12 Mei 2016, disetujui terbit: 1 Juli 2016)

ABSTRAK

Informasi tentang pengaruh sitokinin terhadap pembentukan embrio somatik primer kakao (*Theobroma cacao* L.) serta interaksinya dengan genotipe dan jenis eksplan belum diketahui. Tujuan penelitian adalah mengevaluasi pengaruh sitokinin serta interaksinya dengan jenis eksplan dan genotipe terhadap pembentukan embrio somatik kakao. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Unit Pengembangan Benih Unggul Pertanian Balitbangtan, Bogor, mulai bulan April sampai Desember 2012, dilanjutkan Oktober 2014 sampai Februari 2016. Tiga jenis sitokinin pada media induksi kalus primer, yaitu kinetin (0,58; 1,16; dan 2,32 µM), thidiazuron (0,01; 0,02; dan 0,04 µM) dan benzylaminopurin (0,55; 1,11; dan 2,22 µM) dikombinasikan dengan 2,4-D 9 µM diuji efektivitasnya dalam menginduksi embriogenesis somatik dari eksplan mahkota bunga dan staminoid kakao aksesi Cimanggu 1. Selanjutnya, tiga taraf kinetin (0,58; 1,16; dan 2,32 µM) juga dikombinasikan dengan 2,4-D 9 µM diuji pengaruhnya terhadap pembentukan embrio somatik dari eksplan mahkota bunga dan staminoid 3 genotipe kakao (Sulawesi 02, ICCRI 04, dan Cimanggu 3). Hasil penelitian menunjukkan kinetin 2,32 µM dan penggunaan eksplan staminoid lebih efektif untuk menginduksi embriogenesis somatik kakao aksesi Cimanggu 1 (7% dengan 0,23 embrio/eksplan). Terdapat interaksi antara taraf kinetin dengan jenis eksplan dan genotipe terhadap persentase eksplan membentuk embrio umur 12 minggu setelah kultur. Persentase pembentukan embrio somatik yang paling tinggi ditunjukkan oleh klon ICCRI 04 dengan penggunaan eksplan mahkota bunga dan taraf kinetin 1,16 µM (31,85%), namun tidak berbeda nyata dengan taraf kinetin 2,23 µM (25,55%). Pembentukan embrio somatik primer kakao ditentukan oleh jenis dan taraf sitokinin, jenis eksplan, serta genotipe.

Kata kunci: *Theobroma cacao* L., sitokinin, genotipe, embrio somatik, jenis eksplan

ABSTRACT

*Information on the effect of cytokinins on cacao (*Theobroma cacao *L.) primary somatic embryogenesis and its interaction with explant types and genotypes is not yet known. This study aimed to evaluate the effect of cytokinins and its interaction with explant types and genotypes on cacao somatic embryogenesis. The study was conducted at tissue culture laboratory of IAARD, Bogor from April until December 2012 and October 2014 until February 2016. Three types of cytokinins i.e. kinetin (0.58, 1.16, and 2.32 µM), thidiazuron (0.01, 0.02, and 0.04 µM) and benzylaminopurine (0.55, 1.11, and 2.22 µM) in combination with 9 µM 2,4-D were tested for their effectiveness in inducing somatic embryogenesis from petals and staminoid explants of Cimanggu 1 genotype. Furthermore, three levels of kinetin (0.58, 1.16, and 2.32 µM) also in combination with 9 µM 2,4-D were evaluated for their influences on the somatic embryogenesis from petals and staminoid explants of three cacao genotypes i.e. Sulawesi 02, ICCRI 04 and Cimanggu 3. The result demonstrated that 2.32 µM kinetin and staminoids explant were more effective to induce cacao somatic embryogenesis of Cimanggu 1 genotype (7%, 0.23 embryos/explant). Additionally, there were interaction effects between the level of kinetin with explant types and genotype on the percentage of explants forming embryo at 12 weeks after culture. The highest percentage of somatic embryo formation was shown by ICCRI 04 genotype with the use of petals explant and a kinetin level of 1.16 µM (31.85%), but not significantly different from the level of kinetin 2.23 µM (25.55%). The formation of primary somatic embryos of cacao is largely determined by the type and level of cytokinins, type of explant, and genotype.*

Keywords: Theobroma cacao *L., cytokinins, genotypes, somatic embryos, explants types*

PENDAHULUAN

Perakitan varietas unggul kakao (*Theobroma cacao* L.) secara konvensional memerlukan waktu yang lama karena siklus hidupnya yang panjang dan latar belakang genetik yang sempit (Brown *et al.*, 2007). Pemanfaatan bioteknologi diharapkan dapat membantu mempercepat pencapaian program pemuliaan kakao, di antaranya melalui pemanfaatan teknologi kultur jaringan (Ajijah, Rubiyo, & Sudarsono, 2014; Ajijah, Hartati, Rubiyo, Sukma, & Sudarsono, 2016). Teknologi kultur jaringan dapat dimanfaatkan baik untuk tujuan penyediaan benih klon unggul maupun perbaikan sifat melalui *in vitro* mutagenesis dan seleksi *in vitro*. Teknologi kultur jaringan juga diperlukan di dalam transformasi genetik untuk meregenerasikan sel tanaman yang telah ditransformasi. Oleh karena itu, tersedianya metode regenerasi kakao yang efisien melalui kultur jaringan sangat diperlukan (Ajijah *et al.*, 2016), salah satunya melalui embriogenesis somatik.

Metode regenerasi kakao melalui embriogenesis somatik telah dikembangkan melalui pembentukan embrio somatik primer dan sekunder. Embio somatik primer adalah embrio somatik yang diinduksi dari jaringan tanaman induk sebagai eksplan, sedangkan embrio somatik sekunder pembentukannya diinduksi dari embrio somatik primer. Beberapa faktor diketahui berpengaruh terhadap embriogenesis somatik primer kakao, di antaranya adalah jenis eksplan, genotipe, dan komposisi zat pengatur tumbuh (ZPT) (Avivi, Hardjosoedarmo, & Hartanto, 2012; Ajijah *et al.,* 2014; Ajijah *et al.*, 2016). Beberapa jenis sitokinin telah digunakan untuk menginduksi pembentukan embrio somatik primer pada kakao dengan tingkat keberhasilan bervariasi. Avivi *et al.* (2012) berhasil menginduksi embriogenesis somatik primer pada beberapa klon kakao menggunakan adenin. Sementara Ajijah *et al.* (2014) melaporkan penggunaan thidiazuron (TDZ) mampu menginduksi pembentukan embrio somatik primer kakao klon Sca 6, namun sebaliknya untuk klon TSH 858 dan ICS 13. Selanjutnya, Ajijah *et al.* (2016) juga telah berhasil menginduksi pembentukan embrio somatik primer sembilan genotipe kakao menggunakan kinetin 2,32 µM yang dikombinasikan dengan 2,4-D 9 µM dengan tingkat keberhasilan bervariasi bergantung pada genotipe dan jenis eksplan.

Belum diketahui apakah jenis sitokinin berpengaruh terhadap pembentukan embrio somatik primer kakao, dan apakah terdapat interaksi antara taraf sitokinin dengan genotipe dan jenis eksplan terhadap pembentukan embrio somatik primer kakao. Oleh karena itu, penelitian bertujuan mengevaluasi pengaruh sitokinin serta interaksinya dengan genotipe dan jenis eksplan terhadap pembentukan embrio somatik primer kakao.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Unit Pengembangan Benih Unggul Pertanian, Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian (Balitbangtan), Bogor, mulai bulan April sampai Desember 2012, dilanjutkan bulan Oktober 2014 sampai Februari 2016.

Persiapan Eksplan

Eksplan yang digunakan adalah bunga kakao aksesi Cimanggu 1 dan Cimanggu 3 yang masih kuncup berumur sekitar 3 minggu (Gambar 1), serta klon Sulawesi 02 dan ICCRI 04 yang merupakan koleksi Laboratorium Kultur Jaringan Unit Pengembangan Benih Unggul Pertanian, Balitbangtan. Kuncup bunga disterilisasi di dalam *laminar air flow* menggunakan klorox 5% selama 10 menit, kemudian dibilas akuades steril 3 kali. Mahkota bunga dan staminoid dipisahkan dari kuncup bunga di dalam cawan petri steril menggunakan pisau (*scalpel*) dan pinset berujung runcing yang steril.

Induksi Embriogenesis Somatik

Induksi embriogenesis somatik primer dilakukan menggunakan metode Li, Traore, Maximova, & Guiltinan (1998) yang dimodifikasi. Kalus diinduksi dari eksplan mahkota bunga dan staminoid pada media induksi kalus primer (*primary callus induction*) selama 14 hari, kemudian disubkultur pada media induksi kalus sekunder (*secondary callus growth*) selama 14 hari. Media induksi kalus primer terdiri dari media dasar Driver dan Kuniyuki (DKW) dengan penambahan *dichlorophenoxyacetic acid* (2,4-D) 9 µM dan beberapa jenis sitokinin (bergantung perlakuan), sedangkan media induksi kalus sekunder terdiri dari media dasar *woody plant media* (WPM) dengan penambahan 2,4-D 9 µM dan kinetin 1,16 µM (Ajijah *et al.*, 2016). Kalus embriogenik yang telah terbentuk dipindahkan pada media DKW tanpa ZPT dan disubkultur setiap dua minggu ke dalam media yang sama sampai terbentuk embrio somatik fase globular, hati, torpedo, dan kotiledon dewasa.

Foto: Nur Ajijah

Gambar 1. Kuncup bunga kakao dan bagian-bagiannya yang digunakan sebagai eksplan, st = staminoid, pt = mahkota bunga

Figure 1. Flower bud of cacao and their parts used as explants, st = staminoid, pt = petal

Uji Jenis dan Taraf Sitokinin pada Dua Jenis Eksplan

Jenis dan taraf sitokinin yang diuji adalah TDZ dengan taraf konsentrasi 0,01; 0,02; dan 0,04 µM; benzylaminopurine (BAP) dengan taraf konsentrasi 0,55; 1,11; dan 2,22 µM; serta kinetin dengan taraf konsentrasi 0,58; 1,16; dan 2,32 µM; yang masing-masing dikombinasikan dengan 2,4-D 9 µM. Seluruh jenis dan taraf sitokinin tersebut digunakan untuk menginduksi pembentukan embrio somatik dari eksplan mahkota bunga dan staminoid aksesi Cimanggu 1 sehingga diperoleh 18 kombinasi perlakuan. Penelitian disusun dalam rancangan lingkungan acak lengkap dengan lima ulangan. Setiap unit percobaan terdiri dari 10 eksplan. Pengamatan dilakukan terhadap persentase eksplan membentuk kalus pada 4 minggu setelah kultur (MSK), serta persentase eksplan membentuk embrio somatik dan jumlah embrio somatik fase globuler, hati, torpedo, dan kotiledon per eksplan pada 12 MSK.

Uji Interaksi Taraf Sitokinin dengan Genotipe dan Jenis Eksplan

Tiga taraf kinetin, yaitu 0,58; 1,16; dan 2,32 µM, dikombinasikan dengan 2,4-D 9 µM digunakan untuk menginduksi pembentukan embrio somatik dari eksplan mahkota bunga dan staminoid klon Sulawesi 02, ICCRI 04, dan aksesi Cimanggu 3. Perlakuan disusun dalam rancangan faktorial 3 faktor (taraf kinetin, jenis genotipe, dan jenis eksplan seperti yang telah disebutkan di atas) dengan lima ulangan, dan setiap unit percobaan terdiri dari 10 eksplan. Pengamatan dilakukan terhadap persentase eksplan membentuk embrio somatik dan jumlah embrio somatik fase globuler, hati, torpedo, dan kotiledon per eksplan pada 12 MSK.

Perkecambahan Embrio Somatik dan Pembesaran Planlet

Embrio somatik fase kotiledon dewasa dikecambahkan pada media tanpa ZPT sampai terbentuk daun normal. Pembesaran planlet juga dilakukan pada media tanpa ZPT (Ajijah *et al.*, 2016).

Pengamatan Mikroskop

Pengamatan mikroskopik dilakukan menggunakan mikroskop *AxioVision* (Zeiss) yang dilengkapi dengan kamera *AxioCam* (Zeiss). Kamera dihubungkan dengan komputer yang dilengkapi dengan perangkat lunak *AxioVision Release 4.8.2*.

Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis ragam dan dilanjutkan uji Duncan pada taraf 5% dengan menggunakan program *SPSS Statistics 20*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Jenis dan Taraf Sitokinin serta Jenis Eksplan terhadap Pembentukan Kalus dan Embrio Somatik

Pembentukan kalus merupakan tahapan paling menentukan di dalam proses embriogenesis somatik tidak langsung. Hanya kalus yang bersifat embriogenik yang dapat membentuk embrio somatik. Pada penelitian ini, kalus terbentuk pada semua jenis dan taraf sitokinin yang diuji, baik dari eksplan mahkota bunga maupun staminoid. Rata-rata persentase pembentukan kalus paling tinggi (90%) diperoleh dari eksplan staminoid dengan perlakuan TDZ 0,04 µM, sedangkan terendah (5%) dari eksplan staminoid dengan perlakuan kinetin 0,58 µM (Tabel 1). Struktur kalus yang terbentuk adalah nodular dengan permukaan yang licin dan mengkilat. Struktur kalus seperti ini diperoleh pada media yang mendapat penambahan kinetin, TDZ, maupun BAP (Gambar 2).

Tabel 1. Pengaruh jenis dan taraf sitokinin serta jenis eksplan terhadap pembentukan kalus dan embrio somatik kakao aksesi Cimanggu 1

Table 1. The effect of the type and level of cytokinins and explant types on the formation of callus and somatic embryos of Cimanggu 1 accession

Eksplan	Jenis sitokinin	Konsentrasi (µM)	Eksplan berkalus (%)	Eksplan membentuk embrio somatik* (%)	Jumlah embrio somatik*/ eksplan
Mahkota bunga	TDZ	0,01	25,0 abc	0,0	0,0
		0,02	25,0 abc	0,0	0,0
		0,04	30,0 abc	0,0	0,0
	Kinetin	0,58	35,0 abc	0,0	0,0
		1,16	15,0 abc	0,0	0,0
		2,32	20,0 abc	0,0	0,0
	BAP	0,55	10,0 ab	0,0	0,0
		1,11	21,1 abc	0,0	0,0
		2,22	50,0 cd	0,0	0,0
Staminoid	TDZ	0,01	35,0 abc	0,0	0,0
		0,02	80,0 de	0,0	0,0
		0,04	90,0 e	0,0	0,0
	Kinetin	0,58	5,0 a	0,0	0,0
		1,16	39,4 abc	0,0	0,0
		2,32	50,0 cd	7,0	0,2
	BAP	0,55	45,0 bc	0,0	0,0
		1,11	15,0 abc	0,0	0,0
		2,22	25,0 abc	0,0	0,0

Keterangan : Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji Duncan pada taraf 5%; * = meliputi embrio somatik fase globular, hati, torpedo, dan kotiledon

*Notes : Numbers followed by the same letters are not significantly different according to Duncan's test at 5% levels; * = including globular, heart, torpedo, and cotyledonary phases of somatic embryos*

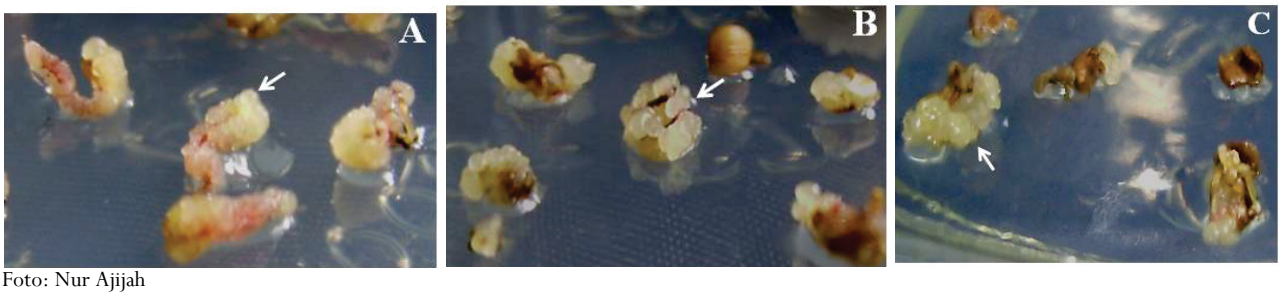


Foto: Nur Ajijah

Gambar 2. Kalus kakao aksesi Cimanggu 1 pada media induksi kalus primer dengan penambahan: (A) kinetin, (B) TDZ, dan (C) BAP. Tanda panah menunjukkan kalus nodular

Figure 2. Cacao callus of Cimanggu 1 accession on primary callus induction medium supplemented with: (A) kinetin, (B) TDZ, and (C) BAP. The arrows indicates nodular callus

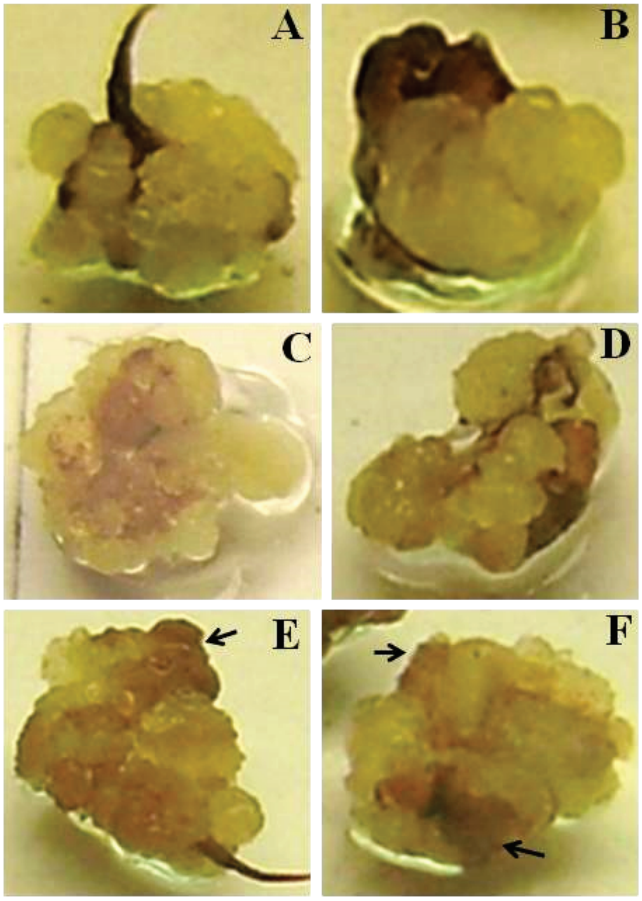


Foto: Nur Ajijah

Gambar 3. Kalus kakao aksesi Cimanggu 1 pada media pertumbuhan kalus sekunder yang diinduksi menggunakan: (A, B) BAP, (C, D) TDZ, (E, F) kinetin. Tanda panah menunjukkan kalus yang mengalami pencokelatan

Figure 3. *Cacao callus of Cimanggu 1 accession on secondary callus growth medium induced using*: (A, B) BAP, (C, D) TDZ, (E, F) kinetin. *The arrows indicates browning callus*

Setelah disubkultur pada media pertumbuhan kalus sekunder yang mengandung 2,4-D dan kinetin, kalus semakin berkembang (Gambar 3), namun kalus yang berasal dari media induksi kalus primer dengan penambahan kinetin mulai mengalami pencokelatan (Gambar 3E-F). Setelah disubkultur pada media tanpa ZPT, seluruh kalus, baik yang diinduksi menggunakan kinetin, BAP, maupun TDZ, mengalami pencokelatan. Setelah tiga kali subkultur pada media tanpa ZPT, kalus yang diinduksi menggunakan kinetin 2,32 µM mulai membentuk embrio somatik fase globuler, oblong, dan kotiledon (Gambar 4A dan 4B), sedangkan kalus yang diinduksi menggunakan jenis sitokinin dan taraf kinetin lainnya tidak membentuk embrio.

Auksin dan sitokinin merupakan jenis ZPT yang paling banyak diteliti dan digunakan untuk menginduksi kalus dan regenerasi tanaman (Ikeuchi, Sugimoto, & Iwase, 2013). Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan kalus kakao dapat terbentuk pada media yang mengandung hanya auksin, namun embrio somatik hanya terbentuk pada media yang mengandung auksin dan sitokinin (Ajijah *et al.*, 2014). Hal ini menunjukkan bahwa sitokinin berperan penting di dalam proses embriogenesis somatik kakao. Menurut Kepczynska & Kepczynski (2012), bersama dengan auksin, sitokinin mempunyai peran yang penting di dalam embriogenesis somatik tanaman. Pada umumnya, sitokinin diperlukan pada fase awal embriogenesis somatik, yaitu mendorong pembelahan sel dan proliferasi kalus serta pembentukan embrio somatik pada fase globular (Nawrot-Chorabik, 2011). Sampai saat ini, lebih dari 200 sitokinin atau ZPT yang memiliki aktivitas seperti sitokinin telah teridentifikasi (Vondráková, Krajňáková, Fischerová, Vágner, & Eliášová, 2016), namun yang umum digunakan di dalam media kultur jaringan di antaranya BAP (6-benzylaminopurine), 2iP (6-dimethylaminopurine), kinetin (N-2-furanylmethyl-1H-purine-6-amine), zeatin (6-4-hydroxy-3-methyl-trans-2-butenylamino-purine), dan TDZ (thiazuron-N-phenyl-N-1,2,3 thiadiazol-5ylurea) (Saad & Elshahed, 2012).

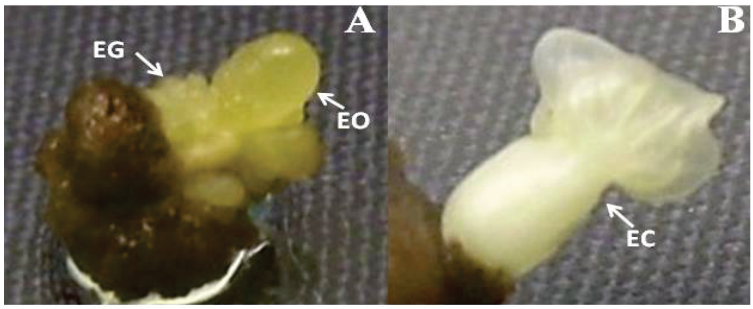


Foto: Nur Ajijah

Gambar 4. Pembentukan embrio somatik kakao aksesi Cimanggu 1 yang diinduksi dari eksplan staminoid menggunakan kinetin 2,32 µM dikombinasikan dengan 2,4-D 9 µM pada fase: (A) globular dan oblong, serta (B) kotiledon. EC=embrio somatik fase kotiledon, EG = embrio somatik fase globuler, EO= embrio somatik fase oblong

Figure 4. Somatic embryo formation of accession Cimanggu 1 induced from staminoid explant using 2.32 µM kinetin in combination with 9 µM 2.4-D at (A) globular and oblong phase, and (B) cotyledonary phase. EC= cotiledonary embryo, EG=globular embryo, EO=oblong embryo

Penggunaan TDZ dilaporkan efektif untuk menginduksi embriogenesis somatik pada kakao dengan rentang genotipe yang luas (Li *et al.*, 1998), namun pada penelitian ini terjadi hal yang sebaliknya. Embrio somatik kakao aksesi Cimanggu 1 hanya terbentuk dari kalus yang berasal dari eksplan staminoid yang diinduksi dengan kinetin 2,32 µM. Tidak ada satu pun embrio terbentuk dari kalus yang diinduksi dengan menggunakan TDZ dan BA (Tabel 1).

Respons tanaman terhadap jenis sitokinin sangat berbeda-berbeda**.** Menurut Sakakibara (2006) setiap jenis sitokinin mempunyai efektivitas dan aktivitas biologi yang berbeda, dan setiap tanaman mempunyai preferensi terhadap jenis sitokinin tertentu. Priyanka, Upendhar, & Singh (2015) melaporkan bahwa jenis auksin dan sitokinin memberikan pengaruh terhadap pembentukan embrio somatik dari eksplan kotiledon tanaman *Emblica officinalis,* dan dalam hal ini embrio somatik hanya terbentuk pada media yang mengandung 2,4-D dan kinetin. Sementara itu, Wongtiem *et al.* (2011) melaporkan adenin lebih efektif dibandingkan dengan BAP kinetin, zeatin, dan 2ip dalam menginduksi embriogenesis somatik sekunder pada tanaman *Manihot esculenta*. Malik (2012) juga melaporkan bahwa respons embriogenesis somatik sekunder tanaman *Narcissus* sp. terhadap jenis sitokinin sangat bergantung pada sistem kulturnya (padat atau cair). Adanya perbedaan respons terhadap jenis sitokinin mungkin disebabkan oleh perbedaan reseptor yang dimiliki oleh setiap tanaman atau kelompok genetik tertentu. Setiap reseptor mempunyai kemampuan yang berbeda untuk membentuk ikatan (*ligan*) dengan jenis sitokinin tertentu, seperti yang dilaporkan oleh Lomin, Yonekura-sakakibara, Romanov, & Sakakibara (2011).

Taraf kinetin 2,32 µM memberikan pengaruh yang lebih baik untuk menginduksi embriogenesis somatik pada aksesi Cimanggu 1 maka pada penelitian tahap selanjutnya dilakukan pengujian untuk mengetahui apakah terdapat interaksi antara taraf kinetin dengan genotipe dan jenis eksplan.

Pengaruh Interaksi Genotipe, Jenis Eksplan, dan Taraf Kinetin terhadap Pembentukan Embrio Somatik

Hasil penelitian menunjukkan terdapat interaksi yang nyata antara genotipe dengan jenis eksplan dan taraf kinetin terhadap persentase eksplan membentuk embrio umur 12 MSK (Tabel 2). Rata-rata persentase eksplan membentuk embrio paling tinggi diperoleh dari eksplan mahkota bunga klon ICCRI 04 dengan taraf kinetin 1,16 µM sebesar 31,85% yang tidak berbeda nyata dengan taraf kinetin 2,32 µM sebesar 25,55%, namun berbeda nyata dengan kombinasi perlakuan lainnya (Tabel 2). Adanya interaksi antara genotipe, jenis eksplan, dan taraf kinetin menunjukkan perbedaan respons setiap genotipe dan jenis eksplan terhadap taraf kinetin.

Pengaruh interaksi antara taraf kinetin, genotipe, dan jenis eksplan tidak nyata terhadap peubah jumlah embrio per eksplan. Peubah jumlah embrio per eksplan diduga kurang sensitif bila dibandingkan dengan peubah persentase eksplan membentuk embrio. Namun demikian, faktor genotipe, jenis eksplan, dan taraf kinetin, masing-masing secara tunggal berpengaruh nyata terhadap jumlah embrio per eksplan. Di antara ketiga taraf kinetin yang diuji, taraf 1,16 µM menghasilkan jumlah embrio somatik per eksplan lebih tinggi dibandingkan dengan taraf kinetin lainnya. Selanjutnya, klon ICCRI 04 menunjukkan respons pembentukan embrio somatik lebih tinggi dibandingkan dengan klon Sulawesi 02 dan aksesi Cimanggu 3, sementara itu eksplan mahkota bunga lebih responsif dibandingkan staminoid (Gambar 5).

Tabel 2. Pengaruh interaksi genotipe, taraf kinetin, dan jenis eksplan terhadap persentase eksplan membentuk embrio umur 12 minggu setelah kultur

Table 2. Interaction effect between genotypes, kinetin levels, and explant types on percentage of explants forming embryo at 12 weeks after culture

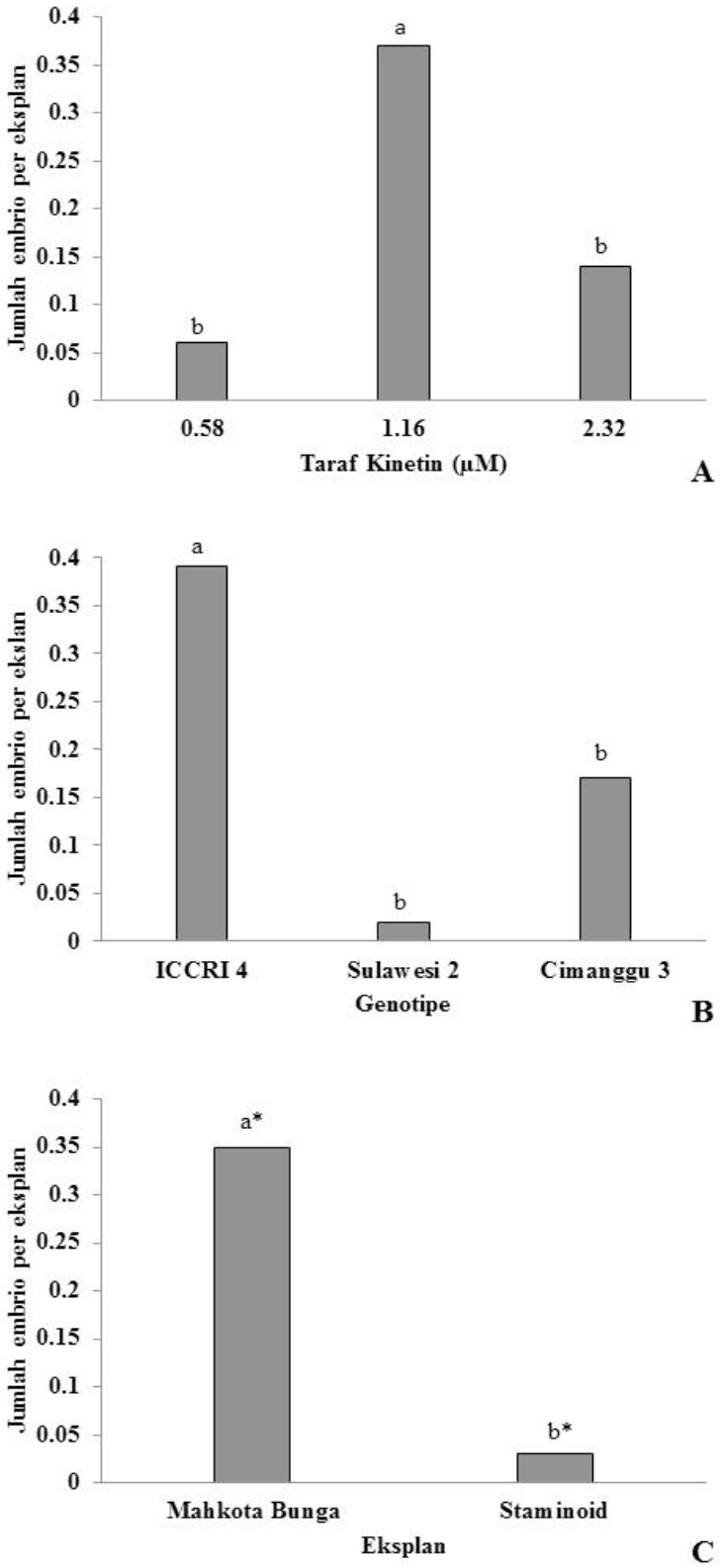
Genotipe	Jenis eksplan	Taraf kinetin (µM) dikombinasikan dengan 2,4-D 9 µM	Eksplan membentuk embrio somatik (%)
ICCRI 04	Mahkota Bunga	0,58	6,25 a
		1,16	31,85 b
		2,32	25,55 b
	Staminoid	0,58	0,00 a
		1,16	6,67 a
		2,32	0,00 a
Sulawesi 02	Mahkota Bunga	0,58	5,56 a
		1,16	0,00 a
		2,32	0,00 a
	Staminoid	0,58	0,00 a
		1,16	0,00 a
		2,32	0,00 a
Cimanggu 3	Mahkota Bunga	0,58	4,00 a
		1,16	10,44 a
		2,32	10,44 a
	Staminoid	0,58	0,00 a
		1,16	2,00 a
		2,32	2,00 a

Keterangan : Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji Duncan pada taraf 5%; * = meliputi embrio somatik fase globular, hati, torpedo, dan kotiledon

*Notes : Numbers followed by the same letters are not significantly different according to Duncan's test at 5% levels; * = including globular, heart, torpedo, and cotyledonary phases of somatic embryos*

Embriogenesis somatik merupakan proses yang sangat dipengaruhi oleh faktor genetik. Perbedaan respons embriogenesis somatik di antara genotipe banyak ditemukan pada berbagai jenis tanaman budi daya, di antaranya *Vitis vinivera* L. (Malabadi, Vijaykumar, Nataraja, & Mulgund, 2010), *Vitis* spp. (Li *et al.*, 2014), *Gossypium* spp. (Ghaemi, Majid, Fallahian, & Bezdi, 2011), *Ipomea batatas* L. (Sefasi *et al.*, 2012) dan *Manihot esculenta* Crantz (Ngugi *et al.*, 2015; Mongomake, Doungous, Khatabi, & Fondong, 2015). Perbedaan respons embriogenesis somatik di antara genotipe kakao juga telah dilaporkan sebelumnya oleh Avivi *et al*. (2010); Ajijah *et al*. (2014); dan Ajijah *et al*. (2016).

Pada umumnya, kelompok genetik kakao Forastero lebih responsif (embriogenik) dibandingkan dengan Criollo, dan kelompok genetik Trinitario berada di antara Forastero dan Criollo. Rendahnya persentase pembentukan embrio somatik pada aksesi Cimanggu 1 dan klon Sulawesi 02 diduga keduanya bukan merupakan genotipe kakao yang respons terhadap proses embriogenesis somatik, atau dengan kata lain keduanya memiliki kemampuan membentuk embrio somatik yang rendah. Belum diketahui dengan pasti kelompok genetik dari aksesi Cimanggu 1 dan klon Sulawesi 02, tetapi diduga termasuk ke dalam kelompok genetik Trinitario.



Gambar 5. Pengaruh taraf kinetin, genotipe, dan jenis eskplan terhadap rata-rata jumlah embrio per eksplan umur 12 minggu setelah kultur. Huruf yang sama pada masing-masing faktor tidak berbeda nyata berdasarkan uji Duncan pada taraf 5%. * berbeda nyata berdasarkan uji t pada taraf 5%

*Figure 5. Effect of kinetin levels, genotypes, and explant types on average number of embryos per explant at 12 weeks after culture. Same letters for each factor were not significantly different according to Duncan's test at 5% levels. * significantly different based on t-test at 5% levels*

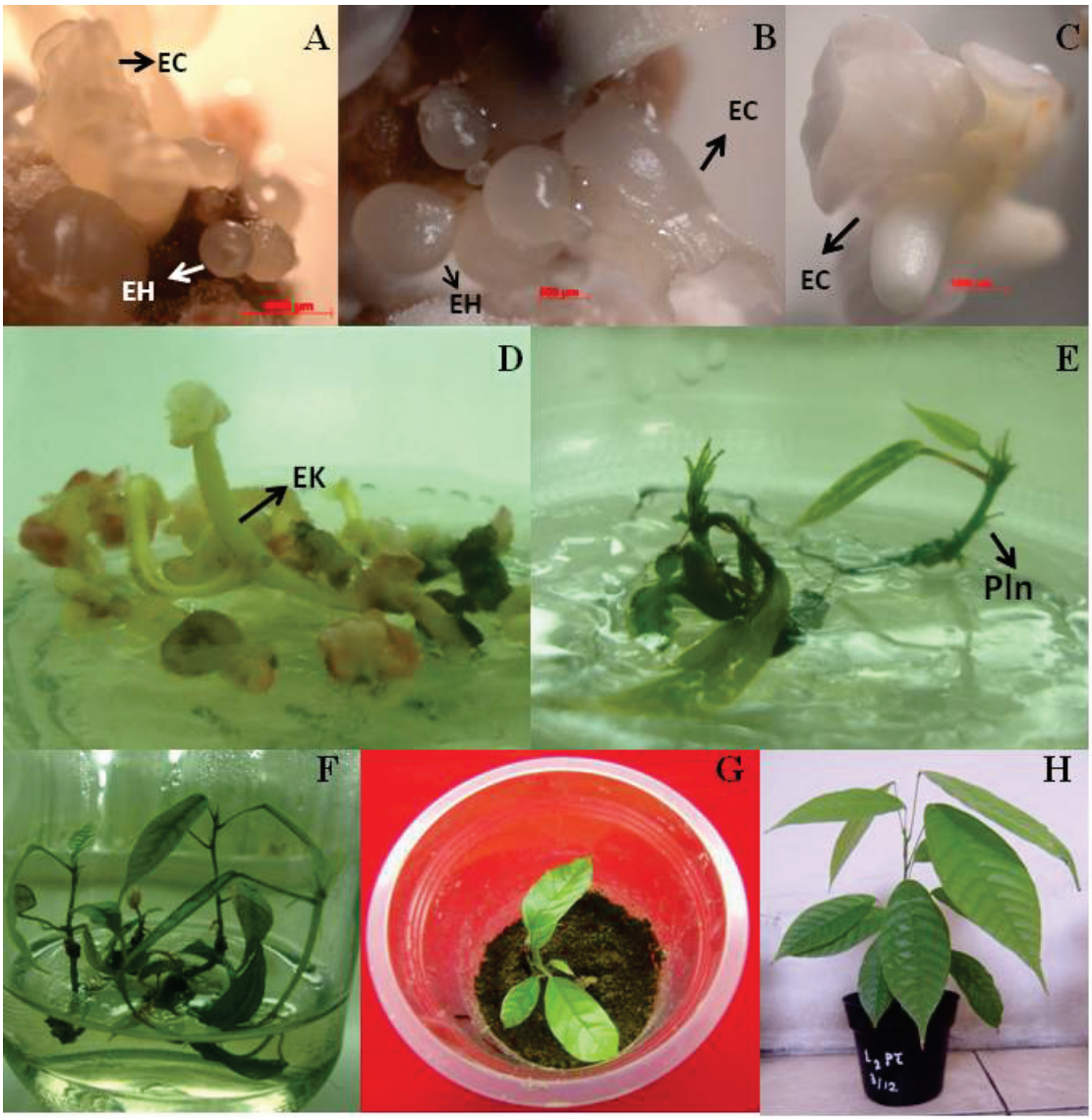


Foto: Nur Ajijah

Gambar 6. Pembentukan embrio somatik dan planlet kakao yang diinduksi menggunakan kinetin. Embrio somatik fase hati dan kotiledon awal (A) aksesi Cimanggu 3, (B) klon ICCRI 04, (C) fase kotiledon dewasa klon Sulawesi 02, (D) perkecambahan embrio somatik dan (E, F) pembentukan planlet klon ICCRI 04, (G) aklimatisasi dan (H) tanaman pasca aklim aksesi Cimanggu 3. EC = embrio somatik fase kotiledon, EH = embrio somatik fase hati, EK = embrio somatik fase kecambah, Pln = planlet

Figure 6. Formation of cacao somatic embryos and planlets induced by kinetin. Somatic embryos at heart and early cotyledonary stages of (A) Cimanggu 3 accession, (B) ICCRI 04 clone, (C) mature cotyledonary stage of Sulawesi 02 clone, (D) somatic embryo germination and (E, F) plantlets formation of ICCRI 04 clone, (G) acclimatization and (H) somatic embryo-derived plant of Cimanggu 3 accession. EC = cotyledonary somatic embryos, EH = heart somatic embryos, EK = germinating somatic embryos, Pln = plantlet

Adanya perbedaan respons embriogenik di antara jenis eksplan juga telah dilaporkan pada banyak tanaman (Górska-Koplińska, Źróbek-Sokolnik, Górecki, Michalczyk, & Michalczyk, 2010; Zuyasna, Hafsah, Fajri, Syahputra, & Ramadhan, 2012; Nyaboga, Njiru, & Tripathi, 2015). Perbedaan respons embriogenik dari eksplan mahkota bunga dan staminoid pada kakao juga telah dilaporkan sebelumnya oleh Avivi *et al*. (2010); Ajijah *et al*. (2014); dan Ajijah *et al*. (2016). Perbedaan respons di antara organ bunga juga dilaporkan terjadi pada tanaman *Feijoa sellowiana* (Stefanello, Vesco, Ducroquet, Nodari, & Guerra, 2005). Adanya perbedaan respons ini diduga disebabkan perbedaan kandungan hormon endogen pada masing-masing jenis eksplan. Kandungan hormon endogen merupakan faktor utama yang menentukan respons sel dan merupakan faktor penting yang mempengaruhi

potensi embriogenik dari masing-masing jenis eksplan (Jimenez, 2001).

Gambar 6 memperlihatkan berbagai tahap perkembangan embrio somatik klon Cimanggu 3, ICCRI 04, dan Sulawesi 02, perkecambahan embrio somatik dan pembentukan planlet klon ICCRI 04, serta aklimatisasi planlet dan tanaman pasca aklim asal embrio somatik aksesi Cimanggu 3.

KESIMPULAN

Kinetin 2,32 µM dengan eksplan staminoid memberikan hasil yang lebih baik untuk menginduksi pembentukan embrio somatik primer aksesi Cimanggu 1 dengan persentase pembentukan embrio somatik sebesar 7,0% dan jumlah embio per eksplan 0,23. Terdapat interaksi antara taraf kinetin, genotipe, dan jenis eksplan terhadap peubah persentase pembentukan embrio somatik, tetapi sebaliknya untuk peubah jumlah embrio per eksplan. Kombinasi perlakuan terbaik untuk menginduksi pembentukan embrio somatik primer kakao adalah klon ICCRI 04 dengan eksplan mahkota bunga dan taraf kinetin 1,16 µM sebesar 31,85%, dan tidak berbeda dengan kombinasi klon ICCRI 04 dengan eksplan mahkota bunga dan taraf kinetin 2,32 µM sebesar 25,55%. Sementara itu, klon ICCRI 04, eksplan mahkota bunga, dan taraf kinetin 1,16 µM masing-masing merupakan taraf faktor perlakuan terbaik dalam menghasilkan jumlah embrio per eksplan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan terima kasih kepada Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan, Balitbangtan yang telah mendanai penelitian ini melalui DIPA No. 081-09.2.237291/2012-2016. Terima kasih juga disampaikan kepada R. Siti Masithoh dan Cindy Ameliyanti yang telah memberikan bantuan teknis di laboratorium.

DAFTAR PUSTAKA

Ajijah, N., Hartati, S., Rubiyo, R., Sukma, D., & Sudarsono, S. (2016). Effective cacao somatic embryo regeneration on kinetin supplemented medium DKW medium and somaclonal variation assessment using SSRs markers. *AGRIVITA Journal of Agricultural Science*, *38*(1), 80–92. doi: http://doi.org/10.17503/agrivita.v38i1.619.

Ajijah, N., Rubiyo, & Sudarsono. (2014). Pembentukan kalus dan embrio somatik kakao menggunakan thidiazuron melalui satu tahap induksi kalus. *Jurnal Penelitian Tanaman Industri*, *20*(4), 179–186.

Avivi, S., Hardjosoedarmo, S., & Hartanto, S. P. (2012). Perbandingan media Murashige & Skoog dan Penn State Cacao untuk embriogenesis somatik dari eksplan beberapa bagian bunga kakao. *Bionatura-Jurnal Ilmu-Ilmu Hayati dan Fisik*, *14*(l1), 68–77.

Brown, J. S., Phillips-mora, W., Power, E. J., Krol, C., Cervantes-martinez, C., Motamayor, J. C., & Schnell, R. J. (2007). Mapping QTLs for resistance to frosty pod and black pod diseases and horticultural traits in *Theobroma cacao* L ., (October), 1851–1858. doi: http://doi.org/10.2135/cropsci2006.11.0753.

Ghaemi, M., Majd, A., Fallahian, F., & Bezdi, K.G. (2011). Comparison of callus induction and somatic embryogenesis of some Iranian cottons (*Gossypium* spp.) and histology of somatic embryogenesis. *African J Bio.,10*, 2915–2922.

Górska-Koplińska, K., Źróbek-Sokolnik, A., Górecki, R. J., Michalczyk, D. J., & Michalczyk, D. J. (2010). The effect of explant type on somatic embryogenesis induction in *Pisum sativum* L. *Polish Journal of Natural Science*, *25*(3), 229–235. doi: http://doi.org/10.2478/v10020-010-0020-z.

Ikeuchi, M., Sugimoto, K., & Iwase, A. (2013). Plant callus: Mechanisms of induction and repression. *The Plant Cell*, *25*(9), 3159–73. doi: http://doi.org/10.1105/tpc.113.116053.

Jimenez, V.M. (2001). Regulation of *in vitro* somatic embryogenesis with emphasis on the role of endogenous hormones. *R Bras Fisiol Veg., 13*, 196–223.

Kepczynska, E., & Kepczynski, J. (2012). Phytohormones in *Medicago* spp. somatic embryogenesis. *BioTechnologia Session I. Plant differen., 93*, 153.

Li, Z.T., Kim, K.H., Dhekney, S. a, Jasinski, J. R., Creech, M. R., & Gray, D. J. (2014). An optimized procedure for plant recovery from somatic embryos significantly facilitates the genetic improvement of Vitis. *Horticulture Research*, *1*(April), 14027. doi: http://doi.org/10.1038/hortres.2014.27.

Li, Z., Traore, A., Maximova, S., & Guiltinan, 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.

Lomin, S. N., Yonekura-sakakibara, K., Romanov, G. A., & Sakakibara, H. (2011). Ligand-binding properties and subcellular localization of maize cytokinin receptors. *Journal of Experimental Botany*, *62*(14), 5149–5159. doi: http://doi.org/10.1093/jxb/err220.

Malabadi, R.B., Vijaykumar, S., Nataraja, K., & Mulgund, G.S. (2010). Induction of somatic embryogenesis and plant regeneration in grapes (*Vitis vinifera* L.). *Bot. Research Inter., 3*, 48–55.

Malik, M. (2012). Different kinds of cytokinin effect on *Narcissus* L. "Actaceae" somatik embryo development in solid and liquid/solid culture system. *BioThchnologia, 93*(2), 168.

Mongomake, K., Doungous, O., Khatabi, B., & Fondong, V. N. (2015). Somatic embryogenesis and plant regeneration of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) landraces from Cameroon. *SpringerPlus*, *4*(1), 477. doi: http://doi.org/10.1186/s40064-015-1272-4.

Nawrot-Chorabik, K. (2011). Somatic embryogenesis in forest plants. In *Embryogenesis* (pp. 424–446). Retrieved from http://cdn.intechopen.com/pdfs/35578/intech-somatic_embryogenesis_in_forest_plants.pdf.

Ngugi, M., Oduor, R. O., Omwoyo, R. O., Njadi, J. M., Mgutu, A. J., & Cheruiyot, R. C. (2015). Regeneration of Kenyan Cassava (*Manihot Esculenta* Crantz) Genotypes. *Journal of Plant Biochemistry & Physiology*, *3*(2), 147. doi: http://doi.org/10.4172/2329-9029.1000147

Nyaboga, E.N., Njiru, J.M., & Tripathi, L. (2015). Factors influencing somatic embryogenesis, regeneration and Agrobacterium-mediated transformation of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) cultivar TME14. *Frontiers in Plant Science*, *6*, 1–13. doi: http://doi.org/10.3389/fpls.2015.00411.

Priyanka, Upendhar, K., & Singh, K. P. (2015). Indirect, direct and secondary somatic embryogenesis in Emblica officinalis. *Global Journal for Research Analysis*, *4*(4), 1–4.

Saad, A. I. M., & Elshahed, A. M. (2012). *Plant tissue culture media. Recent advances in plant in vitro culture*. doi: http://doi.org/10.1007/BF02796489.

Sakakibara, H. (2006). Cytokinins: activity, biosynthesis, and translocation. *Annual Review of Plant Biology*, *57*(1), 431–449. doi: http://doi.org/10.1146/annurev.arplant.57.032905.105231

Sefasi, A., Kreuze, J., Ghislain, M., Manrique, S., Kiggundu, A., & Ssemakula, G. (2012). Induction of somatic embryogenesis in recalcitrant sweetpotato (*Ipomoea batatas* L.) cultivars, *11*(94), 16055–16064. doi: http://doi.org/10.5897/AJB12.1615.

Stefanello, S., Vesco, L., Ducroquet, J.P., Nodari, R.O., Guerra, M.P. (2005). Somatic embryogenesis from floral tissues of feijoa (*Feijoa sellowiana* Berg.). *Sci Hort., 105*, 117–126.

Vondráková, Z., Krajňáková, J., Fischerová, L., Vágner, M., & Eliášová, K. (2016). *Physiology and role of plant growth regulators in somatic embryogenesis*. In S. P. Park, J. M. Bonga, & H. K. Moon (Eds.), *Vegetatif propagation of forest trees*. Seoul, Korea: National Institute of Forest Science.

Wongtiem, P., Courtois, D., Florin, B., Juchaux, M., Peltier, D., Broun, P., & Ducos, J. P. (2011). Effects of cytokinins on secondary somatic embryogenesis of selected clone Rayong 9 of Manihot esculenta Crantz for ethanol production. *African Journal of Biotechnology*, *10*(9), 1600–1608. doi: http://doi.org/10.5897/AJB10.1820

Zuyasna, Hafsah, S., Fajri, R., Syahputra, M.O., & Ramadhan, G. (2012). The effect of picloram concentrations and explants types on the induction of somatic embryo on North Aceh Cocoa genotype. *Proceeding of The 2th Annual International Conference Syih Kuala Univercity & The 8th IMT-GT Uninet Bioscience Conference*, *2*, 395–398.

VARIASI GENETIK DALAM POPULASI KULTIVAR KOPI ARABIKA BERBUAH KUNING DI LAHAN PETANI BERDASARKAN PENANDA SSRs

GENETIC VARIATION WITHIN POPULATION OF YELLOW-BERRIED ARABICA COFFEE CULTIVARS AT FARMERS FIELD BASED ON SSRs MARKERS

[*] Dani, Nur Kholilatul Izzah, dan Enny Randriani

Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar
Jalan Raya Pakuwon Km 2 Parungkuda, Sukabumi 43357 Indonesia
[*]*danithok@gmail.com*

(Tanggal diterima: 30 April 2016, direvisi: 20 Mei 2016, disetujui terbit: 1 Juli 2016)

ABSTRAK

Identifikasi keragaman genetik dalam kultivar kopi Arabika berbuah kuning berdasarkan karakter morfologi tanaman dihadapkan pada kendala sulitnya menemukan kondisi lingkungan yang seragam di lahan petani. Oleh sebab itu, diperlukan pendekatan lain yang tidak dipengaruhi perbedaan kondisi lingkungan, yaitu berdasarkan polimorfisme DNA. Tujuan penelitian adalah menganalisis variasi genetik dalam populasi kultivar kopi Arabika berbuah kuning berdasarkan penanda SSRs. Penelitian dilakukan di Laboratorium Terpadu Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar (Balittri), Sukabumi, mulai bulan April sampai Mei 2015. Sampel daun untuk ekstraksi DNA diambil dari kultivar kopi Arabika berbuah kuning (AGK-1) dan dua kultivar berbuah merah sebagai pembanding, yaitu ABP-1 (tipe katai) dan *Typica* (tipe tinggi). Kultivar AGK-1 dan ABP-1 masing-masing terdiri dari 17 dan 5 nomor individu, sedangkan kultivar *Typica* terdiri dari 3 individu. Amplifikasi PCR menggunakan 12 primer SSR yang telah dirancang untuk mengidentifikasi keragaman genetik kopi Arabika. Empat primer SSR di antaranya, yaitu M24, SSRCa052, M32, dan M42, menghasilkan pola pita DNA polimorfik. Data biner diolah menggunakan program NTSYS-PC versi 2.1. Pengelompokan genotipe berdasarkan matriks kesamaan genetik menggunakan *unweighted pair group method with arithmetic average* (UPGMA). Hasil analisis menunjukkan adanya variasi genetik antar nomor/individu kultivar AGK-1 sehingga membentuk tiga klaster pada nilai kesamaan genetik 67%. Salah satu klaster menunjukkan kedekatan jarak genetik antara beberapa individu dalam populasi kultivar AGK-1 dengan kultivar *Typica*. Dua klaster lainnya menggambarkan kemiripan genetik yang tinggi antara kultivar AGK-1 dengan kultivar ABP-1. Dugaan adanya aliran gen antar kultivar dan atau residu heterozigositas dalam populasi kultivar AGK-1 di lahan petani perlu dibuktikan lebih lanjut.

Kata kunci: Kopi Arabika, intra kultivar, buah kuning, keragaman genetik, SSRs

ABSTRACT

Identification of the genetic diversity within populations of yellow-berried Arabica coffee cultivar based on morphological characters faced an obstacle in finding identical environmental conditions at farmers field. Therefore, an approach which is not influenced by differences in environmental conditions is required, for instance based on DNA polymorphism. The research aimed to analyze genetic variation within populations of yellow-berried Arabica coffee cultivar based on SSRs markers. The research was conducted in the Integrated Laboratory, Indonesian Industrial and Beverage Crops Research Institute, Sukabumi, from April until June 2015. The leaf samples for DNA extraction were obtained from yellow-berried Arabica coffee cultivar (AGK-1) and two red-berried cultivars as controls, namely ABP-1 (dwarf type) and Typica (tall type). AGK-1 and ABP-1 cultivars consisted of 17 and 5 individual numbers, respectively, whereas Typica cultivar comprised three individuals. PCR amplification was carried out using 12 SSR primers. Four primers (M24, SSRCa052, M32, and M42) produced polymorphic band. The binary data obtained in this research was subsequently processed using NTSYS-PC program version 2.1. The genotypes were grouped based on a genetic similarity matrix using the unweighted pair group method arithmetic mean (UPGMA). The result showed the existence of genetic variation among individual of AGK-1 cultivars, which forming three clusters at the genetic similarity value of 67%. One cluster exhibited close genetic relationships between some individuals within the population of AGK-1 cultivar and Typica cultivar. Meanwhile, the other two clusters showed high genetic similarity between AGK-1 cultivar and ABP-1 cultivar. The result demonstrated the possibility of gene flow between genotypes or residual heterozygosity within the population of AGK-1 cultivar at farmers field, which required a further study.

Keywords: *Arabica coffee, intra cultivar, yellow berry, genetic variability, SSRs*

PENDAHULUAN

Kopi Arabika (*Coffea arabica* L.) merupakan spesies yang banyak dibudidayakan di Indonesia selain kopi Robusta (*C. canephora* var. *robusta*). Beragam kultivar kopi Arabika baik yang berbasis genetik *Typica*, *Bourbon*, *Caturra*, maupun *Hibrido de Timor* (*HdT*) telah dikembangkan secara luas di lahan petani. Salah satu kultivar kopi Arabika yang dikembangkan petani memiliki karakteristik yang unik, yaitu buahnya tidak berwarna merah ketika masak, melainkan berwarna kuning. Kultivar kopi Arabika berbuah kuning mudah ditemukan di wilayah pegunungan Papandayan, Kecamatan Cikajang, Kabupaten Garut. Petani setempat menyukai kultivar kopi tersebut karena daya hasilnya dinilai tinggi (> 1 ton/ha) dan ukuran bijinya tergolong besar. Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa kultivar kopi Arabika buah kuning menghasilkan biji berukuran besar, sesuai standar SNI 01-2907-2008 (Randriani, Dani, & Wardiana, 2014).

Informasi mengenai keragaman genetik dan asal-usul genetik kultivar kopi Arabika berbuah kuning tersebut hingga saat ini masih sangat terbatas. Pengembangannya di lahan petani sudah berlangsung cukup lama sehingga dapat ditemukan lebih dari satu generasi tanaman yang saling tumpang tindih (*overlapping*) dalam hamparan lahan yang sama. Sebagian besar petani mengembangkan kultivar tersebut bersama-sama dengan kultivar lain yang berbuah merah, terutama ABP 1 dan *Typica*. Meskipun kopi Arabika tergolong tanaman yang mampu menyerbuki sendiri (*self-pollinated*) (Brokaw, 2013) sekaligus kompatibel membuahi sendiri (*self-compatible*) (Yu *et al.*, 2011), tetapi tidak menutup peluang terjadinya pembuahan silang (*cross fertilization*) (Andreazi *et al.*, 2015). Persilangan alami dapat terjadi antar kultivar kopi Arabika bahkan dengan spesies kopi lain yang seringkali tumbuh berdekatan (*sympatric*) (Gomez *et al.*, 2016). Kondisi tersebut memberikan peluang terjadinya aliran gen (*gene flow*), baik antar kultivar maupun antar spesies (Noirot, Charrier, Stoffelen, & Anthony, 2015). Adanya introgresi gen dari luar dapat memunculkan keragaman genetik baru dalam kultivar yang sama sehingga berperan dalam memperluas basis genetik kopi Arabika (Gimase, Thagana, Kirubi, Gichuru, & Gichimu, 2011). Hal ini penting mengingat variabilitas genetik spesies kopi Arabika telah tereduksi selama proses domestikasi (Maluf, Silvestrini, Ruggiero, Guerreiro Filho, & Colombo, 2005).

Keragaman genetik dalam kultivar kopi Arabika di lahan petani seringkali sulit diidentifikasi secara visual dengan hanya mengandalkan perbedaan karakter-karakter morfologi. Hal tersebut disebabkan kurang terstandarisasinya pengelolaan agronomis tanaman kopi oleh para petani, seperti pemangkasan, penggunaan naungan, pengaturan jarak tanam, dan pemupukan. Sebagai contoh, adanya perbedaan intensitas naungan akan menyebabkan perubahan struktur dan fungsi daun tanaman kopi sehingga memunculkan variasi antar individu dalam kultivar yang sama (Baliza *et al.*, 2012). Oleh sebab itu, diperlukan pendekatan lain yang tidak dipengaruhi perbedaan kondisi lingkungan. Dibandingkan dengan penanda morfologi, penanda molekuler merupakan teknologi yang lebih efisien, lebih akurat, dan dapat diandalkan untuk membedakan antar spesies maupun antar kultivar yang berkerabat dekat (Mishra & Slater, 2012), hingga dapat mengidentifikasi keragaman genetik dalam kultivar (Tran, 2005). Penanda *simple sequence repeats* (SSRs), yang juga disebut *microsatellites*, *short tandem repeats* (STRs) atau *sequence-tagged microsatellite sites* (STMS), merupakan penanda molekuler berbasis *polymerase chain reaction* (PCR) (Jiang, 2010). Metode SSRs telah digunakan secara luas dalam karakterisasi genetik kopi (Gimase *et al.*, 2011) hingga seleksi sifat ketahanan terhadap nematoda (Pereira *et al.*, 2016) dan penyakit buah kopi (*coffee berry disease* = *CBD*) (Kiguongo, Omondi, Gichuru, & Kasili, 2014). Penelitian bertujuan menganalisis variasi genetik dalam populasi kultivar kopi Arabika berbuah kuning berdasarkan penanda SSRs.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Terpadu Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar (Balittri), Sukabumi, mulai bulan April sampai Juni 2015.

Bahan Tanaman

Sampel daun untuk bahan isolasi DNA diambil dari 17 nomor individu kultivar AGK-1, 5 kultivar ABP-1, dan 3 kultivar *Typica* yang ditanam petani di Desa Cikandang, Kecamatan Cikajang, Kabupaten Garut, Jawa Barat (Tabel 1).

Tabel 1. Kultivar kopi Arabika berbuah kuning (AGK–1) dan berbuah merah yang digunakan untuk analisis variasi genetik
Table 1. Yellow-berried (AGK-1) and red-berried Arabica coffee cultivars used for genetic variation analysis

Kultivar – no. individu	Kelompok umur	Lokasi asal (blok)	Karakter morfologi spesifik
AGK–1–P1/1	>10–15 tahun	Legok Gede, Cikandang, Cikajang, Garut	Perawakan semi katai, berbuah kuning
AGK–1–P1/2	>10–15 tahun	Legok Gede, Cikandang, Cikajang, Garut	Perawakan semi katai, berbuah kuning
AGK–1–P1/3	>10–15 tahun	Legok Gede, Cikandang, Cikajang, Garut	Perawakan semi katai, berbuah kuning
AGK–1–P1/4	>10–15 tahun	Legok Gede, Cikandang, Cikajang, Garut	Perawakan semi katai, berbuah kuning
AGK–1–P1/5	>10–15 tahun	Legok Gede, Cikandang, Cikajang, Garut	Perawakan semi katai, berbuah kuning
AGK–1–P2/1	>5–10 tahun	Legok Gede, Cikandang, Cikajang, Garut	Perawakan semi katai, berbuah kuning
AGK–1–P2/2	>5–10 tahun	Legok Gede, Cikandang, Cikajang, Garut	Perawakan semi katai, berbuah kuning
AGK–1–P2/3	>5–10 tahun	Legok Gede, Cikandang, Cikajang, Garut	Perawakan semi katai, berbuah kuning
AGK–1–P2/4 (C)	>5–10 tahun	Ciawer, Cikandang, Cikajang, Garut	Perawakan semi katai, berbuah kuning
AGK–1–P2/5 (C)	>5–10 tahun	Ciawer, Cikandang, Cikajang, Garut	Perawakan semi katai, berbuah kuning
AGK–1–P2/6 (C)	>5–10 tahun	Ciawer, Cikandang, Cikajang, Garut	Perawakan semi katai, berbuah kuning
AGK–1–P3/1	<5 tahun	Legok Gede, Cikandang, Cikajang, Garut	Perawakan semi katai, berbuah kuning
AGK–1–P3/2	<5 tahun	Legok Gede, Cikandang, Cikajang, Garut	Perawakan semi katai, berbuah kuning
AGK–1–P3/3	<5 tahun	Legok Gede, Cikandang, Cikajang, Garut	Perawakan semi katai, berbuah kuning
AGK–1–P3/4 (S)	<5 tahun	Sumpena, Cikandang, Cikajang, Garut	Perawakan semi katai, berbuah kuning
AGK–1–P3/5 (S)	<5 tahun	Sumpena, Cikandang, Cikajang, Garut	Perawakan semi katai, berbuah kuning
AGK–1–P3/6 (S)	<5 tahun	Sumpena, Cikandang, Cikajang, Garut	Perawakan semi katai, berbuah kuning
AGK–1–A1	>15 tahun	Baru Ulis, Cikandang, Cikajang, Garut	Perawakan semi katai, berbuah merah
AGK–1–A2	>15 tahun	Baru Ulis, Cikandang, Cikajang, Garut	Perawakan semi katai, berbuah merah
AGK–1–A3	>15 tahun	Baru Ulis, Cikandang, Cikajang, Garut	Perawakan semi katai, berbuah merah
AGK–1–A4	>15 tahun	Baru Ulis, Cikandang, Cikajang, Garut	Perawakan semi katai, berbuah merah
AGK–1–P2/1 (S)	>5–10 tahun	Sumpena, Cikandang, Cikajang, Garut	Perawakan semi katai, berbuah merah
Preanger (*Typica*)	>15 tahun	Sumpena, Cikandang, Cikajang, Garut	Perawakan tinggi, berbuah merah
Preanger (S) (*Typica*)	>15 tahun	Sumpena, Cikandang, Cikajang, Garut	Perawakan tinggi, berbuah merah
Buhun (S) (*Typica*)	>15 tahun	Sumpena, Cikandang, Cikajang, Garut	Perawakan tinggi, berbuah merah

Isolasi DNA

Daun muda yang digunakan untuk bahan isolasi DNA adalah yang terdapat pada ruas cabang nomor dua dari pucuk (sudah berkembang sempurna tetapi masih berwarna hijau muda) dan tidak menunjukkan gejala serangan hama dan penyakit (Motta *et al*., 2014). Isolasi DNA menggunakan metode *cetyltrimethylammonium bromide* (CTAB) yang telah dikembangkan oleh Allen *et al*. (2006). Genomik DNA hasil isolasi selanjutnya diukur kualitas dan kuantitasnya menggunakan alat NanoDrop ND-1000 (NanoDrop Technologies, Inc., Wilmington, DE, USA). Hasil pengukuran tersebut selanjutnya digunakan untuk menentukan konsentrasi final sebesar 10 ng/µl untuk keperluan analisis PCR.

Analisis SSR

Sebanyak 12 primer SSR yang didesain dari sekuen kopi Arabika (Combes *et al.*, 2000; Missio *et al.*, 2009; Teressa *et al.*, 2010) digunakan untuk mengamplifikasi DNA 25 nomor individu kultivar kopi Arabika (Tabel 2). Komposisi bahan kimia yang digunakan untuk proses amplifikasi DNA adalah 10 ng DNA, 0,2 µM primer *forward* dan *reverse* serta 1x KAPA PCR *mix* dengan volume akhir 15 µl. Proses amplifikasi DNA dilakukan dengan menggunakan mesin PCR SensoQuest. Program PCR digunakan untuk mengamplifikasi DNA dengan tahapan sebagai berikut: (1) pre-denaturasi (95°C; 3 menit); (2) denaturasi (95°C; 15 detik), penempelan primer (*annealing*) (53°C; 15 detik) dan perpanjangan (*extension*) (72°C; 15 detik), semua proses dalam tahap dua ini diulang sebanyak 35 siklus; dan (3) perpanjangan akhir (*final extension*) (72°C; 10 menit). DNA kopi hasil amplifikasi PCR kemudian diuji menggunakan elektroforesis dengan gel agarose 1% yang sudah mengandung pewarna *gel red* pada larutan 0,5 x bufer TBE. Tahap selanjutnya adalah separasi semua DNA hasil amplifikasi dengan menggunakan 6% gel poliakrilamid non-denaturasi pada larutan 1x bufer TBE. Gel hasil elektroforesis tersebut kemudian diwarnai menggunakan larutan *ethidium bromide* selama 20 menit dan divisualisasi pada UV transluminator menggunakan *gel documentation system*.

Tabel 2. Karakteristik 12 primer SSR yang digunakan untuk menganalisis keragaman genetik antar individu dan antar kultivar kopi Arabika

Table 2. Characteristics of 12 SSR primers utilized for genetic variability analysis among individuals and cultivars of Arabica coffee

Nama lokus SSR	Motif pengulangan	Sekuen primer (*forward*)	Sekuen primer (*reverse*)	Ukuran alel (bp)
M2a	$(GT)_8/(GT)_6/(GT)_7$	AGTGGTAAAAGCCGTTGGTG	GCGGTTGTTGGTGAGTTGAA	205–218
M24	$(CA)_{15}(CG)_4CA$	GGCTCGAGATATCTGTTTAG	TTTAATGGGCATAGGGTCC	132–166
M25	$(GT)_5CT(GT)_2/(GT)_{12}$	CCCTCCCTGCCAGAAGAAGC	AACCACCGTCCTTTTCCTCG	160–170
M20	$(GA)_5(GT)_8TT(GT)_4TT(GT)_7(GA)_{11}(TC)_2(CT)_3GT$	CTTGTTTGAGTCTGTCGCTG	TTTCCCTCCCAATGTCTGTA	240–270
CMA055	$(TG)_{18}$	TTGAGCAAAAACCCTATTCC	TAAACCCAAAAAGACCACAA	
SSRCa052	$(TTG)_7$	GATGGAAACCCAGAAAGTTG	TAGAAGGGCTTTGACTGGAC	129
SSRCa018	$(GT)_{18}(GA)_{10}$	GTCTCGTTTCACGCTCTCTC	ATTTTTGGCACGGTATGTTC	115
M27	$(GT)_{11}$	AGGAGGGAGGTGTGGGTGAAG	AGGGGAGTGGATAAGAAGG	118–134
M29	$(CTCACA)_4/(CA)_9$	GACCATTACATTTCACACAC	GCATTTTGTTGCACACTGTA	103–122
M32	$(CA)_3/(CA)_3/(CA)_{18}$	AACTCTCCATTCCCGCATTC	CTGGGTTTTCTGTGTTCTCG	89–135
M42	$(GT)_3/(GT)_7$	ATCCGTCATAATCCAGCGTC	AGGCCAGGAAGCATGAAAGG	72–-03
M47	$(CT)_9(CA)_8/(CT)_4/(CA)_5$	TGATGGACAGGAGTTGATGG	TGCCAATCTACCTACCCCTT	100–132

Sumber/*Sources*: Combes *et al.* (2000); Missio, Caixeta, Zambolim, & Sakiyama (2009); Teressa, Crouzillat, Petiard, & Brouhan (2010)

Analisis data

Marka SSR yang menunjukkan hasil polimorfik diberi skor dengan menggunakan format data biner, yaitu skor 1 apabila terdapat pita dan 0 apabila tidak ada pita. Matriks data biner tersebut digunakan untuk melakukan analisis keragaman genetik dalam populasi kopi Arabika dengan program NTSYS-PC versi 2.1 (Rohlf, 2000). Pengelompokan semua genotipe kopi dilakukan berdasarkan matriks kesamaan genetik dengan menggunakan *unweighted pair group method with arithmetic average* (UPGMA). Untuk mengetahui jarak genetik antar genotipe kopi Arabika dilakukan perhitungan dengan rumus: 1-matriks kesamaan genetik.

Untuk mengetahui jumlah alel, jumlah alel spesifik, frekuensi alel mayor, keragaman gen (*gene diversity*), nilai heterozigositas, dan nilai *polymorphic information content* (PIC) dari tiap-tiap lokus SSR yang digunakan maka dilakukan penghitungan dengan menggunakan program PowerMarker versi 3.25 (Liu & Muse, 2005). Nilai frekuensi alel mayor dihitung berdasarkan jumlah alel terbanyak, sedangkan jumlah alel spesifik dihitung berdasarkan pada jumlah alel yang kurang dari 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penanda molekuler saat ini telah banyak diterapkan untuk mengidentifikasi keragaman genetik kopi. Keakuratan dan derajat separasi pada hasil identifikasi keragaman genetik menggunakan berbagai teknologi DNA sangat tergantung pada jumlah primer yang digunakan dan pita polimorfis yang dimunculkannya (Kathurima *et al.*, 2012). Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari 12 primer SSR yang digunakan, hanya empat primer yang menghasilkan pita polimorfik, yaitu M24, SSRCa052, M32, dan M42 (Tabel 3). Meskipun demikian, keempat primer polimorfik tersebut sudah mampu mengidentifikasi adanya keragaman genetik dalam populasi kopi Arabika berbuah kuning (AGK-1). Berdasarkan hasil analisis keragaman alel menggunakan program PowerMarker diperoleh jumlah total alel sebanyak 14 alel, dengan jumlah rata-rata 3,5 alel untuk tiap lokus SSR (Tabel 3). Jumlah total alel dan nilai rata-rata jumlah alel per lokus yang dihasilkan lebih sedikit dibandingkan dengan penelitian sebelumnya yang menggunakan 12 kultivar kopi Arabika dan 10 primer SSR polimorfik, yaitu 83 alel dengan jumlah rata-rata 8 alel tiap lokusnya (Izzah, Randriani, & Dani, 2015). Perbedaan tersebut diduga disebabkan jumlah kultivar yang digunakan dalam penelitian ini jauh lebih sedikit, yaitu hanya tiga kultivar.

Hal lain yang menarik dari penelitian ini adalah ditemukannya 2 alel spesifik berukuran antara 400–500 bp yang ditunjukkan oleh primer SSRCa052 (Tabel 3; Gambar 1). Kedua alel spesifik tersebut hanya muncul pada dua nomor individu kultivar kopi Arabika berbuah kuning, yaitu AGK-1-P3/3 dan AGK-1-P2/2 (Gambar 1). Hasil ini menunjukkan bahwa lokus SSRCa052

berpotensi digunakan untuk mengindentifikasi individu AGK-1-P3/3 dan AGK-1-P2/2 di dalam populasi kopi Arabika berbuah kuning. Meskipun demikian, belum diketahui adanya keterkaitan antara segmen DNA tersebut dengan karakter fenotipik tertentu pada kultivar AGK-1.

Nilai rata-rata PIC yang diperoleh sebesar 0,51 (Tabel 3) sehingga termasuk kategori tinggi (Zhang, Mao, Zhang, & Wu, 2014). Ini berbeda dengan hasil penelitian Missio *et al*. (2010) yang menunjukkan nilai PIC rata-rata rendah (0,22) pada enam aksesi dan enam varietas komersial kopi Arabika berdasarkan 33 pasang primer, termasuk SSRCa052. Dalam penelitian ini, primer SSRCa052 mempunyai nilai keragaman gen (0,73) dan PIC (0,68) lebih tinggi dibandingkan dengan primer yang lain (Tabel 3). Hal ini mengindikasikan bahwa primer SSRCa025 merupakan penanda yang cukup prospektif untuk digunakan dalam analisis sidik jari plasma nutfah kopi Arabika. Hasil penelitian ini sejalan dengan pendapat Rubiyo, Izzah, Sulistiyorini, & Tresniawati (2015) yang menyatakan bahwa primer dengan nilai keragaman gen dan PIC yang tinggi dapat dipilih sebagai penanda potensial untuk analisis sidik jari koleksi plasma nutfah dalam upaya mendukung program pemuliaan.

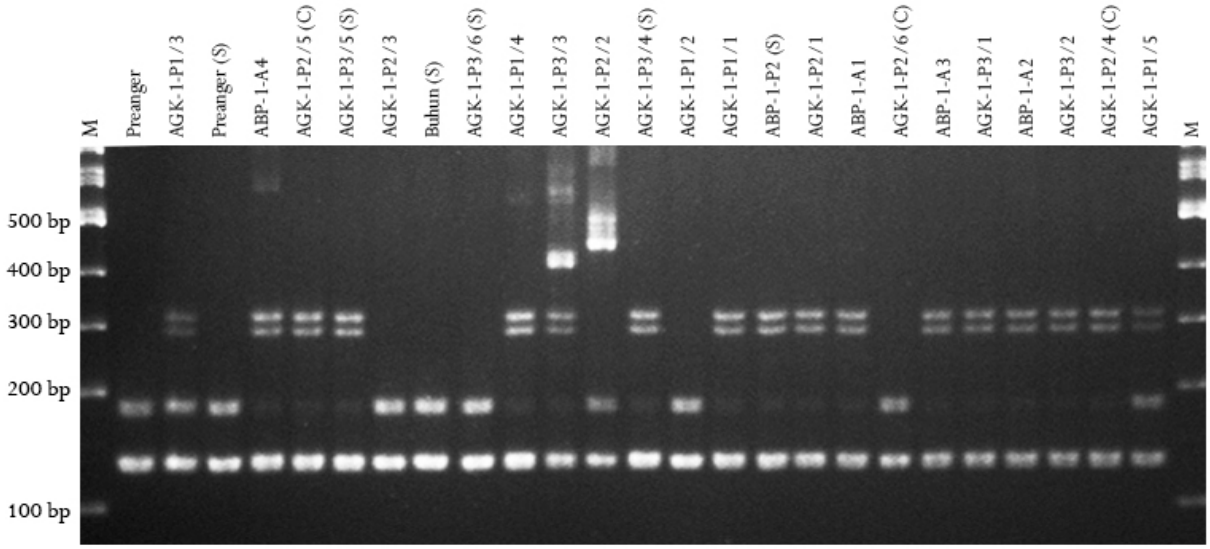
Berdasarkan hasil analisis klaster diketahui bahwa individu-individu dalam kultivar AGK-1 terbagi ke dalam tiga kelompok besar pada nilai kesamaan genetik 67% (Gambar 2). Pada klaster I, lima individu kultivar AGK-1 mengelompok terpisah bersama dengan tiga kultivar lain dari tipe *Typica*, yaitu Preanger, Preanger (S), dan Buhun (S) pada koefisien kemiripan genetik 85%. Padahal, penampilan morfologi kultivar AGK-1 sangat berbeda dengan ketiga kultivar tersebut (Gambar 2a). Klaster II dan III menempatkan sebagian besar individu kultivar AGK-1 dengan kultivar ABP-1 yang berbuah merah. Hal ini menandakan bahwa kedua kultivar tersebut memiliki jarak genetik atau hubungan kekerabatan yang dekat. Tetapi, primer yang digunakan dalam penelitian ini tidak dapat memisahkan genotipe berdasarkan warna buah, yaitu merah dan kuning. Kedekatan genetik kultivar kopi Arabika berbuah kuning dengan salah satu kultivar berbuah merah (ABP-1 dan ABP-2) juga telah ditunjukkan dalam hasil penelitian sebelumnya (Randriani *et al*., 2014; Izzah *et al*., 2015).

Variasi genetik antar individu kultivar AGK-1 berbuah kuning dan kultivar berbuah merah juga ditunjukkan oleh nilai jarak genetik yang ditampilkan pada Tabel 4. Nilai jarak genetik yang dihasilkan sangat bervariasi mulai dari yang terendah (0,00) sampai dengan tertinggi (0,86). Informasi mengenai nilai jarak genetik tersebut sangat bermanfaat bagi para pemulia dalam menentukan kombinasi tetua persilangan. Izzah *et al*. (2015) menyatakan bahwa kombinasi tetua persilangan ideal dipilih berdasarkan nilai jarak genetik yang tinggi.

Secara teoritis, keragaman genetik dalam kultivar kopi Arabika pada umumnya rendah sehingga semua aksesi dalam kultivar yang sama akan mengelompok dalam satu klaster. Meskipun demikian, sebagian aksesi mungkin saja mengelompok dalam klaster terpisah. Simpangan tersebut dapat terjadi akibat masih adanya residu heterozigositas dari tetua asalnya (Steiger *et al*., 2002) maupun adanya aliran gen antar kultivar melalui penyerbukan silang secara alami (Geleta, Herrera, Monzón, & Bryngelsson, 2012). Residu heterozigositas dapat didefinisikan sebagai proporsi lokus pada hasil persilangan antar genotipe yang masih belum stabil secara genetik hingga generasi *inbreeding* tertentu (Bailey, 1978). Persilangan alami sangat mungkin terjadi, baik antar kultivar hingga antar spesies kopi yang tumbuh berdampingan di lahan yang sudah dimodifikasi oleh manusia Gomez (*et al*., 2010). Petani kopi pada umumnya menanam lebih dari satu kultivar dalam lahan yang sama (Gambar 3a).

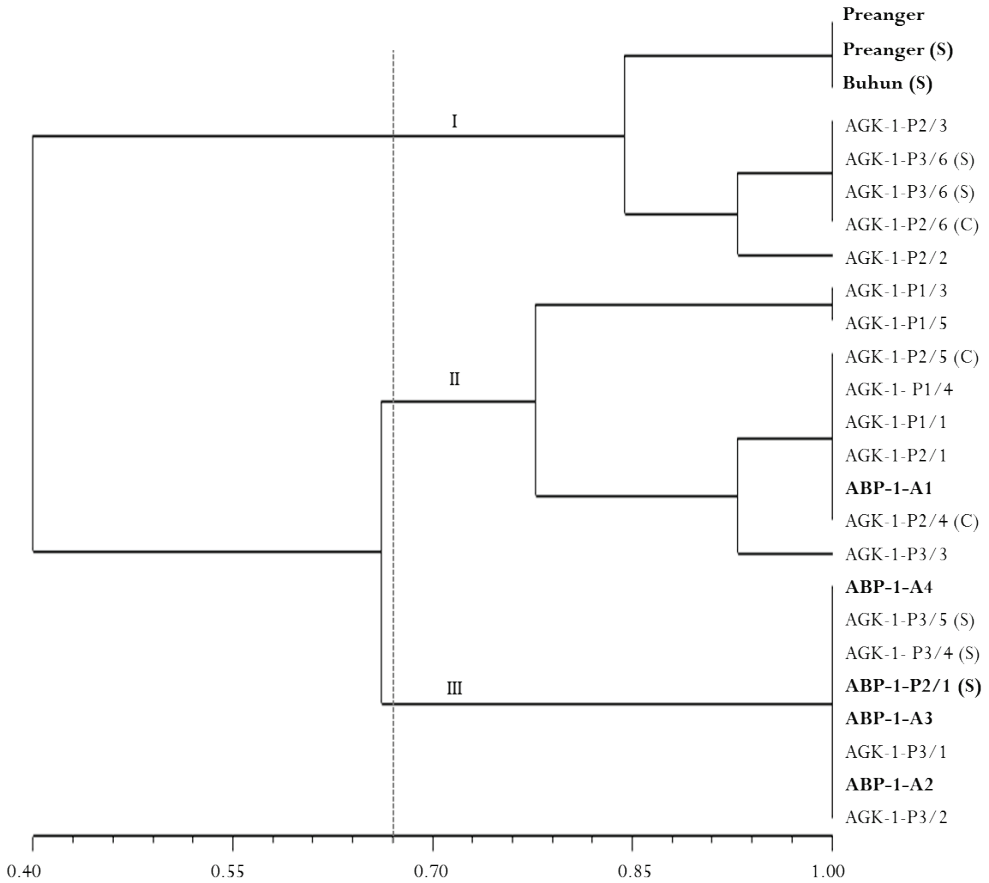
Tabel 3. Keragaman alel dari empat primer SSR polimorfik yang digunakan untuk analisis keragaman genetik kopi Arabika
Table 3. *Allele variation among four polymorphic SSR primers used for genetic diversity analysis of Arabica coffee*

Nama primer SSR	Jumlah alel	Jumlah alel spesifik	Frekuensi alel mayor	Keragaman gen	Heterozigositas	PIC
M24	3	-	0,60	0,57	0,40	0,52
M42	2	-	0,88	0,21	0,00	0,19
M32	4	-	0,34	0,72	1,00	0,66
SSRCa052	5	2	0,32	0,73	0,72	0,68
Rata-rata	3,5	-	0,53	0,56	0,53	0,51



Gambar 1. Contoh polimorfisme pola pita DNA antar individu dalam populasi kultivar AGK-1 dan pembandingnya yang teridentifikasi pada lokus SSRCa052. Tanda panah menunjukkan pola pita spesifik yang muncul pada dua individu dalam populasi kultivar AGK-1

Figure 1. Polymorphic DNA band patterns among individuals within AGK-1 cultivar and its control varieties identified by locus SSRCa052. The arrows indicated specific band patterns that appear on two individuals in the population of AGK-1 cultivar



Gambar 2. Dendrogram keragaman genetik dalam populasi kultivar kopi Arabika berbuah kuning (AGK-1) dan kekerabatannya dengan yang berbuah merah (ditandai dengan huruf tebal) berdasarkan penanda SSRs

Figure 2. Dendrogram shows genetic diversity in the population of yellow-berried Arabica coffee cultivar (AGK-1) and its relationships with red-berried cultivars (indicated by bold letters) based on SSRs markers

Tabel 4. Nilai jarak genetik antar individu kultivar kopi Arabika berbuah kuning dan kultivar pembandingnya

Table 4. Genetic distance values among individuals of yellow-berried Arabica coffee cultivar and its control varieties

Genotipe	*1*	*2*	*3*	*4*	*5*	*6*	*7*	*8*	*9*	*10*	*11*	*12*	*13*	*14*	*15*	*16*	*17*	*18*	*19*	*20*	*21*	*22*	*23*	*24*	*25*
1. Preanger	0,00																								
2. AGK-1 - P1/3	0,36	0,00																							
3. Preanger (S)	0,00	0,36	0,00																						
4. ABP-1 - A4	0,86	0,50	0,86	0,00																					
5. ABP-1 - P2/5 (C)	0,57	0,21	0,57	0,29	0,00																				
6. AGK-1 - P3/5 (S)	0,86	0,50	0,86	0,00	0,29	0,00																			
7. AGK-1 - P2/3	0,14	0,21	0,14	0,71	0,43	0,71	0,00																		
8. Buhun (S)	0,00	0,36	0,00	0,86	0,57	0,86	0,14	0,00																	
9. AGK-1 - P3/6 (S)	0,14	0,21	0,14	0,71	0,43	0,71	0,00	0,14	0,00																
10. AGK-1 - P1/4	0,57	0,21	0,57	0,29	0,00	0,29	0,43	0,57	0,43	0,00															
11. AGK-1 - P3/3	0,64	0,29	0,64	0,36	0,07	0,36	0,50	0,64	0,50	0,07	0,00														
12. AGK-1 - P2/2	0,21	0,29	0,21	0,79	0,50	0,79	0,07	0,21	0,07	0,50	0,57	0,00													
13. AGK-1 - P3/4 (S)	0,86	0,50	0,86	0,00	0,29	0,00	0,71	0,86	0,71	0,29	0,36	0,79	0,00												
14. AGK-1 - P1/2	0,14	0,21	0,14	0,71	0,43	0,71	0,00	0,14	0,00	0,43	0,50	0,07	0,71	0,00											
15. AGK-1 - P1/1	0,57	0,21	0,57	0,29	0,00	0,29	0,43	0,57	0,43	0,00	0,07	0,50	0,29	0,43	0,00										
16. ABP-1 - P2 (S)	0,86	0,50	0,86	0,00	0,29	0,00	0,71	0,86	0,71	0,29	0,36	0,79	0,00	0,71	0,29	0,00									
17. AGK-1 - P2/1	0,57	0,21	0,57	0,29	0,00	0,29	0,43	0,57	0,43	0,00	0,07	0,50	0,29	0,43	0,00	0,29	0,00								
18. ABP-1 - A1	0,57	0,21	0,57	0,29	0,00	0,29	0,43	0,57	0,43	0,00	0,07	0,50	0,29	0,43	0,00	0,29	0,00	0,00							
19. AGK-1 - P2/6 (C)	0,14	0,21	0,14	0,71	0,43	0,71	0,00	0,14	0,00	0,43	0,50	0,07	0,71	0,00	0,43	0,71	0,43	0,43	0,00						
20. ABP-1 - A3	0,86	0,50	0,86	0,00	0,29	0,00	0,71	0,86	0,71	0,29	0,36	0,79	0,00	0,71	0,29	0,00	0,29	0,29	0,71	0,00					
21. AGK-1 - P3/1	0,86	0,50	0,86	0,00	0,29	0,00	0,71	0,86	0,71	0,29	0,36	0,79	0,00	0,71	0,29	0,00	0,29	0,29	0,71	0,00	0,00				
22. ABP-1 - A2	0,86	0,50	0,86	0,00	0,29	0,00	0,71	0,86	0,71	0,29	0,36	0,79	0,00	0,71	0,29	0,00	0,29	0,29	0,71	0,00	0,00	0,00			
23. AGK-1 - P3/2	0,86	0,50	0,86	0,00	0,29	0,00	0,71	0,86	0,71	0,29	0,36	0,79	0,00	0,71	0,29	0,00	0,29	0,29	0,71	0,00	0,00	0,00	0,00		
24. AGK-1 - P2/4 (C)	0,57	0,21	0,57	0,29	0,00	0,29	0,43	0,57	0,43	0,00	0,07	0,50	0,29	0,43	0,00	0,29	0,00	0,00	0,43	0,29	0,29	0,29	0,29	0,00	
25. AGK-1 - P1/5	0,36	0,00	0,36	0,50	0,21	0,50	0,21	0,36	0,21	0,21	0,29	0,29	0,50	0,21	0,21	0,50	0,21	0,21	0,21	0,50	0,50	0,50	0,50	0,21	0,00

Keterangan: Angka-angka yang digarisbawahi menunjukkan jarak genetik yang sangat dekat antara kultivar AGK-1 dengan kelompok *Typica*

Notes : Underlined numbers showed the proximity relationship between AGK-1 kultivar and Typica group

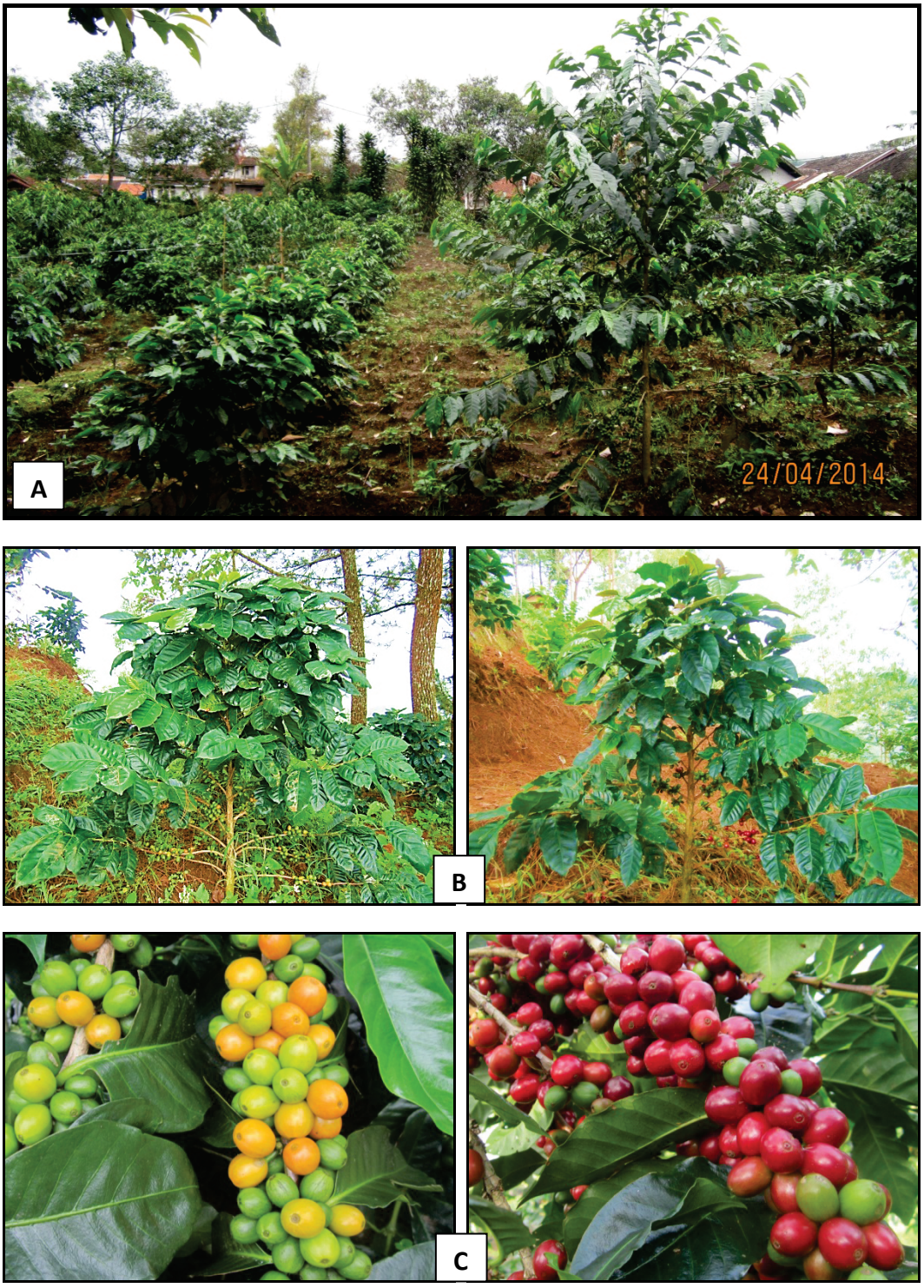


Foto: Dani

Gambar 3. Kultivar kopi Arabika yang dikembangkan petani secara bersamaan pada lahan yang sama: (A) kultivar AGK-1 (kiri) dan Buhun (kanan) umur 2 tahun, (B) kultivar AGK-1 (kiri) dan ABP-1 (kanan) umur 2 tahun, dan (C) buah kultivar AGK-1 (kiri) dan ABP-1 (kanan) umur 4 tahun

Figure 3. Arabica coffee cultivars cultivated by farmers simultaneously in the same field: (A) AGK-1 (left) and Buhun (right) cultivars (2 years old plant), (B) AGK-1 (left) and ABP-1 (right) cultivars (2 years old plant), and (C) coffee berry of AGK-1 (left) and ABP-1 (right) cultivars (4 years old plant)

Kultivar kopi Arabika berbuah kuning yang banyak dikembangkan petani di wilayah Kecamatan Cikajang, Kabupaten Garut tersebut diyakini berasal dari Brasil. Di negara tersebut, banyak dikembangkan kultivar *Catuai* yang merupakan hasil persilangan antara *yellow Caturra* C476-11 dan *Mundo Novo* CP 374–19. Kultivar hibrida tersebut menggabungkan gen vigor pertumbuhan vegetatif lebih baik dari *Mundo Novo* dan perawakan katai dari *Caturra*. Seperti halnya kultivar *Caturra*, kultivar *Catuai* juga terdiri dari dua tipe berdasarkan warna buahnya, yaitu berbuah merah (*Catuai Vermelho*) dan berbuah kuning (*Catuai Amarelo*) (Steiger *et al.*, 2002; Zambolim, 2016). Keduanya memiliki penampilan yang sangat mirip dan hanya mudah dibedakan secara morfologis berdasarkan warna buahnya (merah dan kuning) (Sera *et al.*, 2003). Kemiripan morfologi serupa juga ditunjukan oleh kultivar AGK-1 dan ABP-1 (Gambar 3), meskipun keduanya memiliki karakteristik mutu citarasa yang berbeda (Randriani *et al.*, 2014; Silva, de Queiroz, Ferreira, Corrêa, & Rufino, 2015).

Warna buah kuning pada kultivar *Catuai* diwarisi dari salah satu tetuanya, yaitu kultivar *yellow Caturra*, yang kemungkinan dikendalikan oleh gen resesif dalam kondisi homozigot *xc xc* (Carvalho, Monaco, & Fazuoli, 1979; Krug, Mendes, & Carvalho, 1949) sebagai hasil mutasi dari tipe berbuah merah (Moura *et al.*, 2015). Perubahan warna buah dari merah menjadi kuning diduga berkaitan dengan perubahan metabolisme pembentukan antosianin, seperti pada *raspberry* (Carvalho *et al.*, 2016), anggur (Rustioni, Rocchi, & Failla, 2015) dan *woodland strawberry* (Zhang *et al.*, 2015). Biosintesis antosianin, yang dikendalikan oleh beberapa gen dan faktor transkripsi, aktivitasnya berkurang pada genotipe berbuah kuning (Lijavetzky *et al.*, 2006; Wei *et al.*, 2015). Warna kuning pada kulit buah juga dapat ditentukan oleh kandungan dan komposisi karotenoid, seperti pada tanaman *peach* (Tuan *et al.*, 2015).

KESIMPULAN

Hasil analisis berdasarkan empat penanda SSR polimorfik (M24, SSRCa052, M32, dan M42) menunjukkan adanya keragaman genetik antar nomor/individu dalam kultivar kopi Arabika berbuah kuning (AGK-1). Terbentuk tiga klaster pada koefisien kesamaan genetik 67%. Salah satu klaster menunjukkan kultivar AGK-1 memiliki jarak genetik lebih dekat dengan kelompok *Typica*, sedangkan dua klaster lainnya menunjukkan kedekatan genetik antara kultivar AGK-1 dan ABP-1. Adanya keragaman individu yang tinggi dalam kultivar AGK-1 memberikan peluang untuk melakukan seleksi pohon induk terbaik yang dapat dijadikan sebagai sumber benih.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Dinas Perkebunan Kabupaten Garut yang telah mendukung pelaksanaan kegiatan penelitian serta kepada Bapak Hendra, petani kopi Arabika di Kecamatan Cikajang, Garut yang telah membantu menyediakan bahan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

Andreazi, E., Sera, G. H., de Faria, R. T., Sera, T., Shigueoka, L. H., Carvalho, F. G., & Carducci, F. C. (2015). Resistance to *Meloidogyne paranaensis* in *Coffea arabica* L. progenies. *Australian Journal of Crop Science*, *9*(12), 1190–1196.

Bailey, D. W. (1978). Sources of subline divergence and their relative importance for sublines of six major inbred strains of mice. doi: http://doi.org/10.1016/B978-0-12-507850-4.50020-2.

Baliza, D. P., Cunha, R. L., Guimarães, R. J., Barbosa, J. P. R. A. D., Ávila, F. W., & Passos, A. M. A. (2012). Physiological characteristics and development of coffee plants under different shading levels. *Revista Brasileirade Ciencias Agrarias*, 7(1), 37–43. doi: http://doi.org/10.5039/agraria.v7i1a1305.

Brokaw, J. (2013). *Pollinator habitat availability and diversity in various tropical agroforestry management systems of Coffea arabica in Santa Clara, Chiriqui* (Independent Study Project (ISP) Collection. Paper 1597).

Carvalho, A., Monaco, L. C., & Fazuoli, L. C. (1979). Coffee breeding: XL-progenies and hybrids of the catuaí cultivar. *Bragantia [Online]*, *38*(1), 203–216. doi: http://doi.org/http://dx.doi.org/10.1590/S0006-87051979000100022.

Carvalho, E., Franceschi, P., Feller, A., Herrera, L., Palmieri, L., Arapitsas, P., … Martens, S. (2016). Discovery of A-type procyanidin dimers in yellow raspberries by untargeted metabolomics and correlation based data analysis. *Metabolomics*, *12*(9), 144. doi: http://doi.org/10.1007/s11306-016-1090-x.

Combes, M. C., Andrzejewski, S., Anthony, F., Bertrand, B., Rovelli, P., Graziosi, G., & Lashermes, P. (2000). Characterization of microsatellite loci in *Coffea arabica* and related coffee species. *Molecular Ecology*, *9*, 1178–1180. doi: http://doi.org/10.1046/j.1365-294x.1998.00406.x.

Geleta, M., Herrera, I., Monzón, A., & Bryngelsson, T. (2012). Genetic diversity of arabica coffee (*Coffea arabica* L.) in Nicaragua as estimated by simple sequence repeat markers. *The Scientific World Journal*, *2012*, 939820. doi: http://doi.org/10.1100/2012/939820.

Gimase, J. M., Thagana, W. M., Kirubi, D. T., Gichuru, E. K., & Gichimu, B. M. (2011). Genetic characterization of arabusta coffee hybrids and their parental genotypes using molecular markers. *Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology*, *15*(2), 31–42.

Gomez, C., Batti, A., Le Pierrès, D., Claudine, C., Serge, H., Alexandre, de K., … Valérie, P. (2010). Favourable habitats for Coffea inter-specific hybridization in central New Caledonia: Combined genetic and spatial analyses. *Journal of Applied Ecology*, *47*(1), 85–95. doi: http://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2009.01762.x.

Gomez, C., Despinoy, M., Hamon, S., Hamon, P., Salmon, D., Doffou, S., … Poncet, V. (2016). Shift in precipitation regime promotes interspecific hybridization of introduced Coffea species. *Ecology and Evolution*, *6*(10), 3240–3255. doi: http://doi.org/ 10.1002/ece3.2055.

Izzah, N. K., Randriani, E., & Dani. (2015). Analisis kekerabatan genetik kultivar kopi arabika berbuah kuning dan berbuah merah berdasarkan marka SSR. *J. TIDP*, *2*(3), 113–122. doi: http://dx.doi.org/10.21082/jtidp.v2n3.2015.p113-122.

Jiang, G. (2010). Molecular markers and marker-assisted breeding in plants. In S. B. Andersen (Ed.), *Plant breeding from laboratories to fields* (pp. 45–83). InTech. doi: http://doi.org/http://dx.doi.org/10.5772/52583.

Kathurima, C. W., Kenji, G. M., Muhoho, S. M., Boulanger, R., Gichimu, B. M., Gichuru, E. K., & Kathurima C. W. (2012). Genetic diversity among commercial coffee varieties, advanced selections and museum collections in Kenya using molecular markers. *International Journal of Biodiversity and Conservation*, *4*(2), 39–46. doi: http://doi.org/10.5897/IJBC11.231.

Kiguongo, A. P. K., Omondi, C. O., Gichuru, E. K., & Kasili, C. O. (2014). Analysis of simple sequence repeat markers linked to coffee berry disease resistance genes in a segregating population of arabica coffee (*Coffea arabica* L .). *Int. J. Biotechnol. Food Sci.*, *2*(December), 156–166.

Krug, C. A., Mendes, J. E. T., & Carvalho, A. (1949). Taxonomia de *Coffea arabica* L.: II - *Coffea arabica* L. Var. Caturra e sua forma Xanthocarpa. *Bragantia*, *9*(9–12), 157–163. doi: http://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004.

Lijavetzky, D., Ruiz-García, L., Cabezas, J. A., Andrés, M. T. De, Bravo, G., Ibáñez, A., … Martínez-Zapater, J. M. (2006). Molecular genetics of berry colour variation in table grape. *Molecular Genetics and Genomics*, *276*(5), 427–435. doi: http://doi.org/10.1007/s00438-006-0149-1.

Liu, K., & Muse, S.V. (2005). PowerMarker: Integrated analysis environment for genetic marker data. *Bioinformatics*, *21*, 2128–2129.

Maluf, M. P., Silvestrini, M., Ruggiero, L. M. de C., Guerreiro Filho, O., & Colombo, C. A. (2005). Genetic diversity of cultivated Coffea arabica inbred lines assessed by RAPD, AFLP and SSR marker systems. *Scientia Agricola*, *62*(4), 366–373. doi: http://doi.org/10.1590/S0103-901620050004000 10.

Mishra, M. K., & Slater, A. (2012). Recent advances in the genetic transformation of coffee. *Biotechnology Research International*. doi: http://doi.org/10.1155/2012/580857.

Missio, R., Caixeta, E., Zambolin, E., Zambolin, L., Cruz, C., & Sakiyama, N. (2010). Polymorphic information content of SSR markers for *Coffea* spp. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, *10*, 89–94.

Missio, R. F., Caixeta, E. T., Zambolim, E. M., & Sakiyama, N. S. (2009). Development and validation of SSR markers for *Coffea arabic*a L. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, *9*, 361–371.

Motta, L. B., Soares, T. C. B., Ferrão, M. A. G., Caixeta, E. T., Lorenzoni, R. M., & Neto, J. D. de S. (2014). Molecular characterization of arabica and conilon coffee plants genotypes by SSR and ISSR markers. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, *57*(5), 728–735. doi: http://doi.org/10.1590/S1516-8913201402071.

Moura, W. de M., Soares, Y. J. B., Júnior, A. T. do A., de Lima, P. C., Martinez, H. E. P., & Gravina, G. de A. (2015). Genetic diversity in Arabica coffee grown in potassium-constrained environment. *Ciênc. Agrotec., Lavras*, *39*(1), 23–31.

Noirot, M., Charrier, A., Stoffelen, P., & Anthony, F. (2015). Reproductive isolation, gene flow and speciation in the former Coffea subgenus: A review. *Trees*, *30*(3), 597–608. doi: http://doi.org/10.1007/s00468-015-1335-8.

Pereira, T. B., Setotaw, T. A., Santos, D. N., Carvalho, G. R., Rezende, R. M., & Lavras, U. F. De. (2016). Identification of microsatellite markers in coffee associated with resistance to Meloidogyne exigua. *Genetics and Molecular Research*, *15*(3), 2–3. doi: http://doi.org/http://dx.doi.org/10.4238/gmr.15038054.

Randriani, E., Dani, & Wardiana, E. (2014). Evaluasi Ukuran Biji Beras, Kadar Kafein, dan Mutu Cita Rasa Lima Kultivar Kopi Arabika. *Jurnal Tanaman Industri dan Penyegar*, *1*(1), 49–56. doi: http://dx.doi.org/10.21082/jtidp.v1n1.2014.p49-56.

Rohlf, F.J. (2000). NTSYS-PC, numerical taxonomy system for the PC, ExeterSoftware, Ver. 2.1. Setauket: Applied Biostatistics Inc.

Rubiyo, Izzah, N.K., Sulistiyorini, I., & Tresniawati, C. (2015). Evaluation of genetic diversity in cacao collected from kolaka, Southeast Sulawesi, using SSR markers. Indones. J. Agric. Sci., *16*(2), 71–78.

Rustioni, L., Rocchi, L., & Failla, O. (2015). Effect of anthocyanin absence on white berry grape (*Vitis vinifera* L.). *Vitis - Journal of Grapevine Research*, *54*, 239–242.

Sera, T., Ruas, P. M., Ruas, C. D. F., Diniz, L. E. C., Carvalho, V. D. P., Rampim, L., … Silveira, S. R. Da. (2003). Genetic polymorphism among 14 elite *Coffea arabica* L. cultivars using RAPD markers associated with restriction digestion. *Genetics and Molecular Biology*, *26*(1), 59–64. doi: http://doi.org/10.1590/S1415-47572003000100010.

Silva, S. de A., de Queiroz, D. M., Ferreira, W. P. M., Corrêa, P. C., & Rufino, J. L. dos S. (2015). Mapping the potential beverage quality of coffee produced in the Zona da Mata, Minas Gerais, Brazil. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *96*, 3098–3108. doi: http://doi.org/10.1002/jsfa.7485.

Steiger, D. L., Nagai, C., Moore, P. H., Morden, C. W., Osgood, R. V, & Ming, R. (2002). AFLP analysis of genetic diversity within and among *Coffea arabica* cultivars. *Theor Appl Genet*, *105*, 209–215. doi: http://doi.org/10.1007/s00122-002-0939-8.

Teressa, A., Crouzillat, D., Petiard, V., & Brouhan, P. (2010). Genetic diversity of Arabica coffee (*Coffea arabica* L.) collections. *Ethiopian Journal of Applied Sciences and Technology*, *1*(1), 63–79.

Tran, T. M. H. (2005). *Genetic variation in cultivated coffee (Coffea arabica L.) accessions in northern New South Wales, Australia*. Lismore, NSW: Southern Cross University.

Tuan, P. A., Bai, S., Yaegaki, H., Tamura, T., Hihara, S., Moriguchi, T., & Oda, K. (2015). The crucial role of PpMYB10.1 in anthocyanin accumulation in peach and relationships between its allelic type and skin color phenotype. *BMC Plant Biology*, *15*(1), 280. doi: http://doi.org/10.1186/s12870-015-0664-5.

Wei, H., Chen, X., Zong, X., Shu, H., Gao, D., & Liu, Q. (2015). Comparative transcriptome analysis of genes involved in anthocyanin biosynthesis in the red and yellow fruits of sweet cherry (*Prunus avium* L.). *PLoS ONE*, *10*(3), 1–20. doi: http://doi.org/10.1371/journal.pone.0121164.

Yu, Q., Guyot, R., Kochko, A. De, Byers, A., Navajas-pe, R., Langston, B. J., … Ming, R. (2011). Micro-collinearity and genome evolution in the vicinity of an ethylene receptor gene of cultivated diploid and allotetraploid coffee species (*Coffea*). *The Plant Journal*, *67*, 305–317. doi: http://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2011.04590.x.

Zambolim, L. (2016). Current status and management of coffee leaf rust in Brazil. *Tropical Plant Pathology*, *41*(1), 1–8. doi: http://doi.org/10.1007/s40858-016-0065-9.

Zhang, M., Mao, W., Zhang, G., & Wu, F. (2014). Development and characterization of polymorphic ESTSSR and genomic SSR markers for tibetan annual wild barley. *PLoS ONE*, *9*(4), 1–10. doi: http://doi.org/10.1371/journal.pone.0094881.

Zhang, Y., Li, W., Dou, Y., Zhang, J., Jiang, G., Miao, L., … Zhang, Z. (2015). Transcript quantification by RNA-Seq reveals differentially expressed genes in the red and yellow fruits of *Fragaria vesca*. *PLoS ONE*, *10*(12), 1–15. doi: http://doi.org/10.1371/journal.pone.0144356.

PENGARUH PENYIMPANAN DAN PENGEMASAN BATANG ENTRES TERHADAP KEBERHASILAN OKULASI HIJAU TANAMAN KARET

EFFECT OF STORING AND PACKAGING OF SCION STICKS ON THE SUCCESS OF RUBBER GREEN BUDDING

[*] Saefudin dan Edi Wardiana

Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar
Jalan Raya Pakuwon Km 2, Parungkuda, Sukabumi 43357 Indonesia
[*] *udzin61@gmail.com*

(Tanggal diterima: 12 April 2016, direvisi: 16 Mei 2016, disetujui terbit: 12 Juli 2016)

ABSTRAK

Jarak yang jauh antara kebun entres dengan kebun produksi menyebabkan batang entres untuk okulasi hijau tanaman karet memerlukan proses penyimpanan dan pengangkutan. Oleh karena itu, teknologi penyimpanan dan pengemasan batang entres karet perlu diketahui. Tujuan penelitian adalah mengetahui pengaruh periode penyimpanan dan jenis pengemasan batang entres terhadap keberhasilan dan pertumbuhan okulasi hijau tanaman karet. Penelitian dilakukan di Kebun Percobaan Pakuwon, Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar (Balittri), Sukabumi, mulai bulan Februari sampai Mei 2015. Rancangan yang digunakan adalah petak terpisah yang diulang 3 kali. Sebagai petak utama adalah 3 periode penyimpanan batang entres, yaitu 3, 4, dan 5 hari setelah panen. Sebagai anak petak adalah 4 teknik pengemasan batang entres: (1) kotak kayu dengan media 5 lapis kertas koran yang dibasahi dan batang entres tanpa kantong plastik, (2) kotak kayu dengan media serbuk gergaji yang dibasahi dan batang entres tanpa kantong plastik, (3) kotak kayu dengan media 5 lapis kertas koran dibasahi dan batang entres dibungkus kantong plastik, dan (4) kotak kayu dengan media serbuk gergaji dibasahi dan batang entres dibungkus kantong plastik. Peubah yang diamati adalah tingkat keberhasilan okulasi dan pertumbuhan tunas hasil okulasi. Hasil penelitian menunjukkan tingkat keberhasilan serta pertumbuhan tunas okulasi hijau dari batang entres karet yang disimpan selama 4 hari tidak berbeda nyata dengan yang disimpan selama 3 hari. Teknik pengemasan paling baik adalah berupa kotak kayu dengan media 5 lapis kertas koran atau serbuk gergaji yang dibasahi dan batang entres dibungkus kantong plastik.

Kata kunci: Karet, okulasi hijau, penyimpanan, pengemasan, batang entres

ABSTRACT

The long distance between scion and production garden requires storage and transport processes for the scion that are needed in rubber green budding. Therefore, information about the rubber scion storage and packaging technology need to be known. This study was aimed to determine the effect of storage period and packaging types of scion on the success and growth of rubber green budding. The study was conducted at Pakuwon Experimental Station of Indonesian Industrial and Beverage Crops Research Institute, Sukabumi, from February until May 2015. The split plot design with three replications was used in this study. The main plot factor was three levels of scion storage periods, i.e. 3, 4, and 5 days after harvesting the scion. The subplot factor was the 4 techniques of scion packaging: (1) the wood box with five layers of moistened newsprint paper, (2) the wood box with moistened sawdust, (3) the wood box with five layers of moistened newsprint paper and scion wrapped in plastic bags, and (4) the wood box with moistened sawdust and scion wrapped in plastic bags. The variables measured were the success level and bud growth of rubber green budding. The results showed that the success level and growth of rubber green budding from scion stored for 4 days are not significantly different compared to those that stored for 3 days. Meanwhile, the best technique of scion packaging is the woodbox with five layers of moistened newsprint or moistened sawdust medium and the scion wrapped in plastic bags.

Keywords: *Rubber, green budding, storage, packaging, scion sticks*

PENDAHULUAN

Tingkat keberhasilan okulasi hijau tanaman karet (*Hevea brassiliensis*) masih tergolong sedang dengan tingkat kesulitan yang lebih tinggi bila dibandingkan dengan okulasi cokelat. Perbedaan lainnya dibandingkan dengan okulasi cokelat, pada okulasi hijau umur entresnya lebih muda, yaitu umur 5–6 bulan, dan masih berwarna hijau dengan ukuran diameternya lebih kecil, yaitu 0,5–1,0 cm, sedangkan pada okulasi cokelat umur entres 7–14 bulan dengan diameternya 2,5–4,0 cm. Salah satu keunggulan yang dimiliki okulasi hijau di antaranya adalah umur benih siap tanam lebih cepat, yaitu 8–10 bulan, sedangkan pada okulasi cokelat 12–18 bulan (Amypalupy, 2010; Boerhendhy, 2013).

Umur entres lebih muda dengan ukuran yang relatif lebih kecil merupakan salah satu penyebab lebih sulitnya pelaksanaan okulasi hijau dibandingkan dengan okulasi cokelat, dan hal ini pula yang menyebabkan lebih rendahnya tingkat keberhasilan yang diperoleh. Rata-rata tingkat keberhasilan okulasi hijau pada 3 minggu setelah okulasi (MSO) dengan menggunakan batang bawah klon PB 260 dan IRR 118 masing-masing 76,2% dan 70,4% (Junaidi, Atminingsih, & Siagian, 2014), sedangkan penelitian lainnya dengan menggunakan klon RRIM 600 sebagai entres dengan 5 klon lainnya sebagai batang bawah rata-rata tingkat keberhasilannya pada 4 MSO adalah 83,33% (Khotcharat, Sdoodee, & Meesawat, 2016). Sementara itu, tingkat keberhasilan okulasi cokelat bisa mencapai di atas 90%.

Kendala-kendala pada okulasi hijau yang dikemukakan di atas akan lebih terasa lagi apabila entres yang akan digunakan mengalami penyimpanan dalam proses pengangkutan karena jarak antara kebun entres dengan kebun produksi cukup jauh. Kondisi seperti ini sering dialami oleh para produsen benih yang tidak hanya menjualnya dalam bentuk benih siap tanam, tetapi memperoduksi juga materi yang masih berupa bahan entres. Saefudin & Wardiana (2015) mengemukakan bahwa tingkat keberhasilan okulasi hijau dari entres yang mengalami penyimpanan selama 2–4 hari dengan media berupa kertas koran, serbuk gergaji, dan atau *cocopeat* yang dibasahi ternyata masih rendah, yaitu maksimum baru mencapai 38,89%.

Menurunnya tingkat keberhasilan okulasi dan atau penyambungan (*grafting*) tanaman berkayu dengan entres yang mengalami penyimpanan adalah karena menurunnya kadar air entres selama proses penyimpanan (Sutarto, Sunarjono, & Hasan, 1989; Jawal, 2008; Hartmann, Kester, Davies, & Geneve, 2010; Saefudin & Wardiana, 2015). Oleh karena itu, upaya untuk mempertahankan kadar air batang entres yang mengalami penyimpanan perlu dilakukan melalui perbaikan teknik dan media penyimpanan serta teknologi pengemasannya. Masih rendahnya tingkat keberhasilan yang diperoleh pada penelitian Saefudin & Wardiana (2015), perlu ditingkatkan lagi dengan memperbaiki teknologi pengemasan dan memperpanjang periode simpan.

Salah satu teknik pengemasan yang dapat dilakukan untuk mempertahankan kadar air benih selama penyimpanan dan atau pengangkutan di antaranya dengan menggunakan kemasan kantong plastik *polyethylene*. Melalui penggunaan kantong plastik sebagai kemasan maka laju pertukaran gas dan metabolisme lainnya pada benih-benih yang mengalami penyimpanan dapat ditekan (Pasquini *et al.*, 2012) sehingga kadar air benih masih dalam kondisi yang cukup untuk mempertahankan viabilitasnya.

Teknologi praktis tentang penyimpanan dan pengemasan benih sangat diperlukan oleh para produsen benih yang memiliki jangkauan usaha cukup luas dengan distribusi benih cukup tinggi. Bagi produsen benih, penguasaan teknologi penyimpanan, pengemasan, dan pengangkutan benih maupun bahan calon benih merupakan hal yang memegang peranan penting. Penelitian bertujuan mengetahui pengaruh lama periode penyimpanan dan teknik pengemasan batang entres terhadap keberhasilan okulasi dan pertumbuhan tunas hasil okulasi hijau tanaman karet.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di Kebun Percobaan (KP) Pakuwon, Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar (Balittri), pada ketinggian tempat 450 m di atas permukaan laut dengan jenis tanah Latosol dan tipe iklim B (Schmidt & Fergusson), mulai bulan Februari sampai Mei 2015.

Rancangan Penelitian

Rancangan yang digunakan adalah petak terpisah (*split plot design*) dengan tiga ulangan. Sebagai petak utama adalah lamanya periode simpan batang entres karet klon PB 260 yang terdiri atas 3 taraf, yaitu (1) tiga hari, (2) empat hari, dan (3) lima hari setelah panen entres. Sebagai anak petak adalah 4 teknik pengemasan batang entres: (1) kotak kayu dengan media 5 lapis kertas koran yang dibasahi dan batang entres tanpa kantong plastik, (2) kotak kayu dengan media serbuk gergaji yang dibasahi dan batang entres tanpa kantong plastik, (3) kotak kayu dengan media 5 lapis kertas koran dibasahi dan batang entres dibungkus kantong plastik, dan (4) kotak kayu dengan media serbuk gergaji dibasahi dan batang entres dibungkus kantong. Teknik penataan batang entres mengacu pada

Saefudin & Wardiana (2015), tetapi dengan ukuran kotak yang berbeda, yaitu 65 cm × 40 cm × 40 cm karena panjangnya batang entres yang disimpan hanya 60 cm. Cara penyimpanan dilakukan secara bertahap sesuai perlakuan, yaitu mendahulukan perlakuan dengan lama simpan 5 hari, kemudian diikuti secara berturut-turut oleh perlakuan dengan lama simpan 4 dan 3 hari sehingga ketiganya berakhir pada hari yang sama untuk dilakukan okulasi secara serempak dalam satu hari.

Entres yang telah selesai diperlakukan lama penyimpanan dan teknik pengemasan, selanjutnya diokulasikan secara serempak pada batang bawah klon GT 1 dalam polybag. Banyaknya benih hasil okulasi yang digunakan untuk setiap unit percobaan sebanyak 15 benih sehingga seluruhnya diperlukan sebanyak 3 × 4 × 3 × 15 benih = 540 benih hasil okulasi. Peubah yang diamati dalam penelitian ini adalah (1) persentase okulasi jadi pada 4 minggu setelah okulasi (MSO), (2) persentase pecah mata tunas pada 4 dan 8 MSO, serta (3) panjang tunas hasil okulasi, (4) jumlah daun pada tunas hasil okulasi, dan (5) diameter tunas hasil okulasi pada 8 MSO. Kriteria penetapan okulasi hijau yang dinilai jadi didasarkan pada penampilan mata tunas okulasi yang masih berwarna hijau dan segar pada saat pengamatan.

Analisis Data

Data dianalisis dengan analisis ragam (anova), apabila hasil anova nyata maka dilanjutkan dengan uji beda rata-rata perlakuan menggunkan uji Tukey pada taraf 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil analisis ragam menunjukkan tidak ada interaksi antara periode penyimpanan batang entres dengan teknik pengemasannya terhadap semua peubah yang diamati. Hal ini memberikan pengertian bahwa kedua faktor perlakuan tersebut bersifat saling bebas (tidak saling mempengaruhi) sehingga berapa pun lama simpan batang entres tidak dipengaruhi atau mempengaruhi jenis kemasan yang digunakan. Berdasarkan hasil ini maka pembahasan selanjutnya akan difokuskan terhadap masing-masing faktor, yaitu periode penyimpanan dan jenis kemasan batang entres.

Tabel 1. Pengaruh lama simpan terhadap keberhasilan okulasi hijau tanaman karet
Table 1. Effect of storage period on the success of rubber green budding

No.	Lama simpan	Keberhasilan okulasi (%)		
		Okulasi jadi pada 4 MSO (%)	Pecah mata tunas pada 4 MSO (%)	Pecah mata tunas pada 8 MSO (%)
1.	3 hari	71,67 a	34,44	45,56 a
2.	4 hari	71,67 a	29,44	36,11 b
3.	5 hari	63,34 b	32,78	37,78 b
Rata-rata		68,89	32,22 tn	39,82

Keterangan : Angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada setiap kolom tidak berbeda nyata berdasarkan uji Tukey pada taraf 5%; MSO = minggu setelah okulasi; tn = tidak nyata
Notes : Numbers followed by the same letters in each column are not significantly different according to Tukey's test at 5% levels; MSO = weeks after budding; tn = not significant

Tabel 2. Pengaruh lama simpan terhadap pertumbuhan tunas okulasi hijau karet
Table 2. Effect of storage period on buds growth of rubber green budding

No.	Lama simpan	Pertumbuhan tunas hasil okulasi pada 8 MSO		
		Panjang (cm)	Jumlah daun	Diameter (cm)
1.	3 hari	27,85 a	10,47	0,62 a
2.	4 hari	26,57 a	9,77	0,61 a
3.	5 hari	22,53 b	9,38	0,52 b
Rata-rata		25,65	9,87 tn	0,58

Keterangan : Angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada setiap kolom tidak berbeda nyata berdasarkan uji Tukey pada taraf 5%; MSO = minggu setelah okulasi; tn = tidak nyata
Notes : Numbers followed by the same letters in each column are not significantly different according to Tukey's test at 5% levels; MSO = weeks after budding; tn = not significant

Pengaruh Periode Penyimpanan Batang Entres terhadap Keberhasilan Okulasi Hijau

Periode penyimpanan batang entres berpengaruh nyata terhadap persentase okulasi jadi pada 4 MSO dan persentase pecah mata tunas pada 8 MSO (Tabel 1), serta terhadap panjang dan diameter tunas hasil okulasi pada 8 MSO (Tabel 2).

Periode penyimpanan batang entres selama 5 hari menyebabkan persentase okulasi jadi lebih rendah serta pertumbuhan tunas lebih pendek dan diameternya lebih kecil dibandingkan dengan lama simpan 3 dan 4 hari. Tidak terdapat perbedaan pengaruh yang nyata antara periode penyimpanan entres selama 3 dan 4 hari terhadap parameter keberhasilan dan pertumbuhan tunas hasil okulasi, kecuali parameter pecah mata tunas pada 8 MSO. Sementara itu, perlakuan lama simpan belum berpengaruh terhadap persentase pecah mata tunas pada 4 MSO. Pengaruh perlakuan baru terlihat pada 8 MSO dan diduga proses pecah mata tunas masih akan terus berlangsung sampai umur di atas 8 MSO, walaupun pada penelitian ini hanya diamati sampai 8 MSO. Hal ini dapat dilihat dari adanya peningkatan rata-rata persentase pecah mata tunas dari 4 MSO (32,22%) ke 8 MSO (39,82%). Selain itu, persentase pecah tunas pada 8 MSO masih di bawah rata-rata persentase okulasi yang jadi (68,89%) sehingga peluang terjadinya pecah tunas masih terbuka lebar sejalan dengan bertambahnya umur setelah okulasi.

Berdasarkan pada Tabel 1 dan 2, secara umum dapat dikemukakan bahwa semakin lama batang entres disimpan maka semakin menurun tingkat keberhasilan okulasi dan pertumbuhan tunas hasil okulasi. Keberhasilan okulasi yang ditunjukkan pada penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh Susiloadi, Sadwiyanti, & Indriyani (1998) pada tanaman manggis; Jawal (2008) pada tanaman avokad; Tandel & Patel (2009) pada tanaman sawo Manila (*Pouteria sapotae*); dan Manner, Griffis, & McDonald (2011) pada tanaman ceremai Belanda (*Eugenia uniflora* L.). Berdasarkan peubah panjang tunas hasil okulasi, dilaporkan bahwa semakin lama masa simpan entres maka semakin pendek ukuran panjang tunas yang dihasilkan (Jawal, 2008).

Parameter keberhasilan okulasi (Tabel 1) dan pertumbuhan tunas hasil okulasi (Tabel 2) menunjukkan pola yang sama, yaitu semakin tinggi tingkat keberhasilan okulasi maka semakin tinggi pula pertumbuhan tunas hasil okulasi. Pendapat ini sejalan dengan hasil penelitian Hamdan & Basheer-Salimia (2010) yang menunjukkan bahwa semakin tinggi tingkat keberhasilan dan kecepatan pecah tunas pada sambungan tanaman anggur maka semakin panjang ukuran tunas yang dihasilkan dan semakin baik pula perkembangan akarnya. Hasil penelitian lain pada penyambungan tanaman jambu mete yang dilakukan oleh Chipojola *et al*. (2013) menunjukkan adanya hubungan positif antara kecapatan munculnya tunas dengan jumlah daun, ukuran daun, dan tinggi tajuk. Selanjutnya hasil penelitian Pranowo & Wardiana (2016) menunjukkan bahwa tingkat keberhasilan sambungan pada tanaman kakao memiliki hubungan positif dengan persentase benih yang telah bertunas dan kecepatan munculnya tunas.

Pada Tabel 1 dan 2 dapat dilihat bahwa dari 4 peubah yang berbeda nyata, terdapat tiga peubah (persentase okulasi jadi, tinggi tunas, dan diameter tunas) yang memperlihatkan perlakuan lama simpan 3 dan 4 hari tidak berbeda nyata, tetapi keduanya nyata lebih tinggi daripada yang disimpan 5 hari. Hanya satu peubah saja, yaitu persentase pecah mata tunas pada 8 MSO, yang memperlihatkan lama simpan 4 hari tidak berbeda dengan 5 hari. Oleh karena itu, secara umum dapat disimpulkan bahwa lamanya penyimpanan batang entres karet untuk okulasi hijau sebaiknya dilakukan paling lama 4 hari. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh Saefudin & Wardiana (2015).

Pengaruh Jenis Kemasan terhadap Keberhasilan Okulasi Hijau

Perbedaan jenis kemasan batang entres berpengaruh nyata terhadap persentase okulasi jadi dan pecah mata tunas pada 4 dan 8 MSO (Tabel 3), serta terhadap pertumbuhan panjang dan diameter tunas yang dihasilkan pada 8 MSO (Tabel 4).

Kemasan kotak kayu yang dilengkapi dengan media 5 lapis kertas koran dan serbuk gegaji yang dibasahi dan batang entres dibungkus dengan kantong plastik (perlakuan 3 dan 4) memperlihatkan pengaruh lebih baik daripada kemasan yang tidak menggunakan kantong plastik (perlakuan 1 dan 2) terhadap persentase pecah tunas pada 4 dan 8 MSO (Tabel 3), serta terhadap panjang dan diamater tunas hasil okulasi pada 8 MSO (Tabel 4). Sementara antara perlakuan 3 dan 4 tidak menunjukkan adanya perbedaan yang nyata. Hal ini memberikan indikasi bahwa perlakuan dengan kemasan kantong plastik memiliki peranan penting dalam mempertahankan kesegaran dan viabilitas batang entres selama proses penyimpanan.

Tabel 3. Pengaruh jenis kemasan terhadap keberhasilan okulasi hijau karet
Table 3. Effect of packaging types on the success level of rubber green budding

No.	Jenis kemasan	Keberhasilan okulasi (%)		
		Okulasi jadi pada 4 MSO (%)	Pecah mata tunas pada 4 MSO (%)	Pecah mata tunas pada 8 MSO (%)
1.	Kotak kayu dengan media 5 lapis kertas koran yang dibasahi dan batang entres tanpa dibungkus kantong plastik	75,54 a	31,11 b	39,26 b
2.	Kotak kayu dengan media serbuk gergaji yang dibasahi dan batang entres tanpa dibungkus kantong plastik	52,59 b	23,70 c	29,63 c
3.	Kotak kayu dengan media 5 lapis kertas koran dibasahi dan batang entres dibungkus kantong plastik	77,79 a	36,30 a	45,93 a
4.	Kotak kayu dengan media serbuk gergaji dibasahi dan batang entres dibungkus kantong plastik	69,63 ab	37,79 a	44,44 a
	Rata-rata	68,89	32,22	39,82

Keterangan : Angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada setiap kolom tidak berbeda nyata berdasarkan uji Tukey pada taraf 5%; MSO = minggu setelah okulasi; tn = tidak nyata
Notes : *Numbers followed by the same letters in each column are not significantly different according to Tukey's test at 5% levels; MSO = weeks after budding; tn = not significant*

Tabel 4. Pengaruh jenis kemasan terhadap pertumbuhan tunas okulasi hijau pada 8 MSO
Table 4. Effect of packaging types on buds growth of rubber green budding at 8 MSO

No.	Jenis kemasan	Pertumbuhan tunas hasil okulasi pada 8 MSO		
		Panjang (cm)	Jumlah daun	Diameter (cm)
1.	Kotak kayu dengan media 5 lapis kertas koran yang dibasahi dan batang entres tanpa dibungkus kantong plastik	20,68 b	9,12	0,54 b
2.	Kotak kayu dengan media serbuk gergaji yang dibasahi dan batang entres tanpa dibungkus kantong plastik	24,29 ab	9,40	0,59 ab
3.	Kotak kayu dengan media 5 lapis kertas koran dibasahi dan batang entres dibungkus kantong plastik	26,70 ab	9,54	0,57 ab
4.	Kotak kayu dengan media serbuk gergaji dibasahi dan batang entres dibungkus kantong plastik	30,92 a	11,41	0,63 a
	Rata-rata	25,65	9,87 tn	0,58

Keterangan : Angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada setiap kolom tidak berbeda nyata berdasarkan uji Tukey pada taraf 5%; MSO = minggu setelah okulasi; tn = tidak nyata
Notes : *Numbers followed by the same letters in each column are not significantly different according to Tukey's test at 5% levels; MSO = weeks after budding; tn = not significant*

Pada proses penyimpanan benih, fungsi utama kemasan kantong plastik adalah dapat mengurangi besarnya laju respirasi dan transpirasi batang entres sehingga laju kehilangan air dan cadangan makanan karena kedua proses tersebut dapat ditekan. Saefudin & Wardiana (2015) mengemukakan pentingnya kadar air entres dalam meningkatkan keberhasilan okulasi hijau pada tanaman karet. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan sebelumnya oleh Jawal (2008), Tandel & Patel (2009), dan Manner *et al*. (2011). Bukti lain tentang manfaat kantong plastik untuk mengemas dan menyimpan batang entres karet dapat dilihat dari masih cukup tingginya tingkat keberhasilan okulasi hijau hingga mencapai maksimum 77,79 % pada 4 MSO (Tabel 3), sedangkan hasil penelitian sebelumnya tanpa menggunakan kemasan kantong plastik hanya mencapai maksimum 38,89% (Saefudin & Wardiana, 2015). Bahkan, tingkat keberhasilan tersebut masih lebih tinggi dibandingkan dengan hasil penelitian Junaidi *et al*. (2014) yang entresnya tanpa mengalami proses penyimpanan, yaitu 76,2% dan 70,4% masing-masing untuk batang bawah klon PB 260 dan IRR 118.

Pentingnya penggunaan kemasan dari kantong plastik pada penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Susiloadi *et al*. (1998) pada proses penyimpanan entres tanaman manggis. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa media penyimpanan entres berupa kertas koran yang lembap

dan dibungkus dengan kantong plastik putih ternyata dapat memberikan tingkat keberhasilan sambungan yang cukup baik. Hasil penelitian Tandel & Patel (2009) menunjukkan bahwa media penyimpanan entres berupa kertas koran yang dibalutkan dan kemudian disegel dengan kantong plastik *polyethylene* memberikan tingkat keberhasilan sambungan yang tinggi pada tanaman sawo Belanda. Penggunaan kantong plastik *polyethylene* sebagai kemasan pembungkus entres juga telah dilakukan oleh Rema & Khrisnamoorthy (1998) pada tanaman pala dan oleh Nesbitt, Goff, & Stein (2002) pada tanaman pecan (*Carya illinoinensis*). Laju pertukaran gas dan aktivitas metabolisme lainnya pada saat penyimpanan benih rekalsitran dapat ditekan melalui penggunaan media kemasan dari kantong plastik *polyethylene* sehingga dapat meningkatkan daya simpan benih (Pasquini*et al.*, 2012). Selanjutnya dikemukakan juga bahwa kemasan yang terbuat dari kantong plastik *polyethylene* merupakan media pengemasan yang baik untuk mempertahankan kualitas buah pepaya selama proses penyimpanan (Azene, Workneh, & Woldetsadik, 2014).

KESIMPULAN

Tidak ada interaksi antara lama periode simpan dengan jenis kemasan batang entres terhadap tingkat keberhasilan okulasi dan pertumbuhan tunas hasil okulasi hijau pada tanaman karet. Semakin lama batang entres disimpan maka semakin menurun tingkat keberhasilan okulasi serta pertumbuhan tunas hasil okulasinya. Batang entres yang disimpan selama 4 hari, tingkat keberhasilan okulasinya masih tinggi (71,67%) dan pertumbuhan tunas hasil okulasinya tidak berbeda dengan yang disimpan 3 hari. Selama dalam proses penyimpanan, teknik pengemasan batang entres yang paling baik adalah berupa kotak kayu yang dilengkapi dengan media 5 lapis kertas koran atau serbuk gergaji yang dibasahi dan batang entres dibungkus kantong plastik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Teknisi Litkayasa Balittri, Sukabumi, yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian ini. Penelitian ini didanai oleh DIPA Balittri tahun anggaran 2015.

DAFTAR PUSTAKA

Amypalupy, Kh. (2010). Teknik okulasi. *In 455 Info padu padan teknologi merajut asa ketangguhan agribisnis karet* (pp. 86–96). Medan: Pusat Penelitian Karet.

Azene, M., Workneh, T.S., & Woldetsadik, K. (2014). Effect of packaging materials and storage environment on postharvest quality of papaya fruit. *J. Food Sci. Technol., 51*(6), 1041–1055. doi: 10.1007/s13197-011-0607-6.

Boerhendhy, I. (2013). Prospek perbanyakan bibit karet unggul dengan teknik okulasi dini. *Jurnal Litbang Pertanian, 32*(2), 85–90.

Chipojola, F.M., Mwase, W.F., Kwapata, M.B., Njoloma, J.P., Bokosi, J.M., & Maliro, M.F. (2013). Effect of tree age, scion source and grafting period on the grafting success of cashew nut (*Anacardium occidentale* L.). *Afric. J. of Agric. Res., 8*(46), 5785–5790.

Hamdan, A-J.S., & Basheer-Salimia, R. (2010). Preliminary compatibility between some Table-Gravepine scion and Phylloxera-Resistant rootstock cultivars. *Jordan J. of Agric. Sci., 6*(1), 1–10.

Hartmann, H.T., Kester, D.E., Davies, F.T., & Geneve, R.L. (2010). Principles of grafting and budding. In *Plant propagation: principles and practices* (pp. 415–463). 7th edition. Upper Saddle River, NJ: Education, Prentice Hall.

Jawal, M.A.S. (2008). Pengaruh lama penyimpanan entris terhadap keberhasilan sambung pucuk beberapa varietas avokad. *J. Hort., 18*(4), 402–408.

Junaidi, Atminingsih, & Siagian, N. (2014). Pengaruh jenis mata entres dan klon terhadap keberhasilan okulasi dan pertumbuhan tunas pada okulasi hijau di polibeg. *Jurnal Penelitian Karet, 32*(1), 21–30.

Khotcharat, N., Sdoodee, S., & Meesawat, U. (2016). Growth performance of clonal rubber rootstocks and combining ability test with the scion of clone RRIM 600. *Agricultural and Natural Resources, 50*, 98–103.

Manner, M.M., Griffis, J.L., & McDonald, T.G. (2011). Time after scion harvest and grafting method influence graft success rate for purple-fruited Pianga (*Eugenia uniflora* L.). *Proc. Fla. Stat. Hort. Soc.*, *124*, 28–30.

Nesbitt, M.L., Goff, W.D., & Stein, L.A. (2002). Effect of scionwood packing moisture and cut-end sealing on Pecan graft success. *Hortechnology, 12*(2), 257–260.

Pasquini, S., Mizzau, M., Petrussa, E., Braidot, E., Patui, S., Gorian, F., … Vianello, A. (2012). Seed storage in polyethylene bags of a recalcitrant species (*Quercus ilex*): Analysis of some bio-energetic and oxidative parameters. *Acta Physiologiae Plantarum.,* doi: 10.1007/s11738-012-0996-9. 11p.

Pranowo, D., & Wardiana, E. (2016). Kompatibilitas lima klon unggul kakao sebagai batang atas dengan batang bawah progeni famili *half-sib* klon Sulawesi 01. *Jurnal Tanaman Industri dan Penyegar, 3*(1), 29–36. doi: http://dx.doi.org/10.21082/jtidp.v3n1.2016.p29-36.

Rema, J., & Khrisnamoorthy, B. (1998). Effect of packing materials and storage of scions on graft success in nutmeg (*Myristica fragrans* Houtt.). *Journal of Spice and Aromatic Crops, 7*(2), 147–148.

Saefudin, & Wardiana, E. (2015). Pengaruh periode dan media penyimpanan entres terhadap keberhasilan okulasi hijau dan kandungan air entres pada tanaman karet. *Jurnal Tanaman Industri dan Penyegar, 2*(1), 13–20. doi: http://dx.doi.org/10.21082/jtidp.v2n1.2015.p13-20.

Susiloadi, A., Sadwiyanti, & Indriyani. (1998). Pengaruh lama penyimpanan entris terhadap keberhasilan penyambungan manggis (*Garcinia mangostana* L.). *Stigma, 6*(1), 107–109.

Sutarto, I., Sunarjono, H., & Hasan. (1989). Pengeratan cabang entris pada sambung pucuk avokad, durian, dan duku. *Penel. Hort., 3*(4), 11–15.

Tandel, Y.N., & Patel, C.B. (2009). Effect of scion stick storage on growth and success softwood grafts of sapota cv. KALIPATI. *The Asian J. of Hort., 4*(1), 198–201.

KERAGAMAN DAN KEKERABATAN GENETIK KOLEKSI PLASMA NUTFAH TEH BERDASARKAN KARAKTER MORFOLOGI DAUN DAN KOMPONEN HASIL

GENETIC DIVERSITY AND RELATIONSHIPS OF TEA GERMPLASM COLLECTION BASED ON LEAF MORPHOLOGY CHARACTER AND YIELD COMPONENTS

* Vitria Puspitasari Rahadi[1)], Heri Syahrian Khomaeni[1)], Liberty Chaidir[2)], dan Budi Martono[3)]

Pusat Penelitian Teh dan Kina[1)]
Gambung Pasir Jambu, Kotak Pos 1030, Bandung 40010 Indonesia
*v3a_rahadi@yahoo.com
Fakultas Sain dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Sunan Gunung Djati[2)]
Jalan A.H. Nasution No. 105 Cibiru, Bandung 40614 Indonesia
libertychaidir@uinsgd.ac.id
Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar[3)]
Jalan Raya Pakuwon Km 2 Parungkuda, Sukabumi 43357 Indonesia
budimartono@hotmail.com

(Tanggal diterima: 30 Maret 2016, direvisi: 27 April 2016, disetujui terbit: 12 Juli 2016)

ABSTRAK

Teh (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) merupakan tanaman menyerbuk silang dan memiliki sifat *self incompatible*. Upaya perakitan varietas unggul melalui persilangan buatan memerlukan informasi tingkat kekerabatan antar klon sebagai acuan dalam memilih tetua. Tujuan penelitian adalah mengetahui keragaman dan tingkat kekerabatan 49 aksesi koleksi plasma nutfah teh berdasarkan karakter morfologi daun dan komponen hasil tanaman. Penelitian dilaksanakan di KP Pasir Sarongge, Kabupaten Cianjur, Jawa Barat, mulai bulan April sampai November 2015. Karakter morfologi meliputi panjang dan lebar daun, luas daun, sudut daun, jumlah tulang daun, dan panjang ruas antara daun ke–1 dengan ke–2. Komponen hasil meliputi jumlah peko, bobot peko (p+3), jumlah pucuk burung, bobot pucuk burung (b+1), dan hasil. Data hasil pengamatan digunakan untuk analisis deskriptif dan *unweighted pair group method with arithmetic average* (UPGMA) dengan matriks kesamaan menggunakan software XL-STAT versi 2009 hingga menghasilkan dendrogram antar aksesi plasma nutfah teh. Hasil penelitian menunjukkan 49 klon koleksi plasma nutfah teh yang dievaluasi memiliki keragaman pada karakter hasil, luas daun, jumlah pucuk burung, dan jumlah peko dengan nilai koefisien keragaman 27,77%–51,83%. Hasil dendrogram terbagi ke dalam 4 kelompok. Kelompok I, 34 klon dengan karakteristik morfologi mendekati tipe sinensis, berdaun kecil, dan produktivitas rendah. Kelompok II terdiri dari 12 klon dengan karakteristik morfologi daun dan produktivitas tinggi mendekati tipe assamica. Kelompok III dan IV, masing-masing 1 klon bertipe assamica dengan ciri memiliki daun lebar. Tingkat kekerabatan paling jauh adalah antara kelompok I dengan II (55,59%), sedangkan paling dekat antara kelompok III dan IV (5,76%).

Kata kunci: Teh, plasma nutfah, keragaman, kekerabatan

ABSTRACT

*Tea (*Camellia sinensis *(L.) O. Kuntze) is a cross-pollinated plant that has self-incompatible character. Assembly of superior clones through artificial pollination requires information of genetic relationships between accessions as a reference for parental lines selection. The study was aimed to determine the genetic diversity and relationships of 49 tea clones based on leaf morphology and yield components. The research was conducted at Pasir Sarongge experimental garden, Cianjur, West Java, from April to November 2015. The observed morphological characters were leaf length and width, leaf area, leaf angle, number of vein leaf, and internode between first and second leaves. Meanwhile, yield components were pecco number, pecco weight (p+3), banji bud number, banji bud weigth (b+1), and yield. The data were then used for descriptive analysis and grouping using UPGMA method based on dissimilarity matrix by XL-STAT software version 2009. The research showed that 49 clones observed here have variability on yield, leaf area, number of banji bud, and pecco number with coefficient of diversity 27.77%–51.83%. On the other hand, result of cluster analysis divided tea clones into four groups. The first group consisted of 34 clones with morphological characteristics similar to sinensis type (narrow leaves and low productivity). Group II comprised 12 clones with morphological characteristics (wide leaf) and productivity (high) similar to assamica type. Group III and IV, each contained one clone, and have similarity to assamica. The most far genetic relationships was found between group I and II (55.59%), while the closest one observed between group III and IV (5.76%).*

Keywords: *Tea, germplasm, diversity, genetic relationship*

PENDAHULUAN

Perakitan varietas unggul teh (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) merupakan hal penting yang harus dilakukan untuk mendukung industri perkebunan teh yang berkelanjutan. Kecepatan dan efisiensi perakitan varietas unggul baru teh perlu didukung oleh ketersediaan sumber gen dari koleksi plasma nutfah. Koleksi plasma nutfah teh dikelompokkan ke dalam tanaman asal biji, klon generasi pertama, klon generasi kedua, dan klon-klon harapan. Beberapa aksesi plasma nutfah memiliki keunggulan dalam hal kualitas (PS 1, Cin 143, GMB 9, dan seri GMBS), ketahanan terhadap penyakit cacar daun teh (PS 1, seri GMB), dan keunggulan potensi hasil (klon seri GMB). Astika & Muchtar (1978) menganjurkan beberapa klon generasi pertama sebagai sumber bahan tanam dalam usaha untuk meningkatkan produktivitas teh di Indonesia. Klon-klon tersebut menurut Astika, Danimihardja, Azhari, & Muhtar (1978) juga dapat digunakan sebagai tetua dalam persilangan buatan untuk perakitan varietas unggul baru.

Tanaman teh memiliki sifat *self incompatible* sehingga untuk menghasilkan biji yang dapat tumbuh dengan normal diperlukan penyerbukan silang (Van Harten, 1969). Persilangan buatan merupakan salah satu upaya untuk meningkatkan keragaman genetik baru yang terarah melalui rekombinasi gen-gen yang berasal dari kedua tetuanya. Keberhasilan persilangan buatan ditentukan oleh pemilihan tetua sebagai sumber gen dan tingkat kekerabatan genetiknya. Peluang munculnya keturunan superior lebih besar pada hasil persilangan antara dua klon yang berdaya hasil tinggi dan berkerabat jauh dibandingkan dengan hasil persilangan terbuka (Astika, Sutrisno, & Sriyadi, 2001). Persilangan antar klon dengan tingkat kekerabatan yang dekat dikhawatirkan akan mengakibatkan depresi silang dalam (*inbreeding depression*) sehingga menurunkan kualitas dari turunannya. Nugroho & Suyadi (2013) mengemukakan bahwa "depresi silang dalam" pada tanaman jagung dapat menurunkan komponen pertumbuhan vegetatif dan komponen hasil yang terlihat pada bobot biji per tongkol. Hal tersebut mendasari pentingnya mengetahui tingkat kekerabatan genetik antar tetua untuk mengoptimalkan peluang munculnya keragaman genetik dan heterosis pada populasi F1 (Syukur, Sujiprihati, & Yunianti, 2012).

Hubungan kekerabatan genetik tanaman dapat dievaluasi melalui catatan asal-usul (*pedigree*), analisis serempak sifat-sifat kuantitatif, dan analisis penanda molekuler (Moser & Lee, 1994). Pada tanaman teh, hubungan kekerabatan antar klon dapat diduga berdasarkan keragaman karakter morfologi antar individu dalam populasi (Rajkumar *et al*., 2010; Sriyadi 2012). Pemulia dapat memperkirakan peluang keberhasilan persilangan buatan melalui pemilihan tetua yang memiliki hubungan genetik tidak terlalu dekat maupun terlalu jauh. Penelitian ini bertujuan mengetahui keragaman dan tingkat kekerabatan 49 klon koleksi plasma nutfah teh berdasarkan karakter morfologi daun dan komponen hasil tanaman.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Kebun Percobaan (KP) Pasir Sarongge, Kabupaten Cianjur, Jawa Barat, dengan ketinggian tempat 1.100 m dpl, mulai bulan April sampai November 2015. Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah 49 klon koleksi plasma nutfah teh yang ditanam tahun 1978 dengan jarak tanam 120 cm × 80 cm, masing-masing aksesi terdiri dari 40 tanaman (Tabel 1).

Tabel 1. Koleksi plasma nutfah teh yang digunakan dalam penelitian
Table 1. List of tea germplasm collection used in the study

No.	Klon	No.	Klon	No.	Klon	No.	Klon	No.	Klon
1	PS 1	11	PG 6	21	Mal 8	31	SA 65	41	GMB 8
2	PS 87	12	PG 9	22	GP 3	32	SA 70	42	GMB 9
3	PS 125	13	PG 18	23	Bog 14	33	SA 73	43	GMB 10
4	PS 324	14	PG 22	24	BKS 16	34	GMB 1	44	GMB 11
5	PS 354	15	SA 35	25	BKS 17	35	GMB 2	45	GMBS 1
6	Skm 116	16	SA 40	26	DWT 1	36	GMB 3	46	GMBS 2
7	Skm 118	17	Kiara 8	27	GH 11	37	GMB 4	47	GMBS 3
8	Skm 123	18	KP 4	28	Pam 11	38	GMB 5	48	GMBS 4
9	Cin 143	19	RB 3	29	BD 2	39	GMB 6	49	GMBS 5
10	Cin 176	20	Mal 2	30	SA 63	40	GMB 7		

Penelitian dilakukan dengan metode deskriptif, yaitu dengan cara pengamatan karakter morfologi daun dan komponen hasil. Pengamatan karakter morfologi daun didasarkan pada deskripsi teh (Astika *et al.*, 1978; International Plant Genetic Resources Institute, 1997). Karakter morfologi daun yang diamati adalah panjang dan lebar daun, luas daun, sudut daun, jumlah tulang daun, dan panjang ruas antara daun ke–1 dengan daun ke–2 (cm), diambil dari 5 tanaman yang dipilih secara acak, dan dari masing-masing tanaman diambil 5 buah daun secara acak. Komponen hasil terdiri dari jumlah peko, jumlah pucuk burung, bobot pucuk burung (b+1), bobot pucuk peko (p+3), dan hasil yang diamati dari 5 tanaman tahun pangkas ke-3 per aksesi.

Analisis keragaman genetik dilakukan dengan cara menghitung nilai rata-rata, standar deviasi, nilai minimum, nilai maksimum, dan koefisien keragaman. Nilai koefisien keragaman dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$KK = \frac{S}{\overline{x}}\ x\ 100\%$$

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n}(x_i - \overline{x})^2}{n-1}}$$

Keterangan:
S = simpangan baku (*standard deviation*)
$\overline{x}$ = rata-rata nilai pengamatan
xi = pengamatan ke-i (i = 1, 2, 3, 4, dan 5)
n = jumlah sampel pengamatan

Nilai KK digunakan untuk menduga tingkat keragaman karakter plasma nutfah yang diamati, yaitu nilai KK 0%–25% menunjukkan keragaman yang rendah (Nilasari, Heddy, & Wardiyati, 2013; Hadi, Lestari, & Semeru, 2014), sedangkan keragaman tinggi jika nilai KK > 25% (Purwati, Anggraeni, & Sudarmo, 2015). Tingkat kekerabatan di antara 49 klon koleksi plasma nutfah teh ditentukan dengan metode *Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Average* (UPGMA) menggunakan perangkat lunak XL-*STAT* versi 2009.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Keragaman Karakter Morfologi Daun dan Komponen Hasil

Hasil analisis menunjukkan karakter yang memiliki keragaman rendah adalah sudut daun, jumlah tulang daun, lebar daun, panjang daun, bobot peko, panjang ruas daun 1–2, dan bobot pucuk burung, masing-masing dengan nilai KK 8,56%; 12,56%; 15,44%; 19,34%; 22,43%; 22,63%; dan 24,27% (Tabel 2). Keragaman tinggi ditunjukkan oleh karakter hasil, luas daun, jumlah pucuk burung, dan jumlah peko yang dicerminkan oleh nilai koefisien keragaman > 25%, yaitu masing-masing sebesar 27,77%; 28,19%; 36,17%; dan 51,83% (Tabel 2). Keragaman yang tinggi pada karakter-karakter tersebut memberikan peluang mendapatkan klon unggul dengan sifat jumlah pucuk burung yang rendah melalui seleksi negatif. Selain itu juga dapat dilakukan seleksi positif untuk mendapatkan klon dengan luas daun, jumlah peko, dan produksi tinggi, terutama dalam pemilihan tetua untuk perakitan varietas unggul teh.

Karakter produksi dan jumlah peko biasa digunakan untuk mengukur keunggulan suatu varietas teh atau sebagai kriteria seleksi. Varietas unggul yang diinginkan adalah memiliki potensi hasil dan jumlah peko yang tinggi (Das, Das, & Hazarika, 2012). Potensi hasil tertinggi yang dimiliki oleh klon teh unggul di Indonesia seri GMB mencapai 5.800 kg/ha/th (Astika, Danimihardja, Muchtar, Sriyadi, & Sutrisno, 1999). Hasil penelitian menunjukkan klon PS 87, SA 70, dan GMB 8 memiliki potensi hasil pucuk per perdu > 25 g setiap kali petik atau lebih tinggi dibandingkan dengan klon-klon lainnya. Klon dengan jumlah peko > 10 ditunjukkan klon Bks 16, Dwt 1, PS 1, SA 35, SA 40, SA 63, SA 70, SA 73, GMB 10, GMBS 2, dan GMBS 5.

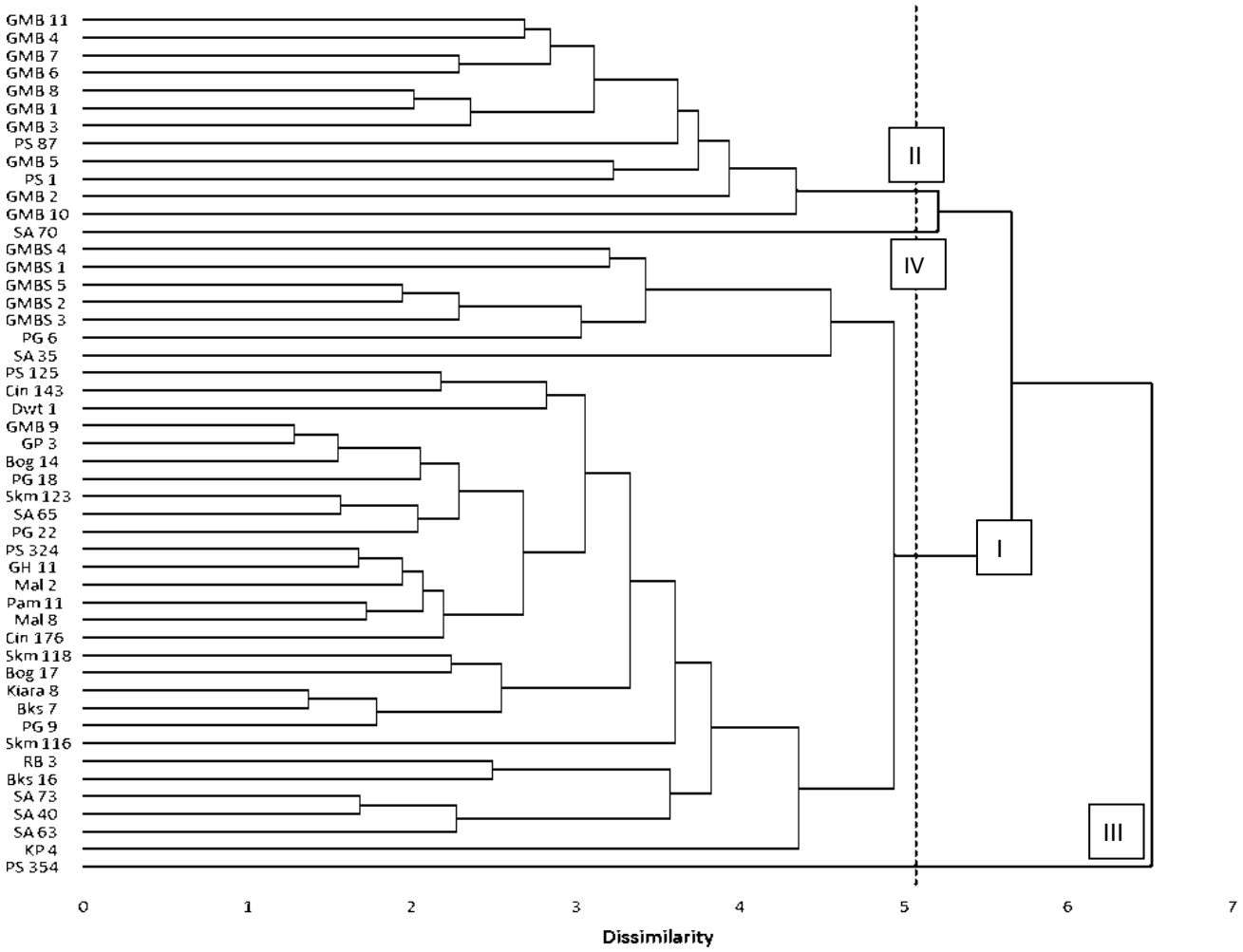
Tabel 2. Statistik deskriptif karakter daun dan komponen hasil plasma nutfah teh
Table 2. Descriptive statistics of leaf characters and yield components of tea germplasm

No.	Karakter	Rata-rata	Simpangan baku	Minimum	Maksimum	KK(%)
1.	Panjang daun (cm)	12,57	2,43	8,30	18,53	19,34
2.	Lebar daun (cm)	4,95	0,76	3,46	7,20	15,44
3.	Luas daun (cm^2)	40,29	11,36	19,41	66,98	28,19
4.	Sudut daun (^{0})	36,55	3,13	31,00	44,60	8,56
5.	Jumlah tulang daun	7,36	0,92	5,60	9,60	12,56
6.	Panjang ruas daun 1–2	1,90	0,43	1,08	2,88	22,63
7.	Jumlah peko	6,98	3,62	1,35	19,95	51,83
8.	Bobot peko (g)	0,88	0,20	0,47	1,24	22,43
9.	Jumlah pucuk burung	10,77	3,90	4,55	29,20	36,17
10.	Bobot pucuk burung (g)	1,02	0,25	0,44	1,72	24,27
11.	Potensi hasil (g)	16,20	4,50	6,91	26,55	27,77

Analisis Kekerabatan

Hasil analisis kekerabatan 49 klon koleksi plasma nutfah teh berdasarkan karakter morfologi daun, komponen hasil, dan daya hasil menunjukkan 4 kelompok fenotipe pada titik potong (*cut point*) sekitar 5,1 skala ketidakmiripan (*dissimilarity*) (Gambar 1, Tabel 3). Kelompok I terdiri dari klon yang bertipe sinensis (GMBS 1, GMBS 2, GMBS 3, GMBS 4, dan GMBS 5) dan klon lain yang cenderung mendekati tipe sinensis, seperti klon GMB 9, klon hibrida yang mendekati tipe sinensis (Astika *et al.,* 1999). Klon Kiara 8, RB 3, dan Cin 143 merupakan tipe assamica namun memiliki morfologi daun yang mendekati tipe sinensis.

Karakter daun merupakan penciri morfologi yang mudah digunakan untuk membedakan antar tipe tanaman teh. Teh bertipe sinensis memiliki ciri-ciri berdaun kecil, bobot peko dengan tiga daun (p+3) sekitar 0,4–0,6 g, panjang daun 5,8–9,2 cm, dan produktivitas rendah (Sriyadi, 2013). Hasil penelitian menunjukkan klon GMBS 1, GMBS 2, GMBS 3, GMBS 4, dan GMBS 5 memiliki panjang daun sekitar 8,3–9,8 cm, bobot peko dengan tiga daun (p+3) 0,47–0,61 g, dan rata-rata potensi hasil per perdu 13,90 g. Klon-klon teh bertipe assamica dan hibrida pada kelompok I umumnya mempunyai kualitas teh yang baik dengan skor citarasa antara 3–4 pada skala 5 (Sriyadi & Khomaeni, 2009; Sriyadi, 2013). Dengan demikian, klon-klon tersebut dapat dijadikan tetua persilangan untuk memperoleh turunan yang memiliki kualitas teh yang baik.



Gambar 1. Dendrogram 49 klon koleksi plasma nutfah teh berdasarkan morfologi daun, hasil, dan komponen hasil
Figure 1. Dendrogram of 49 tea clones based on leaf morphology, yield, and yield components

Tabel 3. Pembagian kelompok 49 klon koleksi plasma nutfah teh berdasarkan pengelompokan kekerabatan
Table 3. The grouping of 49 tea germplasm collection based on genetic relationships

Kelompok	Klon									
I	Bks 16	Bks 7	Bog 14	Bog 17	Cin 143	Cin 176	Dwt 1	GH 11	GP 3	Kiara 8
	KP 4	Mal 2	Mal 8	Pam 11	PG 6	PG 9	PG 18	PG 22	PS 125	PS 324
	RB 3	SA 35	SA 40	SA 63	SA 65	SA 73	Skm 116	Skm 118	Skm 123	GMB 9
	GMBS 1	GMBS 2	GMBS 3	GMBS 4	GMBS 5					
II	PS 1	PS 87	GMB 1	GMB 2	GMB 3	GMB 4	GMB 5	GMB 6	GMB 7	GMB 8
	GMB 10	GMB 11								
III	PS 354									
IV	SA 70									

Tabel 4. Jarak ketidakmiripan antara kelompok (%)
Table 4. Distance dissimilarities between groups (%)

Kelompok	I	II	III	IV
I	0	44,41	55,82	58,06
II	-	0	67,77	46,26
III	-	-	0	94,24
IV	-	-	-	0

Kelompok II merupakan tipe assamica yang memiliki ciri-ciri berdaun besar dengan panjang 15–20 cm dan produktivitas tinggi (lebih dari 2.500 kg/ha/th). Klon GMB 3, GMB 4, GMB 5, GMB 6, GMB 7, GMB 8, GMB 10, dan GMB 11 memiliki kemiripan morfologi daun dan tingkat kekerabatan yang tinggi dengan klon PS 1. Hal ini dikarenakan klon PS 1 merupakan tetua persilangan dari klon-klon tersebut (Astika *et al.,* 1999). Klon PS 87 merupakan klon lokal generasi pertama yang memiliki morfologi daun menyerupai klon PS 1, berdasarkan hasil analisis pengelompokan klon tersebut dengan kelompok PS 1 dan klon seri GMB yang merupakan turunannya. Klon-klon pada kelompok II memiliki potensi hasil yang relatif tinggi (Astika *et al.*, 1999) sehingga dapat dijadikan sebagai tetua persilangan untuk menghasilkan klon-klon berpotensi hasil tinggi. Kelompok III dan IV masing-masing hanya terdiri dari satu klon, yaitu PS 354 dan SA 70, dan merupakan klon dari jenis assamica yang memiliki morfologi daun lebih lebar dibandingkan dengan kelompok lainnya.

Tabel 4 memperlihatkan jarak ketidakmiripan antar klon-klon kelompok I dengan kelompok II sebesar 44,41%, hal ini berarti memiliki tingkat kekerabatan sebesar 55,59%. Dengan perhitungan yang sama maka kekerabatan antara kelompok I dengan III dan IV masing-masing sebesar 44,18% dan 41,94%. Kekerabatan antara kelompok II dengan III dan IV masing-masing 32,23% dan 53,78%, sedangkan antara kelompok III dan IV sebesar 5,76%. Wang *et al.* (2011) memilih tetua persilangan teh dengan tingkat kekerabatan 57,54% dan 54,15%.

Hasil analisis kekerabatan antar klon koleksi plasma nutfah teh dapat menjadi gambaran bagi pemulia dalam menentukan tetua persilangan untuk menghasilkan populasi bastar yang lebih terarah. Pemilihan tetua hendaknya menghindari tingkat kekerabatan yang terlalu dekat karena meningkatkan kemungkinan terkumpulnya gen-gen resesif dan mengakibatkan "depresi silang dalam" pada keturunannya. Hal ini tidak diharapkan dalam proses pemuliaan tanaman (Charlesworth & Willis, 2009). Namun demikian, informasi hubungan kekerabatan berdasarkan karakter morfologi perlu didukung oleh informasi tingkat kekerabatannya berdasarkan pada karakteristik DNA. Menurut Wang *et al.* (2011), sering ditemukan bahwa secara morfologi kelihatan berbeda, tetapi di dalam genomnya ternyata memiliki kesamaan secara genetik.

KESIMPULAN

Empat puluh sembilan klon koleksi plasma nutfah teh yang dievaluasi memiliki keragaman pada karakter hasil, luas daun, jumlah pucuk burung, dan jumlah peko dengan nilai koefisien keragaman 27,77%–51,83%. Hasil dendrogram ke-49 klon tersebut terbagi menjadi 4 kelompok. Kelompok I terdiri dari 34 klon dengan karakteristik morfologi mendekati tipe sinensis, berdaun kecil, dan produktivitas rendah. Kelompok II terdiri dari 12 klon dengan karakteristik morfologi daun

dan produktivitas tinggi yang mendekati tipe assamica. Kelompok III dan IV, masing-masing terdiri dari 1 klon yang bertipe assamica dengan ciri memiliki daun lebar. Tingkat kekerabatan paling jauh adalah antara kelompok I dengan II (55,59%), sedangkan paling dekat antara kelompok III dan IV (5,76%).

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian melalui KKP3N no 44.62/HM.230/I.1/3/2015.K. Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dr. Bambang Sriyadi, Endi Ruhaendi (Alm.), dan Budi Santoso yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

Astika, W., & Muchtar, D. (1978). Anjuran bahan tanaman teh tahun 1978. *Warta BPTK, 4*(3/4), 297–306.

Astika, W., Muchtar, D., & Sutrisno. (1978). Penyandraan klon-klon teh. *Warta BPTK, 4*(3/4), 289–296.

Astika, W., Danimihardja, S., Azhari D., & Muchtar, D. (1978). Persilangan buatan pada tanaman teh. *Warta BPTK, 4*(3/4), 273–281.

Astika, W., Danimihardja, S., Muchtar D., Sriyadi B., & Sutrisno. (1999). Pelepasan klon teh seri PPS 1, PPS 2, MPS 5, MPS 6, MPS 7 dan GPPS 1. *In Prosiding Seminar Nasional Pertemuan Teknis Teh Nasional: Industri Teh Indonesia Memasuki Milinium Ketiga* (pp. 34–42). Bandung, 8–9 November 1999.

Astika, W., Sutrisno, & Sriyadi, B. (2001). Pengujian daya perakaran calon klon dari hasil seleksi pohon induk. *Laporan Hasil Penelitian Tahun Anggaran 2000* (pp. 33–36).

Charlesworth, D., & Willis, J.H. (2009). The genetics of inbreeding depression. *Nature Reviews Genetics, 10*, 783–796.

Das, S.C., Das, S., & Hazarika, M. (2012). Breeding of the tea plant (*Camellia sinensis*) in India. *Global Tea Breeding* (pp. 69–124). Zhejiang University Press. Springer.

Hadi, S.K., Lestari, S., & Semeru, A. (2014). Keragaman dan pendugaan nilai kemiripan 18 tanaman durian hasil persilangan *Durio zibethinus* dan *Durio kutejensis*. *Jurnal Produksi Tanaman*, *2*(1), 79–85.

International Plant Genetic Resources Institute. (1997). Descriptors for tea (*Camellia sinensis*) (p. 50). Rome, Italy: International Plant Genetic Resources Institute.

Moser, H., & Lee, M. (1994). PFLP variation and genealogical distance, multivariate distance, heterosis, and genetic variance in oat. *Theor. Appl. Genet., 87*, 947–956.

Nilasari, A.N., Heddy, J.B.S, & Wardiyati, T. (2013). Identifikasi keragaman morfologi daun mangga (*Mangifera indica* L.) pada tanaman hasil persilangan antara varietas Arumanis 143 dengan Podang Urang umur 2 tahun. *Jurnal Produksi Tanaman*, *1*(1), 61–69.

Nugroho, B., & Suyadi, A. (2013). Keragaan progeny pertama (S1) cultivar jagung lokal srowot dalam rangka perakitan jagung hibrida (*Zea Mays* L.) lokal Bayumas. *Agritech* 15(2), 52–59.

Purwati, R.D., Anggraeni, T.D.A., & Sudarmo, H. (2015). Keragaman karakter morfologi plasma nutfah wijen (*Sesamum indicum* L.). *Buletin Tanaman Tembakau, Serat &Minyak Industri, 7*(2), 69−78.

Rajkumar, S., Karthigeyan, S., Sud, R.K., Rajkumar, R., Das, S.C., & Ahuja, P.S. (2010). Genetic diversity of Indian tea (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze) germplasm detected using morphological characteristics. *J. Cell & Plant Sci., 1*(1), 13–22.

Sriyadi, B., & Khomaeni, H.S. (2009). Klon teh sinensis unggul GMBS 1, GMBS 2, GMBS 3, GMBS 4, dan GMBS 5. *In Prosiding Seminar Nasional Pertemuan Teknis Teh Nasional: Teknologi Terkini Untuk Mendukung Sustainable Tea* (pp. 7–24). Solo, 14–15 Oktober 2009.

Sriyadi, B. (2012). Analisis kemiripan morfologi daun beberapa klon teh generasi pertama. *Jurnal Penelitian Teh dan Kina*, *15*(2), 51–58.

Sriyadi, B. (2013). *Klon teh sinensis unggul GMBS 1, GMBS 2, GMBS 3, GMBS 4, dan GMBS 5* (p. 50). Bandung: Pusat Penelitian Teh dan Kina.

Syukur, M., Sujiprihati, S., & Yunianti, R. (2012). *Teknik pemuliaan tanaman* (p. 348). Jakarta: Penebar Swadaya.

Van Harten, A.M. (1969). *Camellia sinensis*. *In* F.P. Ferweda & F. Wit (Eds.), *Outlines of perennial crop breeding in the tropic.* Wageningen: H. Veerman and Zonen, N.V.

Wang, X.F., Zheng, H.Y., Zheng, W.H., Ao, C.Q., Jin, Y.H., Zhao, L.H., & Jia, L.R. (2011). RAPD-based genetic diversities and correlation with morphological traits in Camellia (Theaceae) cultivars in China. *Genetics and Molecular Research*, *10*(2), 849–859.

PENGUJIAN KLON BATANG ATAS DAN DOSIS PUPUK NPK PADA SAMBUNG SAMPING KAKAO RAKYAT

EVALUATION OF CLONES FOR SCION AND DOSAGE OF NPK FERTILIZER ON SIDE GRAFTING OF SMALLHOLDER CACAO

* Bambang Eka Tjahjana dan Yulius Ferry

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

(Tanggal diterima: 12 Maret 2016, direvisi: 10 April 2016, disetujui terbit: 12 Juli 2016)

ABSTRAK

Produktivitas kakao di Indonesia masih rendah, antara lain disebabkan umur tanaman yang sudah tua. Program peremajaan kakao memerlukan biaya mahal dan waktu yang lama sehingga perlu alternatif yang lebih murah dan cepat, yaitu program rehabilitasi dengan cara sambung samping menggunakan batang atas dari klon unggul. Tujuan penelitian adalah mengetahui pengaruh sepuluh klon kakao sebagai batang atas dan dosis pupuk terhadap sambung samping pertanaman kakao rakyat. Penelitian dilaksanakan pada kebun rakyat di Kabupaten Way Kanan, Lampung Utara, mulai tahun 2012 sampai 2013. Penelitian menggunakan rancangan petak terpisah dengan tiga ulangan; petak utamanya adalah 10 klon unggul kakao sebagai batang atas, yaitu K_1 = PA150, K_2 = Sca12, K_3 = TSH 908, K_4 = ICS60, K_5 = TSH 858, K_6 = IMC67, K_7 = Sulawesi 02, K_8 = Jumbo, K_9 = Sulawesi 01, dan K_{10} = ICCRI 04. Sebagai anak petak adalah dosis pupuk NPK, yaitu P_0 = tanpa pupuk, P_1 = 300 g NPK, P_2 = 600 g NPK, dan P3 = 300 g NPK + 100 g mikoriza. Setiap unit percobaan terdiri dari 6 tanaman. Peubah yang diamati meliputi tingkat keberhasilan penyambungan serta pertumbuhan panjang tunas dan diameter batang tunas. Hasil penelitian menunjukkan tingkat keberhasilan dan pertumbuhan tunas hasil sambung samping yang terbaik untuk kakao rakyat di Kabupaten Way Kanan, Lampung Utara, adalah dengan menggunakan batang atas klon TSH 908 dan TSH 858. Pupuk NPK yang optimal untuk sambung samping tersebut adalah 600 g/pohon/tahun dan 300 g/pohon/tahun ditambah 100 g mikoriza/pohon.

Kata kunci: Kakao, rehabilitasi, klon unggul, dosis pupuk, sambung samping

ABSTRACT

The productivity of cacao in Indonesia is still low, as most of cacao plants in farmers' plantation have grown old. Rejuvenation of old cacao plants needs a lot of cost and time, therefore, it requires a cheaper and faster alternative. One of the alternatives is rehabilitation through side grafting using scion from superior clones. The study was aimed to know the effect of ten cacao clones as scion and dosage of NPK fertilizer for side grafting of cacao plants. The research was conducted in cacao plantation, Way Kanan district, North Lampung, from 2012 to 2013. The split plot design with three replications was used in this study; with the main plot factor was the 10 cacao superior clones as scion i.e. K_1 = PA150, K_2 = Sca12, K_3 = TSH 908, K_4 = ICS60, K_5 = TSH 858, K_6 = IMC67, K_7 = Sulawesi 02, K_8 = Jumbo, K_9 = Sulawesi 01, and K_{10} = ICCRI 04. The subplot factor was the NPK fertilizer dosage, i.e. P_0 = without fertilizer, P_1 = 300 g NPK, P_2 = 600 g NPK, and P3 = 300 g NPK + 100 g mycorrhiza. Each of the expeimental unit consisted of 6 plants. The variables observed were the success level of side grafting, growth of shoot length and diameter of shoot stem. The results showed that the best success level and growth of shoot length of side grafting for cacao plantation in Way Kanan district, North Lampung was using scion obtained from TSH 908 and TSH 858 clones. Meanwhile, the optimal dosage of NPK fertilizer was 600 g/plant/year and 300 g/plant/year + 100 g mycorrhizal/plant.

Keywords: *Cacao, rehabilitation, superior clones, fertilizer dosage, side grafting*

PENDAHULUAN

Perkembangan luas dan produksi perkebunan kakao di Indonesia selama sepuluh tahun terakhir telah meningkat, dari 764.223 ha dengan produksi 698.816 ton pada tahun 2003 menjadi 1.740.612 ha dengan produksi 720.862 ton pada tahun 2013 (Direktorat Jenderal Perkebunan [Ditjenbun], 2014). Jumlah petani kakao diperkirakan telah mencapai 1,7 juta kepala keluarga, dengan luas kepemilikan rata-rata 1 ha. Walaupun perkembangan luas areal begitu pesat, tetapi perkembangan tersebut belum diikuti oleh peningkatan

produktivitas yang optimal. Tahun 2014 produktivitas kakao rakyat hanya mencapai 821 kg/ha/tahun (Ditjenbun, 2014). Hal tersebut salah satunya disebabkan oleh sistem peremajaan tanaman belum berjalan dengan baik, penerapan teknik budi daya kurang baik, dan masih banyaknya penggunaan bibit asal sapuan (Zaenudin & Baon, 2004; Wahyudi & Misnawi, 2007). Menurut data Ditjenbun (2015), secara nasional pada tahun 2014 tanaman kakao rakyat yang telah berumur tua dan rusak mencapai 416.095 (23,91%), dan di beberapa daerah ada yang telah mencapai 35,72%.

Kendala yang menyebabkan tidak berjalannya sistem peremajaan, antara lain membutuhkan biaya yang mahal, terjadi stagnasi pendapatan petani selama tanaman belum berproduksi, dan penyediaan bibit yang cukup banyak dalam waktu bersamaan. Biaya yang dibutuhkan untuk program peremajaan kakao mulai dari persiapan lahan sampai tanam mencapai 78 juta rupiah per hektar, dan akan berproduksi 3–4 tahun kemudian, sedangkan bibit yang diperlukan untuk peremajaan seluas 416.095 ha mencapai 499.314.000 batang. Menurut Tjahjana & Sobari (2014), salah satu program peremajaan tanaman kakao tua atau kurang produktif yang lebih murah dan cepat adalah rehabilitasi melalui teknik sambung samping. Selain akan meremajakan tanaman, rehabilitasi juga dapat mengganti tanaman dengan klon yang dikehendaki (Anita-Sari & Susilo, 2012). Keuntungan sambung samping adalah akan mendapatkan tanaman yang memiliki sifat unggul dari tetuanya, lebih cepat menghasilkan, biaya pemeliharaannya murah, dan prosesnya sangat sederhana (Zakariyya & Yuliasmara, 2015). Hasil kajian Syakir & Ferry (2014) menunjukkan bahwa rehabilitasi kakao melalui sambung samping dapat meningkatkan produksi mencapai 1,5–2,0 ton/ha/tahun pada umur 2 tahun setelah penyambungan.

Program rehabilitasi kakao dengan sambung samping sudah mulai dilaksanakan pada tingkat petani, meskipun tingkat keberhasilannya masih sangat rendah, yaitu mencapai sekitar 50%. Menurut Tjahjana & Sobari (2014) kunci keberhasilan sambung samping pada kakao, antara lain ditentukan oleh penggunaan entres (batang atas) unggul, batang bawah yang sehat, pemeliharaan tanaman, pemupukan, dan pengendalian penyakit. Rendahnya tingkat keberhasilan sambung samping untuk program rehabilitasi tanaman tua selama ini diduga akibat beberapa faktor, antara lain rendahnya tingkat kompatibilitas antara klon yang digunakan sebagai batang atas dengan tanaman tua yang menjadi batang bawah, serta minimnya pemeliharaan pasca sambung samping seperti pemupukan dan pengendalian penyakit. Di samping itu, keberhasilan sambung samping kakao rakyat dipengaruhi juga oleh kondisi lingkungan masing-masing daerah sehinnga sangat memungkinkan tejadinya perbedaan antar daerah pengembangan.

Penelitian bertujuan mengetahui pengaruh sepuluh klon sebagai batang atas dan dosis pupuk terhadap sambung samping pertanaman kakao rakyat di Kabupaten Way Kanan, Lampung Utara.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan pada tanaman kakao rakyat umur > 20 tahun, terletak di Kecamatan Kasui, Kabupaten Way Kanan, Lampung Utara. Tinggi tempat sekitar 340 m dpl, jenis tanah podsolik merah kuning dan iklim termasuk dalam tipe iklim C menurut Oldeman, curah hujan rata-rata 2.200 mm/tahun. Penelitian dilakukan selama 2 tahun, mulai tahun 2012 sampai 2013.

Penelitian menggunakan rancangan acak terpisah. Perlakuan utama terdiri atas 10 klon unggul kakao sebagai batang atas, yaitu K_1= PA 150, K_2= Sca 12, K_3= TSH 908, K_4= ICS 60, K_5= TSH 858, K_6= IMC 67, K_7= Sulawesi 02, K_8= Jumbo, K_9= Sulawesi 01, dan K_{10}= ICCRI 04. Sebagai anak petak adalah dosis pupuk NPK: P_0 = tanpa pupuk (kontrol), P_1 = 300 g NPK/pohon/tahun, P_2 = 600 g NPK/pohon/tahun, dan P_3 = 300 g NPK/pohon/tahun + 100 g mikoriza. Perlakuan diulang sebanyak 3 kali, dan setiap unit percobaan terdiri dari 6 tanaman sehingga jumlah total tanaman percobaan sebanyak 720 pohon.

Batang atas kakao yang digunakan berwarna hijau kecokelatan, diameter 0,75–1,50 cm dengan 3–5 mata tunas. Penyisipan batang atas pada batang tanaman kakao dewasa yang sudah kurang produktif dilakukan pada ketinggian 50 cm dari permukaan tanah. Pemupukan pertama dilakukan 1 bulan sebelum dilakukan sambung samping, kemudian tahun selanjutnya diberikan 2 kali setahun pada awal dan akhir musim hujan, sedangkan pemberian mikoriza dilakukan sebanyak 100 g/pohon 1 bulan setelah pemupukan anorganik. Pengamatan meliputi tingkat keberhasilan penyambungan (persentase tanaman dengan tunas hasil sambung samping yang jadi) pada umur 15 hari setelah penyambungan (HSP), serta pertumbuhan panjang tunas dan diameter tunas umur 6 bulan. Sebagai data pendukung dilakukan pengamatan terhadap kelembapan, suhu udara, dan jumlah curah hujan selama penelitian. Data hasil pengamatan digunakan untuk analisis ragam yang dilanjutkan dengan uji beda rata-rata menggunakan uji Duncan (DMRT=*Duncan's Multiple Range Test*).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil dari analisis ragam tidak menunjukkan adanya pengaruh interaksi yang nyata antara jenis klon sebagai batang atas dengan dosis pupuk terhadap tingkat keberhasilan sambung samping pada 15 HSP serta panjang tunas dan diameter batang tunas hasil sambung samping umur 6 bulan. Sebaliknya, pengaruh masing-masing faktor secara tunggal, yaitu jenis klon dan dosis pupuk, keduanya berpengaruh nyata terhadap tingkat keberhasilan sambung samping serta pertumbuhan tunas hasil sambung samping. Hal ini mengindikasikan bahwa apapun jenis klon yang digunakan ternyata tidak memerlukan dosis pupuk tertentu untuk mendukung keberhasilan sambung samping serta pertumbuhan tunas hasil sambung samping. Berdasarkan hasil tersebut maka pembahasan selanjutnya diarahkan pada pengaruh dari masing-masing faktor yang dimaksud.

Pengaruh Jenis Klon Sebagai Batang Atas

Perbedaan jenis klon sebagai batang atas berpengaruh nyata terhadap keberhasilan sambung samping pada 15 HSP. Tingkat keberhasilan tertinggi diperoleh pada sambung samping menggunakan batang atas klon TSH 908 dan TSH 858, yaitu masing-masing sebesar 80,56% dan 79,57%. Sambung samping menggunakan batang atas dari delapan klon lainnya menunjukkan tingkat keberhasilan 60%, bahkan nilai rata-rata dari seluruh perlakuan yang diuji hanya mencapai 43,64% (Tabel 1). Di Sulawesi Tengah, klon TSH 858 merupakan salah satu klon yang memiliki tingkat keberhasilan sambung samping yang tinggi (Saidah, Negara, & Sahardi, 2015). Pada penelitian ini, tingkat keberhasilan yang dicapai oleh klon TSH 908 (80,56%) dan TSH 858 (79,57%) masih lebih tinggi bila dibandingkan dengan hasil penelitian Basri (2009) dengan rata-rata hanya mencapai 73,47%.

Ditinjau dari pertumbuhan tunasnya, ternyata sambung samping dengan menggunakan batang atas dari klon TSH 908 dan TSH 858 memiliki panjang tunas dan diameter batang tunas relatif tinggi, walaupun tidak berbeda dengan IMC 67 dan Jumbo untuk panjang tunas dan dengan IMC 67, ICS 60, dan ICCRI 04 untuk diameter batang tunas (Tabel 2).

Berdasarkan hasil penelitian dapat diketahui bahwa tidak semua klon unggul kakao dapat digunakan sebagai bahan batang atas pada rehabilitasi tanaman kakao tua di daerah Lampung. Hasil penelitian yang telah dilakukan di Kabupaten Maluku Tengah menunjukkan bahwa klon ICS 60 memiliki tingkat keberhasilan sambung pucuk dan pertumbuhan vegetatif lebih baik dibandingkan dengan klon ICS 13, Sca 60, dan UIT 1. Sementara itu, klon Sulawesi 01 dan Sulawesi 02 yang banyak diminati petani kakao karena produktivitasnya tinggi justru tingkat keberhasilan sambung sampingnya sangat rendah, yaitu masing-masing 34,73% dan 13,89% (Pesireron, 2010).

Tabel 1. Pengaruh klon sebagai batang atas terhadap keberhasilan sambung samping pada 15 hari setelah penyambungan (HSP)
Table 1. Effect of clone as scion on the success of side grafting at 15 days after grafting (HSP)

No.	Jenis klon	Tingkat keberhasilan (%)
1.	PA 150	34,55 d
2.	Sca 12	55,56 b
3.	TSH 908	80,56 a
4.	ICS 60	47,23 c
5.	TSH 858	79,57 a
6.	IMC 67	52,78 b
7.	Sulawesi 01	34,73 d
8.	Jumbo	19,42 e
9.	Sulawesi 02	13,89 e
10.	ICCRI 04	18,06 e
	Rata-rata	43,64

Keterangan : Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji Duncan pada taraf 5%
Notes : Numbers followed by the same letter are not significantly different according to Duncan's test at 5% level

Tabel 2. Pengaruh klon sebagai batang atas terhadap panjang tunas dan diameter batang tunas umur 6 bulan
Table 2. Effect of clone as scion on length and stem diameter of shoot at 6 months age

No.	Jenis klon	Panjang tunas (cm)	Diameter batang tunas (mm)
1.	PA 150	41,71 c	6,33 b
2.	Sca 12	59,92 b	6,10 b
3.	TSH 908	72,17 ab	6,65 b
4.	ICS 60	58,65 b	7,50 a
5.	TSH 858	77,28 a	7,25 ab
6.	IMC 67	75,88 a	7,45 ab
7.	Sulawesi 01	60,09 b	6,70 b
8.	Jumbo	62,56 a	6,48 b
9.	Sulawesi 02	51,38 bc	6,35 b
10.	ICCRI 04	49,86 bc	6,75 ab
	Rata-rata	60,95	6,76

Keterangan : Angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada setiap kolom tidak berbeda nyata berdasarkan uji Duncan pada taraf 5%
Notes : Numbers followed by the same letters in each column are not significantly different according to Duncan's test at 5% level

Tingkat keberhasilan sambung samping yang cukup tinggi dengan menggunakan batang atas klon TSH 908 dan TSH 858 kemungkinan besar disebabkan oleh adanya tingkat kompatibilitas yang baik secara genetik dengan batang bawah yang ada. Hubungan kekerabatan yang dekat menyebabkan kemiripan struktur anatomis maupun fisiologis tanaman sehingga mempermudah proses pertautan antara batang atas dengan batang bawah. Dadzie *et al*. (2014) mengemukakan bahwa faktor genetik dan fisiologis dari batang bawah dan batang atas merupakan faktor utama yang mengakibatkan terjadinya inkompatibilitas.

Salah satu kelemahan teknik sambung samping adalah adanya peluang inkompatibilitas antara batang atas dengan batang bawah (Zakariyya & Yuliasmara, 2015). Oleh karena itu, dalam memilih klon yang akan digunakan sebagai batang atas harus didasarkan pada tingkat kompatibilitas yang tinggi dengan batang bawah. Hal ini penting karena setiap klon memiliki kompatibilitas spesifik (Suhendi, Susilo, & Mawardi, 2000). Tingkat kompatibilitas batang atas dan bawah sangat mempengaruhi keberhasilan proses penggabungan antara jaringan batang atas dan bawah (Rubiyo & Prawoto, 1994). Tahapan terjadinya kompatibilitas penyambungan diawali dengan terbentuknya sel-sel parenkim yang akan menghubungkan jaringan batang atas dengan jaringan batang bawah. Kalus yang terbentuk kemudian terdeferensiasi menjadi jaringan pengangkut *phloem* dan *xylem* (Pina & Errea, 2005).

Pengaruh Dosis Pupuk NPK

Berdasarkan hasil pengujian menunjukkan bahwa dosis pupuk NPK 600 g/pohon/tahun dan dosis NPK 300 g/pohon/tahun yang ditambah mikoriza memberikan tingkat keberhasilan penyambungan dan pertumbuhan tunas nyata lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol. Meskipun demikian, di antara keduanya tidak memperlihatkan perbedaan pengaruh yang nyata (Tabel 3 dan 4).

Proses penyatuan batang atas pada batang bawah yang disambung samping hampir sama dengan proses pembentukan cabang pada batang tanaman. Susunan jaringannya sama antara batang atas dengan batang bawah, dan penyatuan akan terjadi apabila jaringan pada batang atas bersambung dengan jaringan batang bawah. Apabila umur batang bawah jauh lebih tua daripada batang atas maka fungsi pemupukan pada proses sambung samping adalah mengaktifkan kembali kambium batang utama (batang bawah) sehingga dapat bersambung dengan susunan jaringan batang atas.

Tabel 3. Pengaruh dosis pupuk terhadap keberhasilan sambung samping pada 15 hari setelah penyambungan (HSP)

Table 3. Effect of fertilizer doses on the success of side grafting at 15 days after grafting (HSP)

No.	Dosis pupuk	Tingkat keberhasilan (%)
1.	Tanpa pupuk (kontrol)	37,78 c
2.	300 g NPK/pohon/ tahun	43,33 b
3.	600g NPK/pohon/ tahun	47,22 ab
4.	300g NPK/pohon/ tahun + mikoriza	49,45 a
	Rata-rata	43,64

Keterangan : Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji Duncan pada taraf 5%

Notes : Numbers followed by the same letter are not significantly different according to Duncan's test at 5% level

Tabel 4. Pengaruh dosis pupuk terhadap panjang tunas dan diameter batang tunas umur 6 bulan

Table 4. Effect of fertilizer doses on length and stem diameter of shoot at 6 months age

No.	Dosis pupuk	Panjang tunas (cm)	Diameter batang tunas (mm)
1.	Tanpa pupuk (kontrol)	54,66 b	6,00 b
2.	300 g NPK/pohon /tahun	60,57ab	6,65 ab
3.	600g NPK/pohon /tahun	62,29 a	7,15 a
4.	300g NPK/pohon /tahun + mikoriza	66,28 a	7,22 a
	Rata-rata	60,95	6,76

Keterangan : Angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada setiap kolom tidak berbeda nyata berdasarkan uji Duncan pada taraf 5%

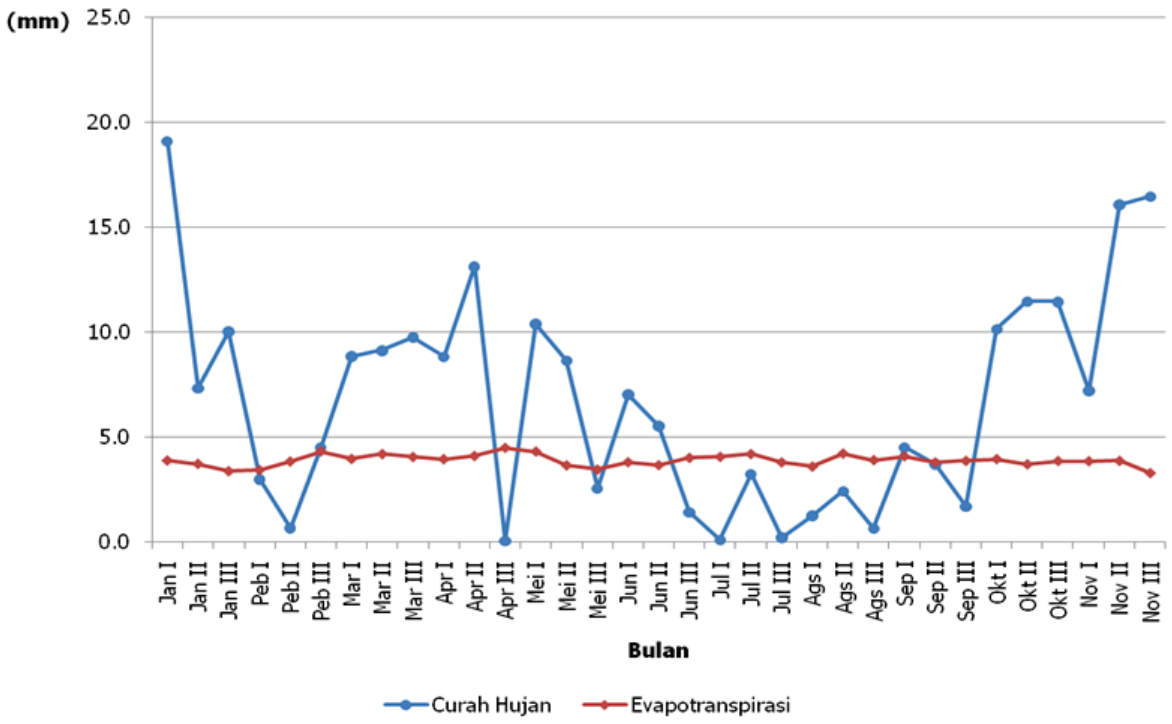
Notes : Numbers followed by the same letters in each column are not significantly different according to Duncan's test at 5% level

Pada tanaman kakao yang telah berumur tua (>20 tahun) maka pertumbuhan tanaman mulai menurun, perakaran baru sulit berkembang, pertumbuhan tunas dan cabang sangat rendah. Pemberian pupuk pada tanaman tersebut akan mengaktifkan kembali pertumbuhan tunas, akar, kambium dan lain sebagainya. Sambung samping dilakukan saat tanaman terlihat aktif yang ditandai dengan munculnya tunas baru dan terdapat lendir di bawah kulit (kambium) batang dimana batang atas akan ditempelkan. Apabila di bawah kulit batang terlihat

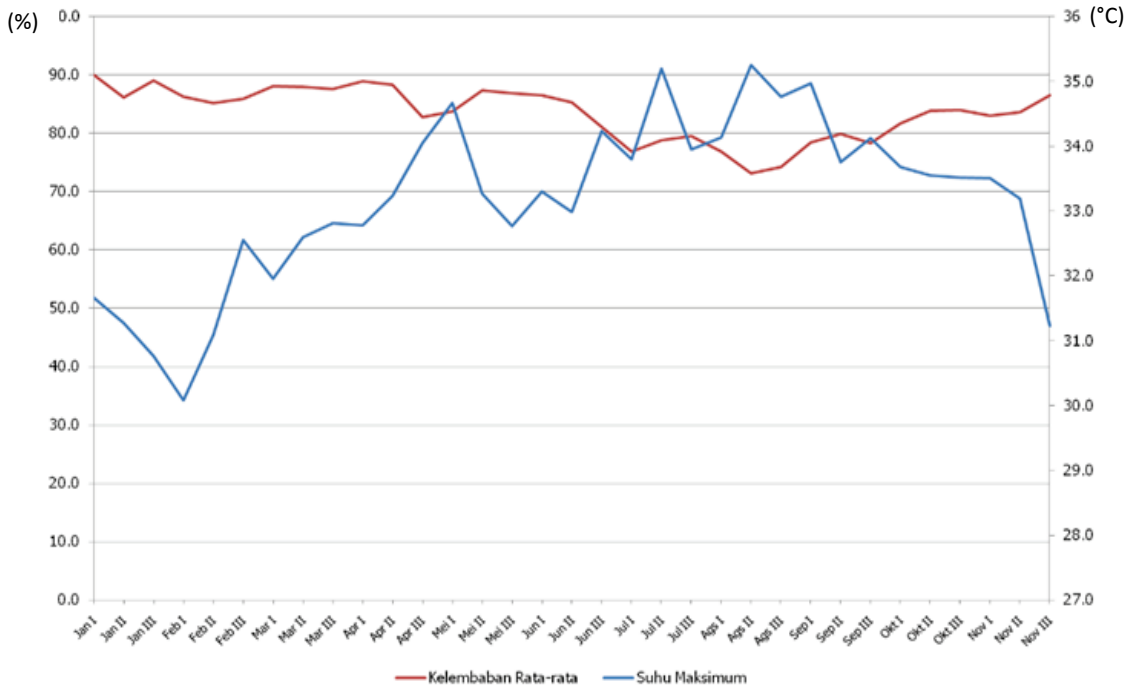
mengering maka sambung samping akan sulit berhasil. Dalam hal ini, fungsi pemberian pupuk pada tanaman kakao yang akan direhabilitasi di antaranya adalah merangsang tanaman tua yang berfungsi sebagai batang utama (batang bawah) agar pertumbuhan kambiumnya kembali aktif.

Pada penelitian ini, pengaruh pemberian pupuk NPK (perlakuan 2 sampai 4) terhadap tingkat keberhasilan penyambungan masih sangat rendah, yaitu antara 43,33% sampai 49,45% dan mendekati nilai rata-rata 43,64% (Tabel 3). Hal ini salah satunya dipengaruhi oleh kondisi iklim yang tidak mendukung seperti curah hujan relatif rendah (Gambar 1 dan 2) sehingga pupuk yang diberikan belum dapat diserap secara optimal oleh tanaman. Dikemukakan bahwa tingkat keberhasilan sambung samping pada tanaman kakao dipengaruhi oleh faktor iklim seperti curah hujan (Basri, 2009; Limbongan, 2011) yang akan mempengaruhi kondisi fisiologis tanaman. Musim kemarau panjang dengan curah hujan rendah akan mempengaruhi keberhasilan sambung samping. Pada musim kemarau, klon-klon yang tidak tahan terhadap kekeringan maka pertumbuhannya akan terhambat (Iswanto, Winarno, & Suhendri, 1999), dan beberapa genotipe kakao memiliki tingkat toleransi berbeda-beda terhadap terjadinya periode kekeringan (Towaha & Wardiana, 2015).

Selama penelitian berlangsung, curah hujan di lokasi penelitian hanya 5 mm/bulan di sepanjang tahun, hal ini salah satunya yang menyebabkan secara umum persentase tunas jadi lebih rendah, sedangkan faktor teknis adalah kemampuan tenaga sambung samping. Luka bukaan kulit pada batang bawah tidak dapat dibiarkan terlalu lama (<2 menit) sebab dapat terjadi jaringan penghambat yang akan menghalangi terbentuknya pertautan sambung samping. Jaringan penghambat tersebut terjadi akibat oksidasi antara kambium dengan udara luar.



Gambar 1. Rata-rata curah hujan dan evapotranspirasi dasarian Januari–November 2012 di Kasui, Lampung Utara
Figure 1. Average of rainfall and evapotranspiration every ten days from January–November 2012 in Kasui, North Lampung



Gambar 2. Rata-rata kelembapan dan suhu udara maksimum dasarian Januari–November 2012 di Kasui, Lampung Utara
Figure 2. Average of humidity and maximum temperature every ten days from January–November 2012 in Kasui, North Lampung

Pertumbuhan tunas hasil sambung samping kakao dipengaruhi oleh ukuran diameter pangkal tangkai daun batang atas yang digunakan. Pertumbuhan tunas kakao lebih baik pada batang atas yang memiliki ukuran diameter pangkal tangkai daun 6–8 mm dibandingkan dengan batang atas berdiameter 4-6 mm. Lambatnya pertumbuhan ukuran tunas hasil sambung samping mungkin juga disebabkan tidak tersambungnya jaringan pada batang utama dengan batang atas yang ditempelkan (Mertade & Basri, 2011). Jika terjadi ketidaksinambungan jaringan antara batang utama dengan setek batang atas, tidak hanya pertumbuhan tunas yang terhambat, bahkan tunas yang sudah terbentuk akan mengering dan akhirnya mati.

Melalui Tabel 3 dan 4 dapat diketahui bahwa sejalan dengan perlakuan dosis pupuk NPK ternyata tingkat keberhasilan sambung samping memiliki pola yang identik dengan pertumbuhan tunas, yaitu makin tinggi tingkat keberhasilan sambung samping maka makin baik pertumbuhan panjang dan diameter batang tunas. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian Pranowo & Wardiana (2015) pada proses penyambungan (*grafting*), beberapa klon kakao menunjukkan adanya korelasi positif antara total benih yang hidup dengan total benih yang bertunas dan kecepatan munculnya tunas.

KESIMPULAN

Tingkat keberhasilan dan pertumbuhan tunas hasil sambung samping yang terbaik untuk kakao rakyat di Kabupaten Way Kanan, Lampung Utara, adalah dengan menggunakan batang atas klon TSH 908 dan TSH 858. Pupuk NPK yang optimal untuk sambung samping tersebut adalah 600 g/pohon/tahun dan 300 g/pohon/tahun ditambah 100 g mikoriza/pohon. Tidak ada interaksi antara jenis klon dengan dosis pupuk NPK terhadap tingkat keberhasilan dan pertumbuhan tunas hasil sambung samping

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Kelompok Tani Kakao di Kecamatan Kasui, Kabupaten Way Kanan, Lampung Utara, yang telah memberikan fasilitas dalam pelaksanaan penelitian ini. Terima kasih disampaikan juga kepada Ir. Edi Wardiana, M.Si. yang telah membantu dalam menginterpretasi data serta dalam memberikan masukan positif bagi penyusunan makalah ini.

DAFTAR PUSTAKA

Anita-Sari, I., & Susilo, A.W. (2012). Keberhasilan sambungan beberapa jenis batang atas dan famili batang bawah kakao (*Theobroma cocoa* L.). *Pelita Perkebunan*, *28*(2), 75–84.

Basri, Z. (2009). Kajian metode perbanyakan klonal pada tanaman kakao. *Media Litbang Sulteng, 2*(1), 07–14.

Dadzie, A.M., Akpertey, A., Yeboah, J., Opoku, S.Y., Ofori, A., Lowor, S., … Amoah, F.M. (2014). Genotypic effect of rootstock and scion on grafting success and growth of kola (*Cola nitida*) seedlings. *American Journal of Plant Sciences*, *5*, 3873–3879.

Direktorat Jenderal Perkebunan. (2014). *Statistik perkebunan Indonesia 2010-2012*: *Kakao* (p. 53). Jakarta: Direktorat Jenderal Perkebunan, Kementerian Pertanian.

Direktorat Jenderal Perkebunan. (2015). *Pedoman teknis daerah pengembangan kakao berkelanjutan tahun 2015* (p. 79). Jakarta: Direktorat Jenderal Perkebunan, Kementerian Pertanian.

Iswanto, A., Winarno, H., & Suhendri, D. (1999). Kajian stabilitas hasil dan komponen buah beberapa hibrida kakao. *Pelita Perkebunan*, *15*(2), 81–90.

Limbongan, J. (2011). Kesiapan penerapan teknologi sambung samping untuk mendukung program rehabilitasi tanaman kakao. *Jurnal Litbang Pertanian, 30*(4), 156–163.

Mertade, N., & Basri, Z. (2011). Pengaruh diameter pangkal tangkai daun pada entres terhadap pertumbuhan tunas kakao. *Media Litbang Sulteng, 4*(1), 01–07.

Pina, A., & Errea, P. (2005). A review of new advances in mechanism of graft compatibility-incompatibility. *Scientia Horticulturae*, *106*, 1–11.

Pesireron, M. (2010). Pengkajian perbanyakan tanaman kakao secara vegetatif (okulasi mata entris dan sambung pucuk). *Jurnal Budidaya Pertanian*, *6*(1), 25–29.

Pranowo, D., & Wardiana, E. (2015). Kompatibilitas lima klon unggul kakao sebagai batang atas dengan batang bawah progeni half-sib klon Sulawesi 01. *Jurnal Tanaman Industri dan Penyegar 3*(1), 29–36. doi: http://dx.doi.org/10.21082/jtidp.v3n1.2016.p29-36.

Rubiyo, & Prawoto, A. A. (1994). Pengaruh umur entres terhadap hasil okulasi bibit kakao. *Pelita Perkebunan*, *10*(3), 135–132.

Saidah, Negara, A., & Sahardi. (2015). Kajian adaptasi beberapa klon sebagai bahan sambung samping kakao di Sulawesi Tengah. *Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia, 1*(7), 1661–1665. doi: 10.13057/psnmbi/ m010722.

Suhendi, D., Susilo, A. W., & Mawardi. S. (2000). Kompabilitas persilangan beberapa klon kakao (*Theobroma cacao* L.). *Pelita Perkebunan, 16*(2), 85–91.

Syakir, M., & Ferry, Y. (2014). Inovasi teknologi bioindustri berbasis kakao, pisang dan ternak kambing terpadu: Sebuah pelajaran dari Kabupaten Aceh Timur. *In* Rubiyo, R. Harni, B. Martono, E. Wardiana, N.K. Izzah, & A.M. Hasibuan (Eds.), *Bunga Rampai Inovasi Teknologi Bioindustri Kakao* (pp. 129–140). Bogor: IAARD Press.

Tjahjana, B.E., & Sobari, I. (2014). Rehabilitasi kakao rakyat dengaan sambung samping. *Sirinov*, *2*(1), 25–34.

Towaha, J., & Wardiana, E. (2015). Evaluasi tingkat toleransi 35 genotipe kakao terhadap periode kering. *Jurnal Tanaman Industri dan Penyegar 2*(3), 133-142. doi: http://dx.doi.org/10.21082/jtidp.v2n3.2015.p133-142.

Wahyudi, T., & Misnawi. (2007). Fasilitas perbaikan mutu dan produktivitas kakao Indonesia. *Warta Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indoensia*, *23*(1), 32–43.

Zaenuddin, & Baon, J.B. (2004). Prospek kakao nasional satu dasawarsa (2005–2014) mendatang. Antisipasi pengembangan kakao nasional menghadapi regenerasi pertama kakao di Indonesia. *Simposium Kakao 2004* (pp. 22–30). Jogjakarta, 4–5 Oktober 2004.

Zakariyya, F., & Yuliasmara, F. (2015). Top grafting performance of some cocoa (*Theobroma cocoa* L.) clones as affected by scion budwood number. *Pelita Perkebunan*, *31*(3), 163–174.

AKTIVITAS REPELENSI DAN INSEKTISIDAL BEBERAPA EKSTRAK DAN MINYAK NABATI TERHADAP HAMA GUDANG *Ephestia cautella*

REPELLENCY AND INSECTICIDAL ACTIVITY OF SOME BOTANICAL EXTRACTS AND OILS ON STORAGE PEST OF Ephestia cautella

* Samsudin, Funny Soesanthy, dan Syafaruddin

Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar
Jalan Raya Pakuwon Km 2 Parungkuda, Sukabumi 43357 Indonesia
* *samsudin.afaqih@gmail.com*

(Tanggal diterima: 7 April 2016, direvisi: 30 April 2016, disetujui terbit: 12 Juli 2016)

ABSTRAK

Ephestia cautella merupakan salah satu jenis hama gudang yang menyebabkan penurunan kualitas biji kakao. Pengendalian hama ini menggunakan insektisida kimia tidak dianjurkan karena berbahaya bagi lingkungan dan kesehatan konsumen. Tujuan penelitian adalah menguji aktivitas repelensi dan insektisidal dari beberapa jenis ekstrak dan minyak nabati terhadap larva *E. cautella*. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Proteksi Tanaman, Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar (Balittri), mulai bulan Maret sampai November 2012. Bahan nabati yang digunakan adalah ekstrak air dari daun *Ageratum conyzoides*, biji *Azadirachta indica*, dan umbi *Allium sativum*, serta minyak dari *Reutalis trisperma*, *Syzygium aromaticum*, dan *Andropogon nardus* dengan konsentrasi masing-masing 0,5%. Serangga uji yang digunakan adalah larva instar ke-3 hasil perbanyakan di laboratorium. Uji pendahuluan terhadap aktivitas repelensi menggunakan metode banyak pilihan (*multiple-choice*), sedangkan uji lanjutan menggunakan metode dua pilihan (*dual-choice*) dengan parameter jumlah larva yang menetap pada masing-masing perlakuan sampai 72 jam setelah perlakuan. Uji aktivitas insektisidal menggunakan metode residual pada pakan pengganti dengan menghitung tingkat mortalitas serangga uji. Pengamatan dilakukan pada 24, 48, dan 72 jam setelah perlakuan. Hasil penelitian menunjukkan persentase repelensi ekstrak air dari umbi *A. sativum* dan daun *A. conyzoides* terhadap larva *E. cautella* tergolong tinggi, yaitu masing-masing 81,33% dan 78,67%. Dengan demikian, kedua ekstrak nabati tersebut berpotensi menjadi bahan pelindung biji kakao dari serangan hama gudang *E. cautella*. Ekstrak dari biji *A. Indica* dan umbi *A. sativum* serta minyak dari *R. trisperma* dan *S. aromaticum* menunjukkan indikasi bersifat insektisidal yang mampu mematikan larva *E. cautella*.

Kata kunci: *Ephestia cautella*, hama gudang, repelensi, insektisidal

ABSTRACT

Ephestia cautella *is one type of storage pests that causes a decrease in cocoa bean quality. Control of this pest using chemical insecticides is not recommended because it is harmful to the environment and consumer health. The research aimed to examine the repellency and insecticidal activity of several types of extract and botanical oil against* E. cautella *larvae. The research was conducted in the Plant Protection Laboratory, Indonesian Industrial and Beverage Crops Research Institute, from March to November 2012. Botanical materials used were water extracts from* Ageratum conyzoides *leaves,* Azadirachta indica *seeds, and* Allium sativum *tubers, as well as oil from* Reutalis trisperma*,* Syzygium aromaticum*, and* Andropogon nardus*, with respective concentration of 0.5%. The insects test used was the 3rd instar larvae generated in the laboratory. Preliminary testing of the repellency activity was performed used the multiple-choice method, while subsequent testing used the dual-choice method with the parameters of larvae number remains in each treatment until 72 hours. The insecticidal activity was conducted using residual method on the feed substitute, by calculating mortality rate of the test insects. Observations were made at 24, 48, and 72 hours after treatment. The results showed that water extract from* A. sativum *bulbs and* A. conyzoides *leaves have high repellency percentage on the* E. cautella *larvae, i.e. of 81.33% and 78.67%, respectively. Thus, these two vegetable extracts have the potential to be used as cocoa bean protectant from storage pest attacks. The extracts from* A. indica *seed,* A. sativum *bulbs, as well as oil from* R. trisperma *and* S. aromaticum *showed insecticidal properties that are able to kill* E. cautella *larvae.*

Keywords: Ephestia cautella*, storage pest, repellency, insecticidal*

PENDAHULUAN

Luas areal perkebunan kakao Indonesia pada tahun 2014 mencapai 1.727.437 ha, dengan 1.686.178 ha (97,61%) di antaranya merupakan perkebunan rakyat yang melibatkan sekitar 1,5 juta kepala keluarga (KK) (Direktorat Jenderal Perkebunan [Ditjenbun], 2015). Menurut Sjam (2007) sekitar 90% produk biji kakao yang dikelola oleh petani bermutu rendah. Pengelolaan biji kakao yang dilakukan petani masih sangat sederhana sehingga masih ditemukan adanya infestasi hama gudang dan kontaminasi jamur pada saat di penyimpanan. Padahal, menurut Tuty (2009), salah satu standar biji kakao yang diperdagangkan di pasar internasional adalah harus bebas dari serangga hidup dan kontaminan. Kerugian langsung yang diakibatkannya adalah berupa penahanan otomatis (*automatic detention*) produk biji kakao Indonesia oleh Amerika Serikat, yaitu berupa potongan harga sekitar 15% dari harga rata-rata kakao dunia (Sjam, Melina, & Thamrin, 2010).

Salah satu jenis hama gudang yang sering ditemukan di tempat penyimpanan biji kakao di Indonesia adalah *Ephestia cautella* Walker (Lepidoptera: Pyralidae) (Dobie, Haines, Hodges, Prevet, & Rees, 1991). *E. cautella* merupakan hama utama di daerah tropik dan daerah beriklim panas. Tettey, Jonfia-Essien, & Obeng-Ofori (2014) melaporkan bahwa serangan hama ini dapat menurunkan bobot biji kakao di gudang rata-rata sekitar 10,1%. Selain itu, Dharmaputra, Sunjaya, Retnowati, & Ambarwati (2000) menyatakan bahwa infestasi *E. cautella* akan menyebabkan penurunan kandungan asam lemak pada biji kakao.

Pengendalian hama gudang untuk produk pangan seperti kakao tidak dianjurkan menggunakan pestisida kimia sintetik karena berbahaya bagi lingkungan dan kesehatan konsumen. Beberapa teknik pengendalian ramah lingkungan yang terbukti efektif mengendalikan *E. cautella* adalah penggunaan CO_2 dosis tinggi yang dipadukan dengan temperatur (Tusuncu, Emekci, & Navarro, 2001), dan ozonisasi (Abo-El-Saad, Elshafie, Ajlan, & Bou-Khowh, 2011). Akan tetapi, pengembangan teknologi tersebut dinilai masih mahal dan sulit dilakukan oleh petani di Indonesia. Oleh sebab itu, perlu dicari teknologi pengendalian ramah lingkungan yang lebih mudah dan murah untuk dikembangkan di tingkat petani.

Pemanfaatan bahan nabati sebagai penolak serangga (*repellent*) atau pelindung biji (*seed protectant*) memiliki prospek yang baik sebagai teknologi alternatif pengganti fumigan kimia (Adeyemi, 2011). Kelebihan bahan nabati adalah mudah terdegradasi (*biodegradable*), toksisitas terhadap mamalia rendah, lebih selektif dan dapat berfungsi sebagai atraktan, repelen, dan sekaligus deteren (Rahman & Talukder, 2006; Pino, Sánchez, & Rojas, 2013). Beberapa jenis tanaman diketahui mengandung senyawa metabolit sekunder, seperti fenolik, polifenol, quinon, flavonoid, tanin, kumarin, terpenoid, lektin, dan polipetida (Shukla, 2013), yang dapat berfungsi sebagai pelindung tanaman budi daya dari serangan organisme pengganggu tanaman (Paluch, Grodnitzky, Bartholomay, & Coats, 2009).

Hasil penelitian Caballero-Gallardo, Olivero-Verbel, & Stashenko (2011) menunjukkan bahwa *Tagetes lucida*, *Lepechinia betonicifolia*, *Lippia alba, Cananga odorata*, dan *Rosmarinus officinalis* bersifat repelen terhadap hama gudang. Zandi-Sohani, Hojjati & Carbonell-Barrachina (2012) melaporkan bahwa minyak *Lantana camara* bersifat repelen kuat dan insektisidal terhadap hama gudang *Callosobruchus maculatus* dengan LC_{50} (*lethal concentration 50%*) masing-masing 282,7 µl/l untuk imago betina dan 187,9 µl/l untuk imago jantan. Sementara itu, Eziah, Sackey, Boateng, & Obeng-Ofori (2011) melaporkan bahwa penggunaan minyak mimba dengan konsentrasi 5 ml/liter (*v/v*) efektif melindungi biji gandum dari infestasi *E. cautella* di gudang sampai 60 hari. Penelitian bertujuan menguji aktivitas repelensi dan insektisidal dari beberapa jenis ekstrak dan minyak nabati terhadap larva hama gudang kakao *E. cautella*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Proteksi Tanaman, Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar (Balittri), Sukabumi, mulai bulan Maret sampai November 2012. Bahan nabati yang digunakan dalam penelitian adalah ekstrak air dari daun *Ageratum conyzoides* (bandotan), biji *Azadirachta indica* (mimba) dan umbi *Allium sativum* (bawang putih), serta minyak dari tanaman *Reutalis trisperma* (kemiri sunan), *Syzygium aromaticum* (cengkeh), dan *Andropogon nardus* sinonim *Cymbopogon nardus* (serai wangi).

Perbanyakan Serangga Uji

Serangga hama gudang *E. cautella* yang digunakan berasal dari gudang penyimpanan biji kakao milik P.T. Bumiloka Swakarya, Sukabumi, Jawa Barat yang telah diperbanyak secara massal di Laboratorium Proteksi Tanaman, Balittri. Imago *E. cautella* hasil koleksi dibiarkan melakukan kopulasi di dalam stoples yang telah diisi biji kakao kering dan ditempatkan pada suhu ruang selama kurang lebih 4 minggu. Biji kakao yang menjadi media bertelur *E. cautella* diambil dan dimasukkan ke dalam kotak plastik yang bagian penutupnya dilubangi dan ditutup kain kasa, kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 15 sampai 20 hari.

Larva instar ke-3 atau yang berukuran sedang dan seragam diambil dan digunakan sebagai serangga uji.

Ekstraksi Bahan Nabati

Penyiapan ekstraksi bahan nabati mengikuti cara yang telah diterapkan oleh Dadang & Prijono (2008). Simplisia daun *A. conyzoides* dicuci, dikeringanginkan, diblender sampai halus, dan diayak menggunakan pengayak kasa 0,5 mm. Biji *A. indica* dan umbi *A. sativum* digiling halus menggunakan *grinder mill*. Sebanyak 100 gram dari masing-masing bahan direndam dalam 1 liter akuades (perbandingan berat bahan uji dan pelarut 1:10 (*w/w*), selama 24 jam, kemudian disaring menggunakan corong kaca yang telah dilapisi kertas saring Whatman no. 41. Untuk memisahkan ekstrak dengan air dilakukan penguapan menggunakan *hot plate* pada suhu 40°C–50°C. Ekstrak kasar hasil pengeringan dimasukkan ke dalam botol kaca dan disimpan dalam lemari es pada suhu 5°C sampai digunakan untuk pengujian.

Uji Repelensi

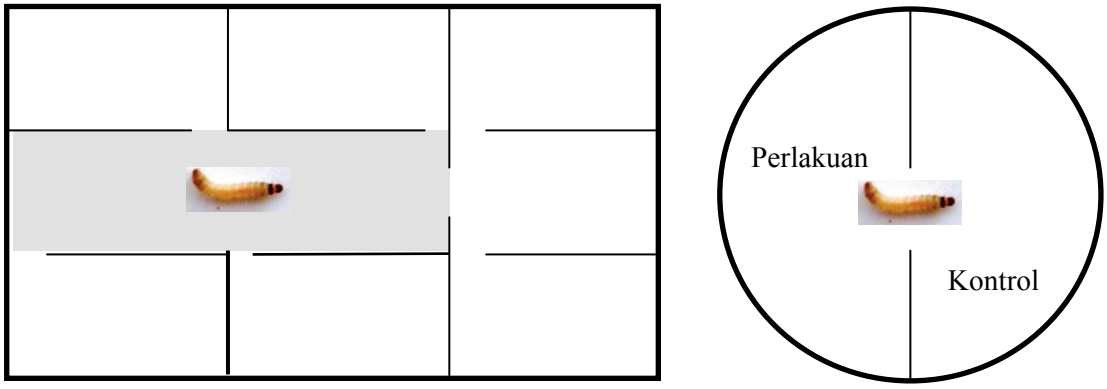
Uji repelensi dilakukan dalam dua tahapan, yaitu uji pendahuluan dan uji utama. Uji pendahuluan menggunakan metode multi-pilihan (*multiple-choice test*) menurut Fields, Xie, & Hou (2001) yang dimodifikasi pada bagian bentuk alat dan bahan pakan buatannya. Metode multi-pilihan menggunakan bak plastik berukuran 34 cm x 26 cm yang dibagi menjadi 9 bagian masing-masing berukuran 11,33 cm x 8,67 cm. Setiap bagian diberi sekat, kecuali 2 bagian yang ada tengah dan sebelah kiri/kanannya sehingga akhirnya diperoleh menjadi 8 kotak yang bersekat (Gambar 1A). Masing-masing bak diisi dengan 40 ekor larva *E. cautella* instar 3 yang ditempatkan pada kotak yang tidak disekat (22,66 cm x 8,67 cm) di bagian tengah. Secara acak pada masing-masing kotak diisi dengan 100 gram pakan buatan (pakan burung) yang telah dicampur masing-masing 10 ml larutan ekstrak *A. conyzoides*, *A. Indica,* dan *A. sativum*, serta minyak *R. trisperma*, *S. aromaticum*, dan *A. nardus* dengan konsentrasi 0,5% (*v/v*) dan kontrol (pakan buatan tanpa campuran). Pengamatan dilakukan setiap hari sampai 4 hari setelah perlakuan. Peubah yang diamati adalah jumlah larva serangga uji yang menetap dan membuat sarang berupa jaring-jaring seperti sutera.

Uji utama repelensi menggunakan metode dua-pilihan (*dual-choice test*) menurut Liu, Mishra, Tan, Tang, Yang, & Shen (2006). Metode dua-pilihan menggunakan wadah plastik dengan diameter 14 cm yang disekat menjadi 2 bagian yang sama ukurannya. Satu bagian diisi dengan 100 gram pakan buatan yang dicampur dengan 10 ml masing-masing larutan uji (ekstrak *A. conyzoides*, *A. indica* dan *A. sativum*, serta minyak *R. trisperma*, *S. aromaticum*, dan *A. nardus*) dengan konsentrasi masing-masing 0,5% (*v/v*). Satu bagian yang lain diisi pakan pakan buatan tanpa campuran (kontrol) (Gambar 1B). Setiap wadah plastik diisi dengan 15 ekor larva *E. cautella* instar ke-3. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 5 kali. Untuk menghitung persentase repelensi menggunakan rumus Liu, *et al*. (2006) :

$$PR\ (\%) = [(C-E)/T] \times 100$$

PR (%) = persentase repelensi
C = jumlah serangga yang menetap pada kontrol
E = jumlah serangga yang menetap pada perlakuan
T = total serangga yang digunakan

Data yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan analisis ragam (ANOVA) yang dilanjutkan dengan uji Tukey pada taraf 5%.



A **B**

Gambar 1. Desain uji repelensi dengan metode (A) multi-pilihan dan (B) dua-pilihan
Figure 1. Repellency testing design using (A) multi-choice method and (B) dual-choice method

Uji Insektisidal

Uji insektisidal bahan nabati terhadap larva *E. cautella* menggunakan metode pengaruh residu (*residual effect*) menurut Peta & Pathipati (2008). Serangga uji yang digunakan adalah larva *E. cautella* instar ke-3 hasil perbanyakan di laboratorium. Wadah plastik berdiameter 9 cm dan tinggi 10 cm, diisi 100 gram pakan buatan yang telah dicampur 10 ml ekstrak nabati dengan konsentrasi 0,5% (v/v), masing-masing dari *A. conyzoides*, *A. indica* dan *A. sativum*, minyak *R. trisperma*, *S. aromaticum*, dan *A. nardus*. Setiap perlakuan menggunakan 15 ekor serangga uji dengan 5 kali ulangan. Pengamatan terhadap jumlah serangga yang mati (mortalitas) dilakukan pada 24, 48, dan 72 jam setelah perlakuan (JSP). Data yang diperoleh dianalisis menggunakan analisis ragam (ANOVA) yang dilanjutkan dengan uji Tukey pada taraf 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Aktivitas Repelensi Bahan Nabati terhadap Larva *E. cautella*

Serangga pradewasa (larva) dari Ordo Lepidoptera tidak memiliki sistem penciuman (*olfactory system*) untuk mendeteksi aroma dari senyawa-senyawa volatil. Larva *E. cutella* akan mendeteksi senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam bahan nabati menggunakan sistem pengecapan (*gustatory system*) yang terdapat dalam organ mulutnya. Oleh sebab itu, larva serangga uji ini membutuhkan waktu cukup lama untuk memilih dan menentukan pakannya.

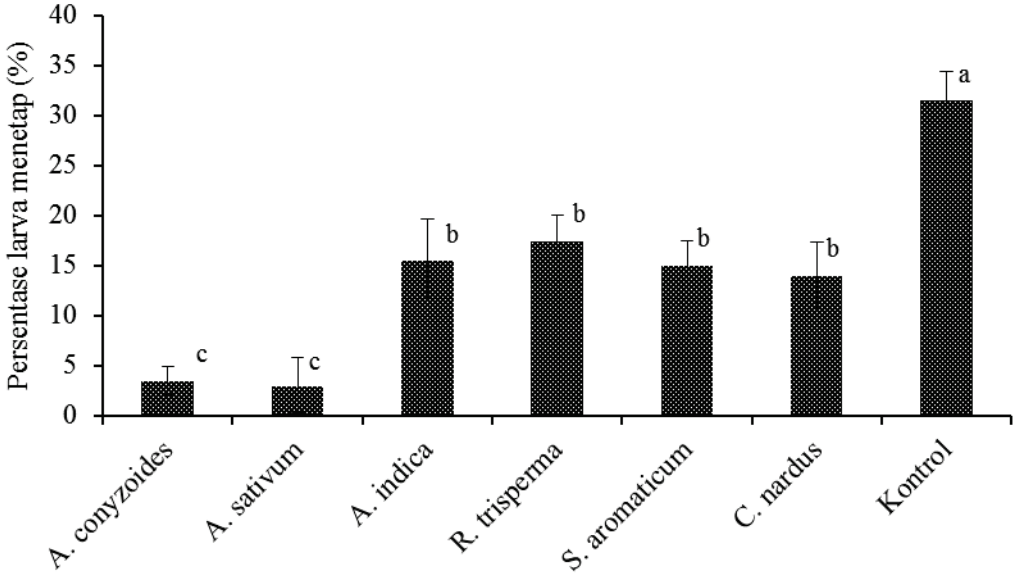
Hasil uji pendahuluan dengan metode multi-pilihan (*multiple-choice test*) menunjukkan bahwa ekstrak daun *A. conyzoides* dan umbi *A. sativum* merupakan bahan yang paling tidak disukai oleh larva *E. cautella*. Persentase jumlah larva yang ditemukan menetap pada 4 HSP kedua jenis bahan uji tersebut adalah masing-masing 3,0% dan 3,5%. Sementara itu, pada perlakuan empat jenis bahan uji lainnya, yaitu ekstrak biji *A. indica*, serta minyak *A. nardus, S. aromaticum,* dan *R. trisperma*, ditemukan lebih banyak jumlah larva yang menetap pada 4 HSP, yaitu sebanyak 14,0%–17,5%. Semua bahan nabati yang digunakan dalam penelitian ini bersifat repelen. Hal ini ditunjukkan oleh persentase jumlah larva *E. cutella* yang menetap pada 4 HSP nyata lebih rendah dibandingkan dengan kontrol yang mencapai 31,50 % (Gambar 2).

Larva *E. cautella* menghindar dari pakan yang sudah diberi perlakuan bahan nabati karena terpengaruh adanya beberapa senyawa metabolit sekunder yang berfungsi sebagai repelen atau antifedan, yaitu alkaloid, saponin, fenolik, flavonoid, triterpenoid, steroid, dan glikosida. Menurut Shukla (2013) bahan tanaman yang mengandung senyawa aktif seperti alkaloid, terpenoid, glikosida, beberapa sterol, dan minyak atsiri berpotensi sebagai insektisida. Hasil analisis kandungan fitokimia dari bahan-bahan yang diuji menunjukkan bahwa ekstrak *A. conyzoides* dan *A. sativum*, serta minyak *R. trisperma* dan *S. aromaticum* mengandung senyawa alkaloid, saponin, triterpenoid, dan glikosida (Soesanthy & Samsudin, 2013; Mishra & Kalyani, 2014; Chauhan & Rijhwani, 2015) (Tabel 1). Hasil pengujian Kamboj & Saluja (2011) menunjukkan bahwa ekstrak daun *A. conyzoides* mengandung steroid, terpen, fenol, saponin, asam lemak, dan alkaloid. Sementara itu, Nerio, Olivero-Verbel, & Stashenko (2010) menjelaskan bahwa minyak *A. nardus* mengandung senyawa monoterpen dan sesquiterpen, seperti α-pinene, limonene, citronellol, citronellal, camphor dan thymol. Jayanudin (2011) mengemukakan bahwa minyak *S. aromaticum* mengandung eugenol dan trans-caryophyllene. Sementara itu, ekstrak biji *A. indica* diketahui mengandung alkaloid, glicosida, terpenoid, steroid, flavonoids dan tannin (Susmitha, Vidyamol, Ranganayaki, & Vijayaragavan, 2013; Harry-Asobara, Linda, Samson, & Okon, 2014).

Tabel 1. Kandungan senyawa fitokimia yang bekerja sebagai repelen dan insektisidal
Table 1. Phytochemical compounds work as a repellent and insecticide

Bahan nabati	Senyawa metabolit sekunder						
	Alkaloid	Saponin	Fenolik	Flavonoid	Triterpenoid	Steroid	Glikosida
A. conyzoides	+	+	+	-	+	+	+
A. sativum	+	+	-	-	+	-	+
A. indica	+	+	+	+	+	+	+
R. trisperma	+	+	+	+	+	-	+
S. aromaticum	+	+	+	+	+	+	+
A. nardus	-	+	+	-	+	+	+

Sumber/*Sources*: Soesanthy & Samsudin (2013); Mishra & Kalyani (2014); Chauhan & Rijhwani (2015)



Gambar 2. Persentase larva *E. cautella* yang menetap pada masing-masing perlakuan
Figure 2. Percentage of E. cautella *larvae that settled in each treatment*

Hasil pengujian menggunakan metode dua-pilihan (*dual-choice tests*) menunjukkan bahwa persentase repelensi (PR) ekstrak umbi *A. sativum* dan daun *A. conyzoides* terhadap larva *E. cautella* merupakan yang tertinggi, yaitu masing-masing 81,33% dan 78,67%. Persentase repelensi bahan nabati lainnya rata-rata di bawah 50%, yaitu hanya 28,00%–44,00% (Tabel 2). Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak umbi *A. sativum* dan daun *A. conyzoides* memiliki aktivitas repelensi yang kuat terhadap larva *E. cautella* dan berpotensi untuk dikembangkan sebagai bahan pelindung biji kakao di gudang penyimpanan.

Aktivitas repelensi ekstrak dan minyak umbi bawang putih *A. sativum* terhadap beberapa jenis serangga hama gudang lainnya telah dilaporkan sebelumnya. Anwar, Gould, Tinson, Groom, & Hamilton (2016) melaporkan bahwa beberapa produk yang berbasis minyak bawang putih bekerja sebagai repelen terhadap serangga hama dan telah digunakan sebagai pengendali hama tanaman. Bahan aktif dari umbi *A. sativum* yang spesifik bekerja sebagai repelen terhadap serangga hama gudang adalah di-2-propenyl trisulfide dan di-2-propenyl tetrasulfide (Wang *et al.*, 2014). Ekstrak umbi *A. sativum* dapat melindungi biji gandum dari infestasi hama gudang *Sitophilus* sp. sampai 35,9% dan menekan kehilangan berat biji sampai 75,9% (Sasaki & Calafiori, 1987). Hasil penelitian Rahman & Motoyama (2000) dan Yang, Liang, Xu, Lu, & Zeng (2010) menunjukkan bahwa ekstrak *A. sativum* juga bersifat repelen dan toksik terhadap hama gudang *S. oryzae* dan *Tribolium castaneum*. Menurut Mobki, Safavi, Safaralizadeh, & Panahi (2014), ekstrak umbi *A. sativum* dengan dosis sangat rendah, yaitu 2,13 $\mu l/cm^2$, memiliki persentase repelensi 95% terhadap hama gudang *T. castaneum*.

Tabel 2. Persentase repelensi (PR) beberapa bahan nabati terhadap larva *E. cautella* menggunakan metode dua pilihan
Table 2. The percentage of repellency (PR) of some botanical materials against E. cautella larvae using dual-choice method

Bahan nabati	Rata-rata jumlah larva pada perlakuan	Rata-rata jumlah larva pada kontrol	Persentase Repelensi (%)
A. conyzoides	1,60	13,40	78,67 a
A. sativum	1,40	13,60	81,33 a
A. indica	4,80	10,20	36,00 b
R. trisperma	5,40	9,60	28,00 b
S. aromaticum	4,60	10,40	38,67 b
A. nardus	4,20	10,80	44,00 b

Keterangan : Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji Tukey pada taraf 5%
Notes : Numbers followed by the same letters are not significantly different according to Tukey's test at 5% levels

Ekstrak daun *A. conyzoides* berpotensi untuk dijadikan bahan pelindung biji kakao dari serangan *E. cautella* di gudang. Bahan tanaman ini mengandung metabolit sekunder seperti terpenoid, flavanoid, alkaloid, steroid, dan chromene (Chauhan & Rijhwani, 2015). Hasil penelitian Kong, Hu, Xu, Zhang, & Liang (2005) menyatakan bahwa ekstrak daun *A. conyzoides* juga mengandung demethoxy-ageratochromene, β-caryophyllene, α-bisabolene, dan E-β-farnesene yang bersifat atraktan terhadap tungau predator *Amblyseius newsami*, tetapi bersifat repelen terhadap tungau merah *Panonychus citri*.

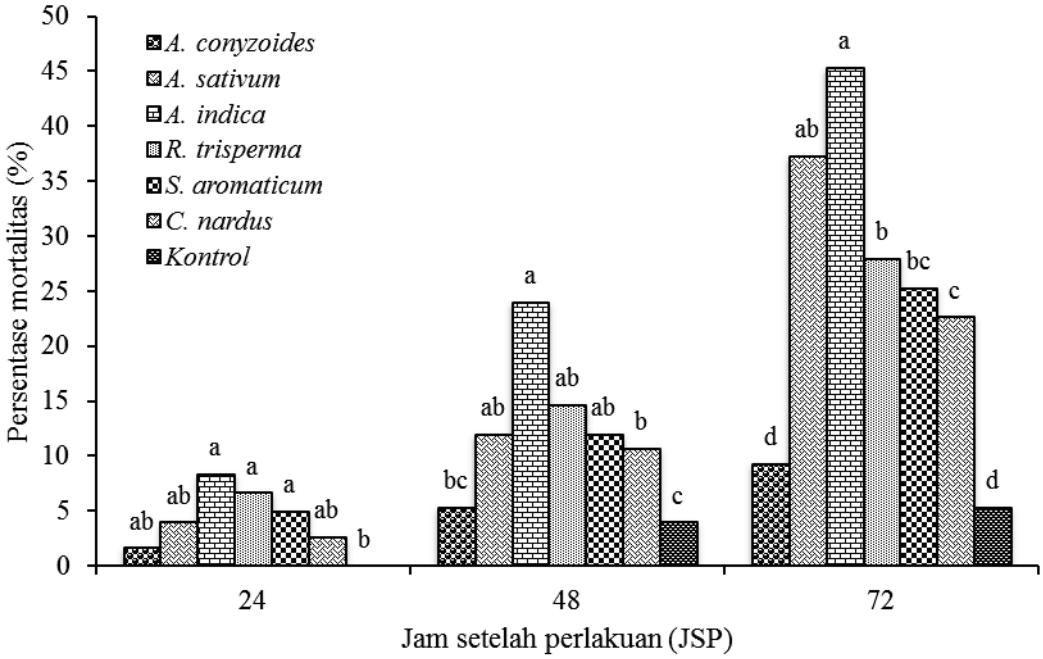
Hasil penelitian menunjukkan bahwa empat bahan nabati lainnya juga bersifat repelen terhadap larva *E. cautella*, meskipun menghasilkan nilai PR di bawah 50%. Hasil penelitian ini sejalan dengan yang telah dilaporkan oleh Licciardello, Muratore, Suma, Russo, & Nerín (2013), bahwa minyak *citronella* dari tanaman *Cymbopogon* spp. pada konsentrasi lebih dari 0,005 $\mu L/cm^2$ bersifat repelen terhadap hama gudang *T. castaneum* dengan persentase repelensi sebesar 53%. Minyak *A. nardus* juga bersifat repelen terhadap hama gudang *Oryzaephilus surinamensis* (Manzoor, Nasim, Saif, & Asma Malik, 2011) dan efektif sebagai repelen untuk mengendalikan kecoa (Mikonnen, Abate, & Manhile, 2015). Bahkan menurut Zhang *et al.* (2011) geraniol dan citronellol memiliki aktivitas repelensi lebih kuat terhadap hama gudang *T. castaneum* dibandingkan dengan DEET (N,N-diethyl-meta-toluamide). DEET merupakan bahan repelen serangga berspektrum luas yang sudah umum digunakan di dunia (Ditzen, Pellegrino, & Vosshall, 2008). Hasil pengujian repelensi ekstrak biji *A. indica* terhadap nyamuk *Culex quinquefasciatus* menghasilkan persentase repelensi sangat tinggi, yaitu mencapai 90,26% (Mandal, 2011), dan hama gudang *S. oryzae* (Paranagama, Abeysekera, Nugaliyadde, & Abeywickrama, 2002).

Aktivitas Insektisidal Bahan Nabati terhadap Larva *E. cautella*

Aktivitas insektisidal dari bahan nabati yang diuji baru terlihat pengaruhnya terhadap larva *E. cautella* pada 48 JSP. Kematian larva serangga uji akibat terpapar bahan nabati ekstrak biji *A. indica* mulai terlihat pada 48 JSP dengan gejala tubuhnya lemas dengan warna cerah, kemudian pada 72 JSP warnanya berubah menjadi lebih gelap (Gambar 3). Hasil pengamatan pada 72 JSP terlihat bahwa ekstrak biji *A. indica* dan umbi *A. sativum* serta minyak *R. trisperma*, *S. Aromaticum,* dan *A. nardus* menunjukkan indikasi bersifat insektisidal terhadap larva *E. cautella*. Hal ini terlihat dari angka persentase mortalitas larva *E. cautella* yang nyata lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol. Hanya satu jenis bahan nabati, yaitu ekstrak daun *A. conyzoides*, yang menghasilkan persentase mortalitas larva *E. cautella* tidak berbeda nyata dibandingkan dengan kontrol. Ekstrak biji *A. indica* memiliki aktivitas insektisidal paling tinggi meskipun tidak berbeda nyata dengan ekstrak umbi *A. sativum* (Gambar 4).

Foto: Samsudin

Gambar 3. Gejala larva *E. cautella* yang mati setelah perlakuan ekstrak biji *A. indica*
Figure 3. Symptoms of E. cautella *larvae that died after treatment using extract of* A. indica *seeds*



Gambar 4. Rata-rata mortalitas larva *E. cautella* setelah perlakuan bahan nabati
Figure 4. The average mortality of E. cautella *larvae after treatment using botanical pesticides*

Miresmailli & Isman (2014) menyatakan bahwa aktivitas insektisidal bahan nabati terhadap serangga hama sangat bervariasi tergantung dari banyak faktor. Faktor utama yang menentukan aktivitas insektisidal bahan nabati adalah kandungan senyawa metabolit sekundernya. Menurut Utami, Syaufina, & Haneda, (2010) senyawa flavonoid, steroid, saponin, dan tanin, memiliki efek beracun terhadap serangga. Keenam bahan nabati yang diuji, yaitu ekstrak daun *A. conyzoides*, biji *A. indica*, dan umbi *A. sativum*, serta minyak *R. trisperma*, *S. aromaticum*, dan *A. nardus* mengandung senyawa alkaloid, saponin, triterpenoid, dan glikosida (Soesanthy & Samsudin, 2013).

Ekstrak biji mimba *A. indica* mengandung senyawa metabolit sekunder dominan, yaitu *azadirachtin* yang telah terbukti efektif mengendalikan lebih dari 300 spesies serangga hama, termasuk hama-hama penting tanaman budi daya, seperti ulat grayak, pengorok daun, kutu daun, dan kutu putih (Walter, 1999). Ulrichs & Mewis (2000) melaporkan bahwa produk insektisida nabati berbahan mimba efektif mengendalikan hama gudang *S. oryzae* dan *T. castaneum*. Sementara itu, Makanjuola (1989) melaporkan bahwa mimba efektif menekan perkembangan hama gudang *Callosobruchus maculatus* dan *S. oryzae*, tetapi tidak berpengaruh terhadap *Cylas puncticollis*.

KESIMPULAN

Ektrak umbi *A. sativum* memiliki persentase repelensi dan insektisidal yang tinggi terhadap larva *E. cautella*. Ekstrak daun *A. conyzoides* memiliki persentase repelensi paling tinggi tetapi tidak bersifat insektisidal terhadap larva *E. cautella*. Sebaliknya, ekstrak biji *A. indica* bersifat insektisidal kuat, tetapi persentase repelensinya masih rendah. Ketiga bahan nabati tersebut berpotensi digunakan sebagai bahan pelindung biji kakao dari infestasi larva *E. cautella* di gudang penyimpanan.

DAFTAR PUSTAKA

Abo-El-Saad, M.M., H.A. Elshafie, A.M. Al Ajlan, & I.A. Bou-Khowh. (2011). Non-chemical alternatives to methyl bromide against *Ephestia cautella* (Lepidoptera: Pyralidae): microwave and ozon. *Agric. Biol. J.N. Am., 2*(8), 1222–1231.

Adeyemi, M. (2011). A review of secondary metabolites from plant materials for post harvest storage. *Int. J. Pure Appl. Sci. Technol*, *6*(2), 94–102.

Anwar, A., Gould, E., Tinson, R., Groom, M., & Hamilton, C. (2016). Think yellow and keep green—role of sulfanes from garlic in agriculture. *Antioxidants*, *6*(1), 3. http://doi.org/10.3390/antiox6010003.

Caballero-Gallardo, K., Olivero-Verbel, J., & Stashenko, E. E. (2011). Repellent activity of essential oils and some of their individual constituents against *Tribolium castaneum* herbst. *J. Agric.Food Chem.*, *59*(5), 1690–1696.

Chauhan, A., & Rijhwani, S. (2015). A Comprehensive review on *Ageratum conyzoides* Linn. (Goat weed). *Int. J. Pharm. Phytopharm. Res.*, *3*(Special Issue), 348–358.

Dadang, & Prijono. (2008). *Insektisida nabati: Prinsip, pemanfaatan, dan pengembangan* (p. 163). Bogor: Departemen Proteksi Tanaman.

Dharmaputra, O.S., Sunjaya, Retnowati, I., & Ambarwati, S. (2000). Stored cocoa beans quality affected by fermentation and *Ephestia cautella* Walker (Lepidoptera: Phycitidae) Infestation. *Biotropia*, *15*, 58–75.

Direktorat Jenderal Perkebunan. (2015). *Statistik perkebunan Indonesia: Kakao 2014-2016* (p. 68). Jakarta: Direktorat Jenderal Perkebunan, Kementerian Pertanian.

Ditzen, M., Pellegrino, M., & Vosshall, L. B. (2008). Insect odorant receptors are molecular targets of the insect repellent DEET. *Science (New York, N.Y.)*, *319*(5871), 1838–1842.

Dobie, P., Haines, C.P., Hodges, R. J. Prevet, P.F., & Rees, D.P. (1991). *Insect and arachnids of tropical stored products. Their biology and identification*. United Kingdom: Nasional Resources Institute (NRI).

Eziah, V.Y., Sackey, I., Boateng, B.A., & Obeng-Ofori, D. (2011). Bioefficacy of neem oil (calneem), a botanical insecticide against the tropical warehouse moth, *Ephestia cautella*. *Int. Res. J. Agric. Sci. Soil Sci., 1*(7), 242–248.

Fields, P. G., Xie, Y. S., & Hou, X. (2001). Repellent effect of pea (*Pisum sativum*) fractions against stored-product insects. *J. Stor. Prod. Res.*, *37*(4), 359–370. doi: http://doi.org/10.1016/S0022-474X(00)00038-2.

Harry-Asobara, Linda, J., Samson, & Okon, E.-O. (2014). Comparative study of the phytochemical properties of *Jatropha curcas* and *Azadirachta indica* plant extracts. *J. Pois. Med. Plants Res.*, *2*(2), 20–24.

Jayanudin. (2011). Komposisi kimia minyak atsiri daun cengkeh. *J. Teknik Kimia Indonesia*, *10*(1), 37–42.

Kamboj, A., & Saluja, A. K. (2011). Isolation of stigmasterol and β-sitosterol from petroleum ether extract of aerial parts of *Ageratum conyzoides* (Asteraceae). *Int. J. Pharm. &Pharma. Sci.*, *3*(1), 94–96.

Kong, C., Hu, F., Xu, X., Zhang, M., & Liang, W. (2005). Volatile allelochemicals in the *Ageratum conyzoides* intercropped citrus orchard and their effects on mites *Amblyseius newsami* and *Panonychus citri*. *J. Chem. Ecol.*, *31*(9), 2193–2203.

Licciardello, F., Muratore, G., Suma, P., Russo, A., & Nerín, C. (2013). Effectiveness of a novel insect-repellent food packaging incorporating essential oils against the red flour beetle (*Tribolium castaneum*). *Innov. Food Sci. Em. Tech.*, *19*, 173–180.

Liu, C.H., Mishra, A.K., Tan, R.X., Tang, C., Yang, H., & Shen, Y.F. (2006). Repellent and insecticidal activities of essential oils from *Artemisia princeps* and *Cinnamomum camphora* and their effect on seed germination of wheat and broad bean. *Bioresource Technol.*, *97*, 1969–1973.

Makanjuola, W. A. (1989). Evaluation of extracts of neem (*Azadirachta indica* A. Juss) for the control of some stored product pests. *J. Stor. Prod. Res.*, *25*(4), 231–237.

Mandal, S. (2011). Repellent activity of eucalyptus and *Azadirachta indica* seed oil against the filarial mosquito *Culex quinquefasciatus* say (Diptera: Culicidae) in India. *Asian Pacific J. Trop. Biomed.*, *1*(SUPPL. 1).

Manzoor, F., Nasim, G., Saif, S., & Asma Malik, S. (2011). Effect of ethanolic plant extracts on three storage grain pests of economic importance. *Pakistan J. Bot.*, *43*(6), 2941–2946.

Mikonnen, M., Abate, S., & Manhile, B. (2015). Adaptation of citronella grass oil (*Cymbopogon winterianus* Jowitt) technologies as an alternative method for cockroaches (*Blatella germanica* L.). *Int. J. Innov. Agric. &Biol. Res.*, *3*(1), 29–33.

Miresmailli, S., & Isman, M. B. (2014). Botanical insecticides inspired by plant-herbivore chemical interactions. *Trends in Plant Science*.

Mishra, R. P., & Kalyani, S. (2014). Antimicrobial activities of *Syzigium aromaticum* L. (clove). *Int. Res. J. Biol. Sci.*, *3*(8), 22–25.

Mobki, M., Safavi, S. A., Safaralizadeh, M. H., & Panahi, O. (2014). Toxicity and repellency of garlic (*Allium sativum* L.) extract grown in Iran against *Tribolium castaneum* (Herbst) larvae and adults. *Arch. Phytopathol. &Plant Protec.*, *47*(1), 59–68.

Nerio, L. S., Olivero-Verbel, J., & Stashenko, E. (2010). Repellent activity of essential oils: A review. *Bioresource Technol.*, *101*(1), 372–378.

Paluch, G., Grodnitzky, J., Bartholomay, L., & Coats, J. (2009). Quantitative structure-activity relationship of botanical sesquiterpenes: Spatial and contact repellency to the yellow fever mosquito, *Aedes aegypti*. *J. Agric. and Food Chem.*, *57*(16), 7618–7625.

Paranagama, P. A., Abeysekera, K. H. T., Nugaliyadde, L., & Abeywickrama, K. (2002). Bioactivity of leaf volatiles of *Azadirachta indica* A. Juss. and *Murraya koenigii* Spreng. against *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae). *Trop. Agric. Res. and Exten.*, *5*(1/2), 17–21.

Peta, D., & Pathipati, U. R. (2008). Biological potency of certain plant extracts in management of two lepidopteran pests of Ricinus communis L. *Journal of Biopesticides*, *1*(2), 170–176.

Pino, O., Sánchez, Y., & Rojas, M. M. (2013). Plant secondary metabolites as an alternative in pest management. I: Background, research approaches and trends. *Revista de Protección Vegetal*, *28*(2), 81–94.

Rahman, G. K. M. M., & Motoyama, N. (2000). Repellent effect of garlic against stored product pests. *J. Pes. Sci.*, *25*(3), 247–252.

Rahman, A. & Talukder, F.A. (2006). Bioefficacy of some plant derivatives that protect grain against the pulse beetle, *Callosobruchus maculatus*. *J. Insect Sci., 6*, 03.

Sasaki, E. T., & Calafiori, M. H. (1987). Repellent effect of garlic (*Allium sativum* L.) on *Sitophilus* sp. in stored maize. *Ecossistema*, *publ., 1988*, 30–33.

Shukla, A. C. (2013). Plant secondary metabolites as source of postharvest disease management: An overview. *J. Stor. Prod. and Posth. Res.*, *4*(1), 1–10. doi: http://doi.org/10.5897/JSPPR12.029.

Sjam, S. (2007). Pengelolaan hama pasca panen untuk memenuhi tuntutan perdagangan internasional. *Prosiding Seminar Ilmiah dan Pertemuan Tahunan PEI dan PFI XVIII Komda Sulsel* (pp. 246–249).

Sjam, S., Melina, & Thamrin, S. (2010). Pengujian ekstrak tumbuhan *Vitex trifolia* L., *Acorus colomus* L., dan *Andropogon nardus* L. terhadap hama pasca panen *Araecerus fasciculatus* de Geer (Coleoptera: Anthribidae) pada biji kakao. *J. Entomol. Indon.*, *7*(1), 1–8.

Soesanthy, F., & Samsudin. (2013). Peranan ekstrak babadotan dan bawang putih serta minyak kemiri sunan terhadap serangan penggerek buah kakao. *J. Tan. Industri &Penyegar*, *4*(2), 157–164.

Susmitha, S., Vidyamol, K. K., Ranganayaki, P., & Vijayaragavan, R. (2013). Phytochemical extraction and antimicrobial properties of *Azadirachta indica* (Neem). *Global J. Pharm.*, *7*(3), 316–320. doi: http://doi.org/10.5829/idosi.gjp. 2013.7.3.1107.

Tettey, E., Jonfia-Essien, W.A., & Obeng-Ofori. (2014). The impact of insect infestation on stored purpled cocoa beans. *Jenrem*, *1*(3), 176–181.

Tusuncu, S., Emekci, M., & Navarro, S. (2001). The use of modified atmospheres for controlling almond moth, *Ephestia cautella* (Walker) (Lepidoptera: Pyralidae). *Proc. Int. Conf. Controlled Atmosphere and Fumigation in Stored Products* (pp. 637–642). Gold-Coast Australia, 29 Oct–3 Nov. 2000.

Tuty, F.M. (2009). *Analisis permintaan ekspor biji kakao Sulawesi Tengah oleh Malaysia*. (Tesis, Universitas Diponegoro, Semarang).

Ulrichs, C., & Mewis, I. (2000). Treatment of rice with neem and diatomaceous earth for controlling the stored-product Coleoptera, *Sitophilus oryzae* and *Tribolium castaneum*. *Anzeiger Fur Schadlingskunde-Journal of Pest Science*, *73*(2), 37–40.

Utami, S., Syaufina, L., & Haneda, N. F. (2010). Daya racun ekstrak kasar daun bintaro (*Cerbera odol*/am Gaertn.) terhadap larva *Spodoptera litura* Fab.. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, *15*(2), 96–100.

Walter, J. F. (1999). Commercial experience with neem products. In Franklin R. Hall & Julius J. Menn. (Eds.), *Biopesticides use and delivery* (p. 155–170). Totowa, New Jersey: Humana Press.

Wang, X., Li, Q., Shen, L., Yang, J., Cheng, H., Jiang, S., … Wang, H. (2014). Fumigant, contact, and repellent activities of essential oils against the darkling beetle, *Alphitobius diaperinus*. *J. Insect Sci.*, *14*(1), 1–11.

Yang, F. L., Liang, G. W., Xu, Y. J., Lu, Y. Y., & Zeng, L. (2010). Diatomaceous earth enhances the toxicity of garlic, *Allium sativum*, essential oil against stored-product pests. *J. Stor. Prod. Res.*, *46*(2), 118–123.

Zandi-Sohani, N., Hojjati, M., & Carbonell-Barrachina, A. A. (2012). Bioactivity of *Lantana camara* L. essential oil against *Callosobruchus maculatus* (Fabricius). *Chilean Journal of Agricultural Research*, *72*(4), 502–506.

Zhang, J. S., Zhao, N. N., Liu, Q. Z., Liu, Z. L., Du, S. S., Zhou, L., & Deng, Z. W. (2011). Repellent constituents of essential oil of *Cymbopogon distans* aerial parts against two stored-product insects. *J. Agric. &Food Chem.*, *59*(18), 9910–9915.

MITRA BESTARI
JURNAL TANAMAN INDUSTRI DAN PENYEGAR
VOLUME 3 NOMOR 2 2016

Prof. Dr. Ir. Sutrisno, M.Agr.
Institut Pertanian Bogor – Pascapanen Pertanian

Dr. Ir. Ade Wachjar, M.S.
Institut Pertanian Bogor – Agronomi

Dr. Hagus Tarno, Agr. Sc.
Universitas Brawijaya – Entomologi

Prof (R). Dr. Ika Mariska Soedharma
Masyarakat Kelapa Sawit Indonesia – Bioteknologi Pertanian

Prof (R). Dr. Elna Karmawati, M.S.
Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan – Entomologi

Puji Lestari, SP, M.Si, Ph.D.
Balai Besar Litbang Bioteknologi & SDG Pertanian – Biologi Molekuler

Dr. Ir. Rubiyo, M.Si.
Balai Besar Pengkajian dan Pengembangan Teknologi Pertanian – Agronomi

KETENTUAN PENULISAN NASKAH
JURNAL TANAMAN INDUSTRI DAN PENYEGAR

CAKUPAN

"Jurnal Tanaman Industri dan Penyegar" (*Journal of Industrial and Beverage Crops*) merupakan publikasi ilmiah yang memuat hasil penelitian tanaman industri dan penyegar yang belum pernah dipublikasikan.

PENGAJUAN NASKAH

Naskah yang diajukan belum pernah diterbitkan atau tidak sedang dalam proses evaluasi publikasi lain, telah mendapat persetujuan dari tim penulis sebagai pihak yang sama-sama bertanggung jawab terhadap naskah. Naskah dikirim dan diberi pengantar dari kepala unit kerja disertai file elektronik kepada:

Redaksi Jurnal Tanaman Industri dan Penyegar
Jl. Raya Pakuwon Km 2 Parungkuda, Sukabumi 43357 e-mail: **uppublikasi@gmail.com**.

PENYIAPAN NASKAH

Naskah: Ditulis dalam Bahasa Indonesia atau Bahasa Inggris, diketik pada kertas HVS ukuran A4 dengan jarak 2 spasi, dalam format *Microsoft Office Word*, jenis dan ukuran font *Times New Roman* 12, dan disarankan tidak lebih dari 20 halaman. Susunan naskah terdiri dari: Judul, Nama dan Institusi Penulis, Abstrak dan Kata kunci, *Abstract* dan *Keywords*, Pendahuluan, Bahan dan Metode, Hasil dan Pembahasan, Kesimpulan, Ucapan Terimakasih (apabila diperlukan), dan Daftar Pustaka.

Judul: Ringkas, jelas, menggambarkan isi dan substansi tulisan, tidak lebih dari 15 kata, ditulis dalam Bahasa Indonesia dan Bahasa Inggris dengan huruf kapital.

Nama dan Institusi Penulis: Nama penulis ditulis lengkap tanpa gelar, penulis pertama adalah penulis utama. Nama dan alamat institusi ditulis lengkap untuk penulis pertama, kedua, ketiga, dan seterusnya, serta dilengkapi alamat email penulis korespondensi dan diberikan tanda *.

Abstrak: Merupakan intisari dari seluruh tulisan, memuat masalah, tujuan, metode (dilengkapi tempat dan waktu), dan hasil penelitian. Ditulis satu paragraf dalam Bahasa Indonesia dan Bahasa Inggris serta tidak lebih dari 250 kata.

Kata kunci: Kata yang mewakili isi naskah, dapat berupa kata tunggal atau majemuk, terdiri atas tiga sampai dengan lima kata, dan ditulis dalam Bahasa Indonesia serta Bahasa Inggris

Pendahuluan: Memuat latar belakang, perumusan masalah, tujuan, dan sitasi pustaka yang relevan.

Bahan dan Metode: Memuat uraian tentang tempat dan waktu, bahan, tahapan pelaksanaan, dan metode analisis yang digunakan.

Hasil dan Pembahasan: Hasil yang dikemukakan relevan dengan permasalahan dan tujuan penelitian, serta metode dan peubah yang digunakan. Pembahasan ditulis dengan ringkas, fokus pada interpretasi dari hasil yang diperoleh, dan bukan merupakan pengulangan dari bagian hasil.

a. **Tabel**: Tabel diberi judul singkat tetapi jelas dengan keterangan dan sumber secukupnya sehingga disajikan secara mandiri. Semua simbol, istilah, dan singkatan dalam tabel harus dijelaskan pada keterangan. Tiap tabel diberi nomor secara berurutan dan diulas di dalam naskah. Judul, keterangan, dan sumber ditulis dalam Bahasa Indonesia dan Bahasa Inggris.

b. **Gambar dan foto**: Tiap gambar dan foto diberi nomor secara berurutan dan diulas dalam naskah. Semua simbol dan singkatan harus dijelaskan. Judul, keterangan, dan sumber ditulis dalam Bahasa Indonesia dan Bahasa Inggris. Resolusi gambar dan foto disarankan tidak lebih dari 300 dpi dengan kualitas normal.

c. **Grafik dan diagram**: Grafik dan diagram dibuat dengan garis yang cukup tebal sehingga memungkinkan penciutan dalam proses pencetakan. Tiap grafik dan diagram diberi nomor secara berurutan dan diulas dalam naskah. Semua simbol, istilah, dan singkatan harus dijelaskan. Judul, keterangan, dan sumber ditulis dalam Bahasa Indonesia dan Bahasa Inggris.

Kesimpulan: Uraian singkat dalam bentuk kalimat utuh yang menjawab tujuan dan permasalahan penelitian, bila perlu dilengkapi dengan saran atau implikasi.

Ucapan Terima Kasih: Ditujukan kepada pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan kegiatan atau pendanaan.

Daftar Pustaka: Jumlah pustaka minimal sepuluh dan 80% berasal dari sumber acuan primer, serta dianjurkan terbitan lima tahun terakhir. Daftar pustaka disusun secara alfabetis, nama penulis yang sama ditulis lengkap dan disusun berdasarkan tahun terlama. Penulisan daftar pustaka dan sitasi dalam naskah mengacu pada *American Psychological Association 6th edition (APA) style*. Penjelasan cara penulisan daftar pustaka dan sitasi dapat diunduh di http://balittri.litbang.pertanian.go.id/index.php/publikasi/category/58-ketentuan-penulisan

Contoh penulisan sitasi:

1. Satu atau dua orang penulis
   Herman & Pranowo (2013)
2. Nama penulis 3 sampai 5, nama belakang untuk semua penulis ditulis pada saat pertama kali, selanjutnya hanya nama belakang penulis pertama diikuti *et al*.
   Waller, Bigger, Hillocks, & Ruth (2007)
   Waller *et al.* (2007)
3. Nama penulis 6 atau lebih, hanya nama belakang penulis pertama diikuti *et al.*
   Karmawati *et al.* (2010)
4. Sitasi lebih dari satu dalam satu pernyataan disusun berdasarkan tahun terlama.
   (Midgarden & Lira, 2006; Martono *et al.*, 2013)
5. Nama penulis yang sama dalam tahun yang sama dengan publikasi berbeda dibubuhi huruf (a,b,c, dan seterusnya) pada tahun publikasi.
   (Widyotomo, 2012a; Widyotomo, 2012b)

Contoh penulisan daftar pustaka:

Artikel Jurnal

Herman, M., & Pranowo, D. (2013). Pengaruh mikroba pelarut fosfat terhadap pertumbuhan dan serapan hara P benih kakao (*Theobroma cacao* L.). *Buletin Riset Tanaman Rempah dan Aneka Tanaman Industri, 4*(2), 129–138.

Buku

Karmawati, E., Mahmud, Z., Syakir, M., Ardana, I. K., Munarso, J., & Rubiyo. (2010). *Budidaya dan pasca panen kakao* (p. 92). Bogor: Badan Litbang Pertanian.

Artikel dalam buku

Wardiana, E. (2012). Pengembangan konsep interaksi genotipe dengan lingkungan (GxE) untuk mendukung rantai nilai kopi. *In* Rubiyo, Syafaruddin, B. Martono, R. Harni, U. Daras, & E. Wardiana (Eds.), *Bunga Rampai: Inovasi Teknologi Tanaman Kopi untuk Perkebunan Rakyat* (pp. 35–46). Sukabumi: Unit Penerbitan dan Publikasi Balittri.

Disertasi/Tesis/Skripsi

Milly, P. J. (2003). *Antimicrobial properties of liquid smoke fractions* (Master's Thesis, University of Georgia, Athens, Georgia).

Naskah Prosiding

Martono, B., Rubiyo, Rudi, T. S., & Udarno, M. L. (2013). Seleksi pohon induk kopi excelsa. *In Prosiding Seminar Nasional Inovasi Teknologi Kopi: Peran Inovasi Teknologi Kopi Menuju Green Economy Nasional* (pp. 43–46). Bogor, 28 Agustus 2013.

Naskah Online

Garson, G. D. (2008). *Path analysis*. Retrieved from http://www2.faculty.chass.ncsu.edu/garson/pa765/path.htm.

Contoh penampilan tabel:

Tabel 1. Pengaruh berbagai jenis tanaman penaung terhadap persentase tanaman berbuah tanaman kopi Arabika umur 9 bulan

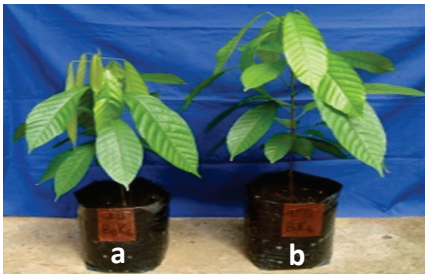
Table 1. Effect of various shading trees on percentage of fruit set of coffee at 9 months old

Jenis tanaman penaung	Intensitas cahaya matahari (%)	Tanaman berbuah (%)
Ceremai	80	30,56 a
Belimbing wuluh	66	22,22 a
Kayumanis	78	16,67 a
Gliricidia	34	83,34 b
KK (%)	-	42,82

Keterangan : Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada uji Tukey taraf 5%

Notes : Numbers followed by the same letter in the same column are not significantly different at Tukey test 5% level

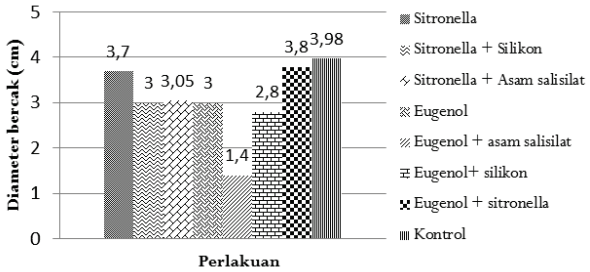
Contoh penampilan gambar/foto:



Gambar 1. Pertumbuhan bibit kakao hibrida: (a) tanpa perlakuan dan (b) perlakuan benih dengan media tanam

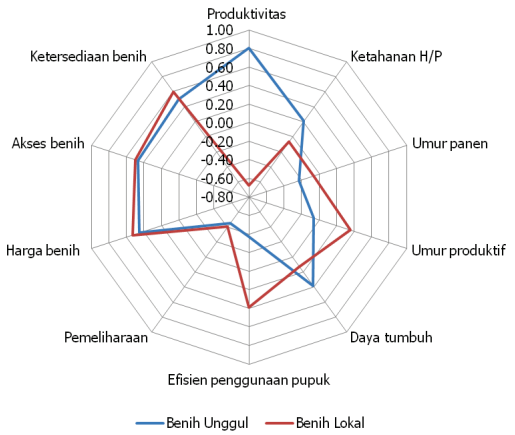
Figure 1. Growth of hybrid cacao seedlings: (a) without treatment and (b) with seed treatment and planting medium

Contoh penampilan grafik/diagram:



Gambar 1. Pengaruh formula fungisida nabati eugenol dan sitronella terhadap diameter bercak *P. palmivora* pada buah kakao

Figure 1. The effect of eugenol and citronella botanical fungicides to colony diameter of P. palmivora *on cocoa pods*



Gambar 1. Peta persepsi petani terhadap atribut benih unggul dan benih lokal

Figure 1. Farmer's perception map for superior and local coffee seed attributes

9 772356 129070