

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

Journal
TANAMAN INDUSTRI
DAN PENYEGAR

Journal of Industrial and Beverage Crops

Volume 5, Nomor 3, November 2018

Terakreditasi DIKTI No.30/E/KPT/2018
Tanggal 24 Oktober 2018



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

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 5, Nomor 3, November 2018

Terakreditasi DIKTI No.30/E/KPT/2018

Tanggal 24 Oktober 2018

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

Dani, SP, M.Sc. - Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar

Arifa Nofrialdi Chan - Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar

Intan Nurhayati, S.Sos. - Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar

Dewi Nur Rokhmah, SP, M.Sc. - Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar

Asif Aunillah, STP, M.Sc. - 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 2018 Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar

PENERBIT

Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan

MITRA BESTARI
JURNAL TANAMAN INDUSTRI DAN PENYEGAR

1. **Prof. Dr. Ir. Sudarsono, M.Sc.**
Institut Pertanian Bogor
Biologi Molekuler/Pemuliaan
2. **Prof. Dr. Ir. Sutrisno, M.Agr.**
Institut Pertanian Bogor
Pascapanen Pertanian
3. **Dr. Amzul Rifin, S.P., M.A.**
Institut Pertanian Bogor
Agribisnis
4. **Dr. Ir. Ade Wachjar, M.S.**
Institut Pertanian Bogor
Agronomi
5. **Dr. Ir. Taryono, M.Sc.**
Universitas Gadjah Mada
Genetika dan Biologi Molekuler
6. **Ir. Arifin Noor Sugiharto, M.Sc, Ph.D.**
Universitas Brawijaya
Pemuliaan
7. **Dr. Hagus Tarno, Agr. Sc.**
Universitas Brawijaya
Entomologi
8. **Prof. Ir. I. G. A. Mas Sri Agung,
M.Rur.Sc, Ph.D.**
Universitas Udayana
Ekofisiologi
9. **Prof (R). Dr. Ika Mariska Soedharma**
Masyarakat Kelapa Sawit Indonesia
Bioteknologi Pertanian
10. **Dr. Ir. Isroi, M.Si.**
Pusat Penelitian Bioteknologi dan Bioindustri
Indonesia
Bioteknologi Pertanian
11. **Prof (R). Dr. Supriadi, M.Sc.**
Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat
Fitopatologi
12. **Prof (R). Dr. Elna Karmawati, M.S.**
Pusat Penelitian dan Pengembangan
Perkebunan
Entomologi
13. **Prof (R). Dr. Ir. I Wayan Rusastra, M.S.**
Pusat Sosial Ekonomi dan Analisis Kebijakan
Agroekonomi
14. **Puji Lestari, SP, M.Si, Ph.D.**
Balai Besar Litbang Bioteknologi & SDG
Pertanian
Biologi Molekuler
15. **Dr. Ir. Rubiyo, M.Si.**
Balai Besar Pengkajian dan Pengembangan
Teknologi Pertanian
Agronomi
16. **Prof. Dr. Ir. Risfaheri, M.Si.**
Balai Besar Pascapanen
Pascapanen Pertanian
17. **Dr. Ir. Agus Wahyudi, M.S.**
Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat
Agroekonomi
18. **Dr. Ir. Oti Rostiana, M.Sc**
Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat
Pemuliaan Tanaman
19. **Prof. Dr. Ir. Jajang Sauman Hamdani,
MS**
Universitas Padjadjaran
Budidaya Pertanian
20. **Dr. Caspar Chater**
Instituto de Biotecnologia de la UNAM
Genetika dan Biologi Molekuler
21. **Dr. Ir. Maswar, M. Agric. Sc.**
Balai Penelitian Tanah
Hidrologi dan Konservasi Tanah

22. Kuntoro Boga Andri, SP, M.Agr., Ph.D

Sekretariat Jenderal Kementerian Pertanian
Agroekonomi

23. Prof. (R). Dr. Ir. I. Djatnika, MS

Balai Penelitian Tanaman Hias
Fitopatologi

24. Reflinur, SP., MSi., Ph.D

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan
Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik
Bioteknologi

25. Dr. Ir. Nurliani Bermawie

Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat
Pemuliaan Tanaman

26. Dr. Ika Roostika Tambunan, S.P.,b M.Si

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan
Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik

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 5 Nomor 3 ini menyajikan 5 artikel: 2 artikel kakao di bidang pemuliaan, 1 artikel karet di bidang proteksi tanaman, 1 artikel kopi di bidang proteksi tanaman, serta 1 artikel teh di bidang agronomi.

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

Ketua Dewan Editor

Jurnal
**TANAMAN INDUSTRI
DAN PENYEGAR**
Journal of Industrial and Beverage Crops
Volume 5, Nomor 3, November 2018

UDC 633.74:575.113.1

Nur Kholilatul Izzah, Budi Martono, Baharuddin, dan Edi Wardiana

Keragaman Genetik Klon Kakao Lokal Sulawesi Tenggara Berdasarkan Marka SSR dan Karakter Morfologi*J. TIDP 5(3), 95-104*

November, 2018

Karakterisasi molekuler dan morfologi pada klon kakao yang berasal dari Sulawesi Tenggara sangat penting dilakukan untuk mengetahui keunggulan dan hubungan kekerabatan dari masing-masing klon. Analisis keragaman genetik menggunakan marka molekuler juga bermanfaat untuk mendeteksi adanya duplikasi di antara klon yang dikoleksi. Tujuan penelitian adalah mengetahui keragaman genetik klon kakao lokal Sulawesi Tenggara berdasarkan marka SSR dan karakter morfologi. Penelitian dilaksanakan di *Sub Station* Penelitian Kakao, Desa Lebojaya, Kecamatan Konda, Kabupaten Konawe Selatan, Sulawesi Tenggara, dan Laboratorium Terpadu, Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar Sukabumi, serta Laboratorium Biologi Molekuler, Balai Besar Litbang Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian Bogor, mulai bulan April sampai November 2015. Analisis keragaman genetik dilakukan pada 21 klon kakao yang meliputi 19 klon lokal dan 2 varietas nasional sebagai pembandingan dengan menggunakan 22 marka SSR. Hasil karakterisasi molekuler diperoleh 11 marka bersifat polimorfik, selanjutnya digunakan untuk mengelompokkan klon kakao menggunakan program NTSYS. Hasil pengelompokan membagi klon kakao menjadi 4 kelompok utama pada nilai kesamaan genetik 0,46. Berdasarkan nilai jarak genetik $>0,70$ diperoleh 8 kombinasi klon kakao yang dapat dipilih sebagai tetua persilangan dengan harapan untuk meningkatkan efek heterosis pada keturunannya. Hasil karakterisasi morfologi secara umum menunjukkan adanya keragaman antar keempat kelompok kakao yang terbentuk. Berdasarkan karakter molekuler dan morfologi dapat diketahui bahwa klon kakao yang berasal dari Sulawesi Tenggara mempunyai keragaman yang tinggi dan dapat dimanfaatkan dalam program pengembangan varietas unggul baru.

Kata kunci: Kakao, karakter morfologi, keragaman genetik, marka SSR

UDC 633.72 – 154.71

Muthia Syafika Haq dan Adhi Irianto Mastur

Pertumbuhan Benih Hasil Setek Sambung Beberapa Klon Unggul Teh*J. TIDP 5(3), 105-112*

November, 2018

Kegiatan perakitan varietas unggul teh untuk menggabungkan beberapa sifat unggul memerlukan waktu cukup lama sehingga diperlukan cara yang lebih cepat dan praktis, di antaranya melalui cara setek sambung. Setek yang digunakan harus memiliki beberapa keunggulan, antara lain berpotensi hasil tinggi, toleran terhadap kekeringan, tahan serangan organisme pengganggu tanaman, dan memiliki *inner quality* yang baik. Tujuan penelitian adalah mengetahui pertumbuhan benih hasil setek sambung beberapa klon unggul teh. Penelitian dilakukan di Kebun Percobaan Pusat Penelitian Teh dan Kina Gambung, Jawa Barat, dengan ketinggian tempat 1.250–1.450 m di atas permukaan laut (dpl), mulai bulan Maret 2016 sampai Juni 2017. Percobaan menggunakan rancangan acak kelompok dengan 9 perlakuan dan 3 ulangan. Perlakuan merupakan kombinasi antara batang atas dan batang bawah beberapa klon unggul (GMB 3, GMB 7, GMB 9, TRI 2025, PS 1, dan Gedeh 1) dengan teknik setek sambung. Peubah yang diamati adalah tinggi benih, jumlah daun, jumlah akar, dan panjang akar. Data dianalisis dengan menggunakan sidik ragam yang dilanjutkan dengan uji Duncan (DMRT) pada taraf 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi setek sambung TRI 2025/GMB 3, TRI 2025/GMB 7, TRI 2025/GMB 9, PS 1/GMB 3, PS 1/GMB 7, dan Gedeh 1/GMB 3 memiliki kompatibilitas dan pertumbuhan yang lebih baik dibandingkan dengan PS 1/GMB 9, Gedeh 1/GMB 7, dan Gedeh 1/GMB 9. Keenam kombinasi tersebut dapat digunakan untuk perbanyakan teh menggunakan setek sambung.

Kata kunci: Kompatibilitas, setek sambung, teh

Jurnal
**TANAMAN INDUSTRI
DAN PENYEGAR**
Journal of Industrial and Beverage Crops
Volume 5, Nomor 3, November 2018

UDC 633.91 – 293.7

Khaerati, Yulius Fery, dan Rusli

Seleksi Mikrob Filoplan dan Endofit sebagai Agens Hayati Penyakit Gugur Daun Karet (*Corynespora cassiicola*)*J. TIDP* 5(3), 113-122

November, 2018

Penyakit gugur daun pada karet disebabkan oleh jamur *Corynespora cassiicola* dapat menurunkan produktivitas secara signifikan. Infeksi *C. cassiicola* menyebabkan daun gugur sepanjang tahun, keterlambatan matang sadap, penurunan produksi, dan kematian pada klon yang rentan. Tujuan penelitian adalah memperoleh mikrob filoplan dan endofit potensial yang dapat menekan *C. cassiicola* patogen penyakit gugur daun karet. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Terpadu Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar, Sukabumi, mulai bulan Januari hingga Desember 2016. Isolat yang digunakan merupakan mikrob filoplan dan endofit hasil eksplorasi dari daerah Jawa Barat dan Kalimantan Barat. Mikrob yang diperoleh diseleksi dengan metode oposisi langsung dengan *C. cassiicola*. Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) untuk menguji antagonisme jamur dan bakteri filoplan dan endofit terhadap *C. cassiicola*. Hasil identifikasi jamur *Corynespora* sp., konidia tunggal, berwarna coklat muda, berbentuk seperti tongkat, pada bagian pangkal membengkak, dan berseptum 2–14. Hasil uji daya hambat diperoleh 42 isolat jamur dan 19 isolat bakteri yang berpotensi menghambat *C. cassiicola*. Enam isolat jamur diantaranya memiliki daya hambat $\geq 90\%$ yang terdiri atas dua isolat jamur filoplan (DTJF11 dan CPSR7) dan empat jamur endofit (CEBPM15, CEBPM23, CEBPM27, dan CEPR9), dengan mekanisme penghambatan lisis, mikoparasit, kompetisi dan antibiosis. Hasil identifikasi menunjukkan DTJF11 sebagai *Trichoderma asperellum*, CPSR7 sebagai *Talaromyces pinophilus*, dan CEBPM15 sebagai *Amanita tenuifolia*. Sedangkan isolat bakteri yang memiliki potensi sebagai agens hayati adalah isolat BP7, L3, BP3, BP4, BP5, dan BP6, yang memiliki daya hambat antara 28,54%–40,94%, dengan mekanisme antibiosis.

Kata kunci: Agens hayati, *Corynespora cassiicola*, filoplan, endofit, karet

UDC 633.73 293.7

Gusti Indriati dan Samsudin

Potensi Asap Cair sebagai Insektisida Nabati Pengendali Penggerek Buah Kopi *Hypothenemus hampei**J. TIDP* 5(3), 123-134

November, 2018

Penggerek buah kopi (PBKo) merupakan hama utama tanaman kopi. Hama ini sulit dikendalikan karena menyerang buah kopi sejak berada di pohon hingga tahap penyimpanan di gudang. Tujuan penelitian adalah mengetahui potensi asap cair sebagai insektisida nabati untuk mengendalikan hama PBKo. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Proteksi Tanaman, Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar, mulai bulan Januari sampai Desember 2016. Asap cair yang digunakan berasal dari kulit buah kakao, serbuk gergaji, tempurung kelapa, dan sekam padi. Analisis kandungan fitokimia asap cair dilakukan secara kualitatif dan kuantitatif menggunakan *gas chromatography mass spectrometry* (GCMS). Uji toksisitas menggunakan metode residu dan kontak. Pengujian toksisitas dilakukan pada konsentrasi 1%; 1,5%; 2%; dan 2,5%, kontrol (akuades), insektisida klorpirifos (2 ml/l) sebagai pembanding. Masing-masing perlakuan menggunakan 15 ekor imago *H. hampei* diulang 3 kali. Parameter yang diamati mortalitas pada 24, 48, 72, 96, dan 120 jam setelah perlakuan (JSP). Uji daya tolak makan (*antifeedancy*) menggunakan 10 buah biji kopi dalam wadah plastik yang diinfestasi 20 ekor imago diulang 3 kali. Parameter yang diamati adalah jumlah lubang gergakan pada 1, 2, 3, 4, 5, 6, dan 7 hari setelah infestasi. Hasil analisis menunjukkan komponen terbesar dalam asap cair yang diduga berfungsi sebagai insektisida adalah *benzenesulfonic acid 4-hydroxy dan acetic acid*. Semua asap cair yang diuji bersifat toksik terhadap imago PBKo. Mortalitas imago PBKo tertinggi pada perlakuan asap cair tempurung kelapa konsentrasi 2,5% sebesar 48,87%, dengan tingkat serangan 20% dan penurunan serangan 70%. Asap cair dari tempurung kelapa berpotensi sebagai insektisida nabati untuk mengendalikan hama PBKo.

Kata kunci: Asap cair, *Hypothenemus hampei*, kopi

Jurnal
**TANAMAN INDUSTRI
DAN PENYEGAR**
Journal of Industrial and Beverage Crops
Volume 5, Nomor 3, November 2018

UDC 633.74: 575.113.1

Indah Sulistiyorini, Rubiyo, dan Sudarsono

Evaluasi Keceragaman Klonal pada Enam Klon Kakao Unggul Berdasarkan Marka SSR

J. TIDP 5(3), 135-144

November, 2018

Perbanyakan bahan tanam unggul kakao umumnya dilakukan secara vegetatif (klonal). Oleh karena itu, tanaman yang diperbanyak secara klonal harus memiliki keceragaman genetik. Keceragaman 3 genetik dalam klon kakao juga sangat penting untuk konservasi plasma nutfah dan mendapatkan tetua persilangan yang murni. Evaluasi keceragaman genetik dapat diketahui melalui marka *simple sequence repeats* (SSR). Tujuan penelitian adalah mengetahui keceragaman genetik pada enam klon kakao unggul berdasarkan marka SSR. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Terpadu, Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar, Sukabumi dan Laboratorium Biologi Molekuler Tanaman, IPB, Bogor mulai bulan September 2015 sampai Desember 2016. Enam klon kakao yang digunakan adalah TSH 858, TSH 908, ICS 13, PA 300, GC 7, dan UIT yang berasal dari Kebun Percobaan Kalitelepak PTPN XII, Kecamatan Genteng, Banyuwangi, Jawa Timur. Sepuluh tanaman sampel diambil dari masing-masing klon secara acak untuk isolasi DNA. Amplifikasi DNA dilakukan dengan menggunakan 12 marka SSR. Hasil penelitian menunjukkan 12 marka SSR yang digunakan menghasilkan 45 alel dengan jumlah alel per lokus adalah 3–4 alel. Nilai *polymorphic information content* (PIC) berkisar 0,37–0,67 yang tergolong sangat informatif untuk mengidentifikasi keceragaman genetik populasi kakao. Hasil analisis menunjukkan bahwa enam primer SSR menghasilkan pola pita yang tidak seragam pada klon TSH 858 dan UIT yang mengindikasikan adanya *off type* sebanyak 8,33%, sedangkan pada empat klon kakao yang lain (GC 7, ICS 13, PA 300, dan TSH 908) lebih seragam secara genetik.

Kata kunci: Kakao, keceragaman genetik, klon, marka SSR

Jurnal
**TANAMAN INDUSTRI
DAN PENYEGAR**
Journal of Industrial and Beverage Crops
Volume 5, Nomor 3, November 2018

UDC 633.74:575.113.1

*Nur Kholilatul Izzah, Budi Martono, Baharuddin, and Edi Wardiana***Genetic Diversity of Cacao Clones from Southeast Sulawesi Based on SSR Markers and Morphological Characters***J. TIDP 5(3), 95-104**November, 2018*

Molecular and morphological characterization of cacao clones obtained from exploration in Southeast Sulawesi is very important to know their superiority and genetic relationships. Analysis of genetic diversity using molecular markers is also useful for detecting duplication found among collected clones. The research aimed to determine the genetic diversity of local cacao clones derived from Southeast Sulawesi based on SSR markers and morphological characters. The research was conducted at Cacao Research Sub-Station, Lebojaya Village, Konda Subdistrict, South Konawe Regency, Southeast Sulawesi, and Integrated Laboratory of Indonesian Industrial and Beverage Crops Research Institute Sukabumi, and Molecular Biology Laboratory of Indonesian Center for Agricultural Biotechnology and Genetic Resources Research and Development Bogor, from April to November 2015. Genetic diversity analysis was performed on 21 cacao clones covering 19 local clones and 2 national varieties using 22 SSR markers. The molecular characterization results showed that 11 markers are polymorphic, and subsequently used to group cacao clones using NTSYS program. The grouping results divided the cacao clones into 4 main groups at 0.46 genetic similarity values. Based on genetic distance values >0.7, 8 combinations of cacao clones can be selected as parental clones with the expectation to increase the effect of heterosis on progeny. On the other hand, result of morphological characterization generally indicated the diversity between the four cacao groups. Based on molecular and morphological characterization, it can be seen that cacao clones derived from Southeast Sulawesi have a high diversity and can be utilized in the development program of new improved varieties.

Keywords: *Cacao, genetic diversity, morphological character, SSR markers*

UDC 633.72 – 154.71

*Muthia Syafika Haq and Adhi Irianto Mastur***The Growth of Seedlings Generated From Cleft Grafting of Several Superior Tea Clones***J. TIDP 5(3), 105-112**November, 2018*

Efforts to produce superior tea varieties require a long time, therefore a more practical method is needed, through cleft grafting. Planting material to be used should have superior qualities such as high yield, drought tolerance, resistant to pest and disease, and good inner quality. The research aimed to investigate the growth of grafted seedlings of several superior tea clones. The experiment was conducted at IRITC Gambung Experimental Garden with an altituded 1,250–1,450 m asl, from March 2016 until June 2017. Randomized complete block design with 9 treatments and 3 replications was used in this study. The 9 treatments were a combinations of scion and rootstock from several superior tea clones (GMB 3, GMB 7, GMB 9, TRI 2025, PS 1, and Gedeh 1) by grafting technique. Variables observed were plant height, number of leaves, number, and length of roots. The data were analyzed by anova and followed by duncan multiple range test (DMRT) at 5% level. The results showed that the grafting combinations of TRI 2025/GMB 3, TRI 2025/GMB 7, TRI 2025/GMB 9, PS 1/GMB 3, PS 1/GMB 7, and Gedeh 1/GMB 3 showed good compatibility and growth compared to PS 1/GMB 9, Gedeh 1/GMB 7, and Gedeh 1/GMB 9. Therefore, those six combinations can be used for tea propagation through grafting technique.

Keywords: *Grafting, compatibility, tea*

Journal
**TANAMAN INDUSTRI
DAN PENYEGAR**
Journal of Industrial and Beverage Crops
Volume 5, Nomor 3, November 2018

UDC 633.91 – 293.7

Khaerati, Yulius Fery, and Rusli

Selection of Phylloplane and Endophyte Microbes as Biocontrol for Rubber Leaf Fall Disease (*Corynespora cassiicola*)

J. TIDP 5(3), 113-122

November, 2018

Leaf fall disease in rubber caused by *Corynespora cassiicola* fungi significantly decreases rubber productivity. *C. cassiicola* causes leaves to fall all year round, a delay in the tapping of immature rubber plants, yield decrease of producing plants, and even death of susceptible clones. The study aimed to obtain phylloplane and endophytic microbes potentially to inhibit the disease, was conducted from January to December 2016. The study used randomized complete design to assess antagonistic fungi and phylloplane and endophytic bacterias toward *C. cassiicola* in isolates obtained through exploration in West Java and West Kalimantan. Pathogen isolation showed *Corynespora* sp with pale brown color, single conidia which slightly bended, shaped like a stick that is swollen at the base, with 2–14 septa. Inhibitory analysis found 42 fungi isolates and 19 bacteria isolates potentially inhibiting *C. cassiicola*. Six fungi isolates have an inhibitory ability of $\geq 90\%$, consisting of two phylloplane fungi isolates (DTJF11 and CPSR7) and four endophytic fungi (CEBPM15, CEBPM23, CEBPM27, and CEPR9) with lysis, mycoparasitism, competition, and antibiosis inhibitory mechanism. The identification showed fungi isolate of DTJF11 is classified as *Trichoderma asperellum*, CPSR7 as *Talaromyces pinophilus*, and CEBPM15 as *Amanita tenuifolia*. Potential bacterial isolates as biological agents are BP7, L3, BP3, BP4, BP5 and BP6 isolates, which have inhibitory power of 28.54%–40.94%, with antibiosis inhibition mechanism.

Keywords: Biological agents, *Corynespora cassiicola*, endophytic, phylloplane, rubber

UDC 633.73 293.7

Gusti Indriati and Samsudin

Potential of Liquid Smoke as Botanical Insecticide to Control Coffee Berry Borer *Hypothenemus hampei*

J. TIDP 5(3), 123-134

November, 2018

Coffee berry borer (CBB) is the main pest of coffee plants. This pest is difficult to control as it attacks coffee fruit on the tree, multiplies inside the fruit and stays till storage. The study aimed to determine the potential liquid smoke from plant waste to control CBB. The research was conducted at Plant Protection Laboratory (IIBCRI), from January to December 2016. The liquid smokes made from cacao pod husks, sawdust, coconut shells, and rice husks. Phytochemical content of liquid smokes was analyzed qualitatively and quantitatively using gas chromatography mass spectrometry (GCMS). Toxicity analysis was carried out by residual and contact methods at concentrations of 1%; 1.5%; 2%; 2.5%; controls (aquades), and chlorpyrifos insecticide (2 ml/l) as comparison. Each treatment used 15 *H. hampei* imagos, repeated 3 times. Mortality parameters were observed at 24, 48, 72, 96, and 120 hours after treatment (HAT). To investigate antifeedance, 10 coffee fruits were infested with 20 imagos in plastic containers, repeated 3 times and parameters observed were the number of holes at 1, 2, 3, 4, 5, 6, and 7 days after infestation. The results showed that the largest component in liquid smoke presumably functioned as insecticides are Benzenesulfonic acid 4-hydroxy and Acetic acid. All liquid smokes tested were toxic to CBB imagos. The highest CBB mortalities occurred after liquid smoke treatment from coconut shell at concentrations of 2.5% by 48.87%, attack rate was only 20%, decreased 70%. Liquid smoke from coconut shell is the most potential as botanical insecticide to control CBB.

Keywords: Coffee, *Hypothenemus hampei*, liquid smoker

Jurnal
**TANAMAN INDUSTRI
DAN PENYEGAR**
Journal of Industrial and Beverage Crops
Volume 5, Nomor 3, November 2018

UDC 633.74: 575.113.1

Indah Sulistiyorini, Rubiyo, and Sudarsono

Evaluation of Clonal Uniformity in Six Superior Cacao Clones Based on SSR Marker

J. TIDP 5(3), 135-144

November, 2018

Propagation of cacao plants is generally carried out vegetatively. Therefore, plants that are clonally propagated should be genetically uniform. Genetic uniformity in cacao clones is also very important information for germplasm conservation and in obtaining pure parental crosses. Evaluation of genetic uniformity can be seen through analysis using SSR markers. This study aimed to determine the genetic uniformity in six cacao clones using SSR markers. This experiment was conducted at IIBCRI Integrated Laboratory in Sukabumi and Plant Molecular Biology Laboratory, IPB Bogor, from September 2015 to December 2016. Six cacao clones used (TSH 858, TSH 908, ICS 13, PA 300, GC 7 and UIT) are from Kalitelepak experimental station of PTPN XII, Genteng District, Banyuwangi, East Java. Ten samples were taken randomly to represent cacao clones. DNA amplification was carried out using 12 SSR markers. The result showed that 12 SSR markers generated 45 alleles with the number of alleles per locus was 3-4 alleles. The polymorphic information content (PIC) ranges from 0.37–0.67, which are identified as very informative molecular analysis in identifying the genetical uniformity of the evaluated cacao population. Six SSR loci generated variant alleles within both the TSH 858 and UIT clones, indicating there are off-type plants in these two samples. Clonal uniformity were detected for samples of the GC 7, ICS 13, PA 300 and TSH 908 clones. On the other hand, 8.33% of evaluated samples within the TSH 858 and UIT clones were off-type plants.

Keywords: *Cacao, clone, genetic uniformity, SSR markers*

Jurnal
**TANAMAN INDUSTRI
DAN PENYEGAR**
Journal of Industrial and Beverage Crops

Volume 5, Nomor 3, November 2018

- | | |
|--|---------|
| Keragaman Genetik Klon Kakao Lokal Sulawesi Tenggara Berdasarkan Marka SSR dan Karakter Morfologi
<i>(Nur Kholilatul Izzah, Budi Martono, Baharuddin, dan Edi Wardiana)</i> | 95-104 |
| Pertumbuhan Benih Hasil Setek Sambung Beberapa Klon Unggul Teh
<i>(Muthia Syafika Haq dan Adhi Irianto Mastur)</i> | 105-112 |
| Seleksi Mikrob Filoplan dan Endofit sebagai Agens Hayati Penyakit Gugur Daun Karet
<i>(Corynespora cassiicola)</i>
<i>(Khaerati, Yulius Fery, dan Rusli)</i> | 113-122 |
| Potensi Asap Cair sebagai Insektisida Nabati Pengendali Penggerek Buah Kopi
<i>Hypothenemus hampei</i>
<i>(Gusti Indriati dan Samsudin)</i> | 123-134 |
| Evaluasi Keseragaman Klonal pada Enam Klon Kakao Unggul dengan Marka SSR
<i>(Indah Sulistiyorini, Rubiyo dan Sudarsono)</i> | 135-144 |

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

Journal
**TANAMAN INDUSTRI
DAN PENYEGAR**
Journal of Industrial and Beverage Crops
Volume 5, Nomor 3, November 2018

**KERAGAMAN GENETIK KLON KAKAO LOKAL SULAWESI TENGGARA
BERDASARKAN MARKA SSR DAN KARAKTER MORFOLOGI**

*GENETIC DIVERSITY OF CACAO CLONES FROM SOUTHEAST SULAWESI BASED ON SSR
MARKERS AND MORPHOLOGICAL CHARACTERS*

* Nur Kholilatul Izzah¹⁾, Budi Martono¹⁾, Baharuddin,²⁾ dan Edi Wardiana¹⁾

¹⁾ **Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar**

Jalan Raya Pakuwon Km 2 Parungkuda, Sukabumi 43357 Indonesia

* *lila_ref@yahoo.co.id*

²⁾ **Balai Pengkajian Teknologi Pertanian (BPTP) Sulawesi Tenggara**

Jl. Profesor Muhammad Yamin No. 89, Lasoso, Sampara, Puuwatu, Kendari 93354 Indonesia

(Tanggal diterima: 12 Mei 2018, direvisi: 14 Mei 2018, disetujui terbit: 12 November 2018)

ABSTRAK

Karakterisasi molekuler dan morfologi pada klon kakao yang berasal dari Sulawesi Tenggara sangat penting dilakukan untuk mengetahui keunggulan dan hubungan kekerabatan dari masing-masing klon. Analisis keragaman genetik menggunakan marka molekuler juga bermanfaat untuk mendeteksi adanya duplikasi di antara klon yang dikoleksi. Tujuan penelitian adalah mengetahui keragaman genetik klon kakao lokal Sulawesi Tenggara berdasarkan marka SSR dan karakter morfologi. Penelitian dilaksanakan di *Sub Station* Penelitian Kakao, Desa Lebojaya, Kecamatan Konda, Kabupaten Konawe Selatan, Sulawesi Tenggara, dan Laboratorium Terpadu, Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar Sukabumi, serta Laboratorium Biologi Molekuler, Balai Besar Litbang Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian Bogor, mulai bulan April sampai November 2015. Analisis keragaman genetik dilakukan pada 21 klon kakao yang meliputi 19 klon lokal dan 2 varietas nasional sebagai pembanding dengan menggunakan 22 marka SSR. Hasil karakterisasi molekuler diperoleh 11 marka bersifat polimorfik, selanjutnya digunakan untuk mengelompokkan klon kakao menggunakan program NTSYS. Hasil pengelompokan membagi klon kakao menjadi 4 kelompok utama pada nilai kesamaan genetik 0,46. Berdasarkan nilai jarak genetik >0,70 diperoleh 8 kombinasi klon kakao yang dapat dipilih sebagai tetua persilangan dengan harapan untuk meningkatkan efek heterosis pada keturunannya. Hasil karakterisasi morfologi secara umum menunjukkan adanya keragaman antar keempat kelompok kakao yang terbentuk. Berdasarkan karakter molekuler dan morfologi dapat diketahui bahwa klon kakao yang berasal dari Sulawesi Tenggara mempunyai keragaman yang tinggi dan dapat dimanfaatkan dalam program pengembangan varietas unggul baru.

Kata kunci: Kakao, karakter morfologi, keragaman genetik, marka SSR

ABSTRACT

Molecular and morphological characterization of cacao clones obtained from exploration in Southeast Sulawesi is very important to know their superiority and genetic relationships. Analysis of genetic diversity using molecular markers is also useful for detecting duplication found among collected clones. The research aimed to determine the genetic diversity of local cacao clones derived from Southeast Sulawesi based on SSR markers and morphological characters. The research was conducted at Cacao Research Sub-Station, Lebojaya Village, Konda Subdistrict, South Konawe Regency, Southeast Sulawesi, and Integrated Laboratory of Indonesian Industrial and Beverage Crops Research Institute Sukabumi, and Molecular Biology Laboratory of Indonesian Center for Agricultural Biotechnology and Genetic Resources Research and Development Bogor, from April to November 2015. Genetic diversity analysis was performed on 21 cacao clones covering 19 local clones and 2 national varieties using 22 SSR markers. The

molecular characterization results showed that 11 markers are polymorphic, and subsequently used to group cacao clones using NTSYS program. The grouping results divided the cacao clones into 4 main groups at 0.46 genetic similarity values. Based on genetic distance values >0.7 , 8 combinations of cacao clones can be selected as parental clones with the expectation to increase the effect of heterosis on progeny. On the other hand, result of morphological characterization generally indicated the diversity between the four cacao groups. Based on molecular and morphological characterization, it can be seen that cacao clones derived from Southeast Sulawesi have a high diversity and can be utilized in the development program of new improved varieties.

Keywords: Cacao, genetic diversity, morphological character, SSR markers

PENDAHULUAN

Kakao (*Theobroma cacao* L.) merupakan tanaman tropis yang mempunyai nilai ekonomi tinggi dan menjadi komoditas andalan bagi sebagian besar petani di Indonesia. Salah satu wilayah yang dikenal sebagai penghasil kakao di Indonesia adalah Provinsi Sulawesi Tenggara dengan produksi 101.835 ton dari total produksi nasional sebesar 659.776 ton pada tahun 2017 (Direktorat Jenderal Perkebunan, 2017). Potensi lain yang dimiliki oleh Sulawesi Tenggara adalah ditemukannya beragam jenis klon-klon kakao unggul lokal yang dapat digunakan sebagai materi genetik dalam pengembangan varietas unggul baru (Rubiyo, Izzah, Sulistiyorini, & Tresniawati, 2015). Keragaman genetik yang luas merupakan landasan penting untuk perbaikan tanaman dan komponen utama dari strategi konservasi dan pemuliaan yang efektif (Thomson *et al.*, 2007).

Kakao dikenal sebagai tanaman yang mempunyai variasi tinggi pada penampilan fenotipik, contohnya warna buah yang belum matang, ketebalan kulit buah, jumlah biji, serta ukuran biji dan buah (Martínez, de la Cruz, Nelson, & Bertin, 2015). Selain itu, Efombagn, Sounigo, Nyassé, Manzanares-Dauleux, & Eskes (2009) juga mengemukakan bahwa penampilan fenotipik buah kakao berperan penting dalam menentukan jenis dan populasi kakao. Keragaman sifat morfologi pada kakao tersebut menjadi dasar dalam pengelompokan tanaman kakao yang dibudidayakan menjadi tiga tipe berbeda, yaitu Criollo, Forastero, dan Trinitario (Lanaud *et al.*, 1999; Yang *et al.*, 2013). Berdasarkan analisis molekuler menggunakan 106 marka *simple sequence repeats* (SSR), Motamayor *et al.* (2008) menyusun klasifikasi baru tanaman kakao menjadi 10 grup, yaitu Criollo, Amelonado, Nacional, Maranon, Nanay, Purus, Contamana, Iquitos, Guiana, dan Curaray. Sementara itu, hasil penelitian Cosme, Cuevas, Zhang, Oleksyk, & Irish (2016) menggunakan marka *expressed sequence tag-derived single nucleotide polymorphism* (EST-SNP) membagi kakao menjadi 5 kelompok genetik berbeda, yaitu Criollo, Trinitario, Amelonado, Upper Amazon Forastero (UAF), dan Nacional. Beragamnya morfologi tanaman kakao tersebut diduga merupakan hasil rekombinasi, mutasi kumulatif, dan seleksi pada individu yang dipengaruhi oleh lingkungan, serta dapat menjadi sumber daya

genetik potensial bagi program pemuliaan tanaman (Jing *et al.*, 2010; Rubiyo *et al.*, 2015).

Salah satu upaya untuk meningkatkan keragaman genetik pada koleksi plasma nutfah kakao adalah dengan melakukan eksplorasi. Eksplorasi merupakan kegiatan mencari, menemukan, dan mengumpulkan sumber daya genetik (SDG) tertentu yang dilakukan secara sengaja pada daerah-daerah sentra produksi, produksi tradisional, terisolir, maupun pertanian lereng-lereng gunung (Nurbani, 2015). Sementara itu, Sujiprihati & Syukur (2012) menyatakan bahwa koleksi SDG merupakan suatu upaya yang dilakukan untuk menghindari lenyapnya jenis-jenis yang ada pada pusat penyebaran dan sentra produksi tanaman tersebut. Pada penelitian ini, eksplorasi plasma nutfah kakao dilakukan di Provinsi Sulawesi Tenggara yang dikenal sebagai salah satu sentra produksi kakao nasional. Plasma nutfah kakao hasil eksplorasi tersebut selanjutnya perlu dikarakterisasi sifat-sifatnya untuk mengetahui ciri serta keunggulan dari masing-masing individu tanaman.

Karakterisasi tanaman, baik secara morfologi maupun molekuler, merupakan pendekatan yang harus ditempuh sebelum memanfaatkan koleksi plasma nutfah. Karakterisasi morfologi tanaman dengan sifat yang diinginkan merupakan langkah penting untuk pemanfaatan plasma nutfah yang efektif (Santos, Pires, & Correa, 2012). Sifat morfologi tanaman budi daya sangat bermanfaat untuk deskripsi, identifikasi, karakterisasi, dan evaluasi tanaman hasil seleksi. Selain itu, karakterisasi morfologi juga sangat bermanfaat untuk mengetahui ciri-ciri dari karakter vegetatif dan generatif dari masing-masing koleksi plasma nutfah (Martínez *et al.*, 2017). Namun demikian, karakterisasi secara morfologi mempunyai keterbatasan, yaitu kesalahan identifikasi karena salah pelabelan, dipengaruhi oleh faktor lingkungan, serta memerlukan banyak waktu dan biaya untuk mengamati tanaman dalam jumlah yang besar (Motamayor *et al.*, 2008). Oleh karena itu, perlu dibantu dengan karakterisasi secara molekuler dalam mengidentifikasi tanaman. Penggunaan marka molekuler diketahui lebih efektif dan meyakinkan dalam membedakan individu tanaman karena tidak dipengaruhi oleh faktor lingkungan (Reflinur, Lestari, & Lee, 2016). Marka SSR merupakan salah satu jenis marka yang banyak

digunakan untuk menganalisis variasi genetik tanaman. Keunggulan marka SSR adalah mempunyai lokus spesifik, pewarisan secara ko-dominan, produktivitas tinggi, dan proses deteksi berbasis *polymerase chain reaction* (PCR) (Varshney, Graner, & Sorrells, 2005).

Hasil penelitian sebelumnya telah membuktikan keefektifan 14 marka SSR polimorfik dalam mengelompokkan kakao hasil eksplorasi di daerah Kolaka, Sulawesi Tenggara menjadi 3 kelompok berbeda pada nilai kesamaan genetik 36% (Rubiyo *et al.*, 2015). Demikian juga hasil penelitian Tresniawati, Izzah, Sulistiyorini, & Wicaksono (2017) yang berhasil mengelompokkan 11 klon kakao lokal hasil eksplorasi di Kabupaten Lima Puluh Kota, Sumatera Barat berdasarkan 12 marka SSR polimorfik pada nilai kesamaan genetik 68%. Karakterisasi secara molekuler sebaiknya juga digunakan dalam mengidentifikasi tanaman untuk mendukung hasil karakterisasi secara morfologi. Analisis gabungan data molekuler dan morfologi dapat memberikan gambaran yang lebih komprehensif untuk mendukung upaya pemuliaan konvensional (Martínez *et al.*, 2017). Penelitian bertujuan menganalisis keragaman genetik klon kakao lokal Sulawesi Tenggara berdasarkan marka SSR dan karakter morfologi.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di *Sub Station* Penelitian Kakao, Desa Lebojaya, Kecamatan Konda, Kabupaten Konawe Selatan, Provinsi Sulawesi Tenggara dan Laboratorium Molekuler lingkup Laboratorium Terpadu, Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar (Balitri) Sukabumi, serta Laboratorium Biologi Molekuler, Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian (BB Biogen) Bogor, mulai bulan April sampai November 2015.

Materi Tanaman

Materi tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah 19 klon kakao lokal hasil eksplorasi dari kebun petani di hampir seluruh kabupaten di wilayah Sulawesi Tenggara dan 2 varietas nasional, yaitu MCC 01 dan MCC 02 sebagai pembanding. Kedua varietas nasional tersebut dipilih sebagai pembanding karena mempunyai beberapa keunggulan, yaitu mempunyai potensi produksi tinggi, ukuran biji relatif besar, kadar lemak tinggi, serta tahan terhadap penyakit busuk buah kakao (BBK) dan *vascular streak dieback* (VSD). Sementara itu, klon kakao lokal yang diuji keragaman genetiknya pada penelitian ini berbeda dengan klon kakao yang digunakan oleh Rubiyo *et al.* (2015). Klon kakao lokal tersebut diseleksi berdasarkan

beberapa kriteria, antara lain mempunyai ukuran buah besar, jumlah buah banyak, ukuran biji besar, tahan terhadap penyakit VSD dan hama penggerek buah kakao (PBK). Semua klon kakao lokal tersebut merupakan koleksi *Sub Station* Penelitian Kakao, Dinas Perkebunan dan Hortikultura, Provinsi Sulawesi Tenggara.

Ekstraksi DNA

Ekstraksi DNA dilakukan menggunakan 3 g daun kakao yang masih muda dan sehat. Daun kakao tersebut dipotong kecil-kecil kemudian digerus menggunakan mortar dan pestle dengan menambahkan nitrogen cair sampai menjadi serbuk halus. Proses ekstraksi DNA genomik kakao dilakukan berdasarkan metode *cetyltrimethylammonium bromide* (CTAB) (Allen, Flores-Vergara, Krasynanski, Kumar, & Thompson, 2006). DNA hasil ekstraksi selanjutnya diukur kualitas dan kuantitasnya menggunakan alat NanoDrop ND-1000 (NanoDrop Technologies, Inc., Wilmington, DE, USA). Hasil pengukuran konsentrasi DNA menggunakan alat NanoDrop ND-100 tersebut digunakan sebagai dasar untuk mengencerkan DNA menjadi konsentrasi 10 ng/ μ l dengan menggunakan larutan 1x bufer TE untuk keperluan analisis PCR.

Proses Amplifikasi PCR

Reaksi PCR dilakukan menggunakan total volume 15 μ l dengan komposisi bahan kimia terdiri dari 10 ng DNA, 0,2 μ M primer *forward* dan *reverse*, serta 1x *PCR mix* (KAPA2G *Fast ReadyMix*). Tipe marka DNA yang digunakan untuk mengamplifikasi DNA kakao adalah marka SSR sebanyak 22 pasang (Tabel 1) yang sebelumnya telah didesain oleh Lanaud *et al.* (1999) dan Pugh *et al.* (2004). Proses amplifikasi DNA dengan program PCR dilakukan melalui beberapa tahap, yaitu: (1) pre-denaturasi (95°C; 3 menit); (2) denaturasi (95°C; 15 detik), penempelan primer (*annealing*) (49°C–54°C; 15 detik), dan perpanjangan (*extension*) (72°C; 15 detik), semua proses dalam tahap ini diulang sebanyak 35 siklus; dan (3) perpanjangan akhir (*final extension*) (72°C; 10 menit). Produk PCR yang dihasilkan kemudian diseparasi menggunakan gel agarose 1% yang mengandung pewarna *GelRed* (biotium) pada larutan 0,5x bufer TBE. Selanjutnya, gel hasil elektroforesis divisualisasi menggunakan *UV transilluminator*. Proses selanjutnya adalah separasi DNA kakao yang telah teramplifikasi sempurna menggunakan gel poliakrilamid non-denaturasi 6% pada larutan 1x bufer TBE untuk menentukan polimorfisme. Gel hasil elektroforesis tersebut kemudian diwarnai menggunakan larutan *ethidium bromide* selama 20 menit dan divisualisasi pada *UV transilluminator* menggunakan *gel documentation system*.

Tabel 1. Marka SSR yang digunakan untuk mengamplifikasi 19 klon kakao lokal Sulawesi Tenggara dan 2 varietas nasional
Table 1. SSR markers used to amplify 19 local cacao clones from Southeast Sulawesi and 2 national varieties

Marka SSR	Urutan basa primer <i>forward</i>	Urutan basa primer <i>reverse</i>	Motif pengulangan	Lokasi kromosom	Ukuran alel referensi (bp)
mTcCIR1	GCAGGGCAGGCTCAGTGAAGCA	TGGGCAACCAGAAAACGAT	(CT) ₁₄	8	128–146
mTcCIR15	CAGCCGCCTCTTGTTAG	TATTTGGGATTCTTGATG	(TC) ₁₉	1	254
mTcCIR24	TTTGGGGTGATTTCTTCTGA	TCTGTCTCGTCTTTGGGTGA	(AG) ₁₃	9	186–207
mTcCIR33	TGGGTTGAAGATTGTTG	CAACAATGAAAATAGGCA	(TG) ₁₁	4	265–348
mTcCIR287	TCCTTTCTGTTTGTTCCT	TTATCCGTGTCCTCTCT	(TC) ₉	9	301
mTcCIR90	CCACTTCAAAAACATTCTA	GCAACTGTCAACCATTATCTA	(CT) ₁₀	9	291
mTcCIR145	CAGACTTCCAACCTCAAAACT	TGAGAATAGATGGACCGAT	(CT) ₁₇	9	117
mTcCIR167	GTAGAACCATAAACAACATT	ACAATCATTAATAATACGAG	(GA) ₁₆	3	254
mTcCIR229	ATCTCGTAAGGGGATGACATAA	CGCAATCCTACAACACA	(TC) ₈	10	307
mTcCIR264	TGCTATCCACAACCAGT	TAACTCACTTTTGCCACTA	(CT) ₈	1	192
mTcCIR276	TCCTGCTTTTTAATACAT	GTCCATCTGCCTCACT	(GA) ₁₄	6	124
mTcCIR91	TTTTGCTGAGTGTGCTGT	ATCCGAGAAATAGAATAGGTTA	(CT) ₁₀	10	186
mTcCIR18	GATAGCTAAGGGGATTGAGGA	GGTAATTCAATCATTGAGGATA	(GA) ₁₂	4	345
mTcCIR7	ATGCGAATGACAACCTGGT	GCTTTCACTCCTTTGCTT	(GA) ₁₁	7	160
mTcCIR10	ACAGATGGCCTACACACT	CAAGCAAGCCTCATACTC	(TG) ₁₃	-	208
mTcCIR40	AATCCGACAGTCTTTAATC	CCTAGGCCAGAGAATTGA	(AC) ₁₅	3	262–288
mTcCIR141	TGTTGCATAAAACACGAGTTC	CCTAAAATCCTTCCTAACAGC	(TC) ₁₄	7	217
mTcCIR81	TGAAACTCCATACTACTGA	ACAATCTGTCCATTATTCTG	(CT) ₁₅	3	216
mTcCIR198	TGGGACCATAAGGAAATC	CCCAGGTGAAGTAAGACA	(CA) ₃ TA(CA) ₆	3	186
mTcCIR138	CTGCCAAGTCAAGTAAAGTTC	CTGTGGTATCAATCAATCTAAT	(CA) ₁₁	1	128
mTcCIR268	TGTAATCCAAATAATAAGCAT	CAGTGAAGAGGCAAGAGA	(GA) ₁₇ GG(GA) ₉	2	316
mTcCIR281	CCGCTGTTTTGGTATTTTC	GGATGAGGGGTGGTTG	(TC) ₁₂ (CA) ₁₄	2	194

Karakterisasi Morfologi

Pengamatan karakter morfologi dilakukan di kebun *Sub Station* Penelitian Kakao, Desa Lebojaya, Kecamatan Konda, Kabupaten Konawe Selatan, Provinsi Sulawesi Tenggara. Pengamatan dilakukan pada tanaman kakao yang telah berumur 5 tahun setelah grafting. Jumlah tanaman kakao yang diamati sebanyak 10 pohon untuk setiap klon yang dipilih secara acak sederhana. Parameter yang diamati meliputi lebar tajuk (utara-selatan dan barat-timur), tinggi pohon, lingkaran batang, panjang dan lebar daun, panjang tangkai daun, jumlah buah/pohon, panjang, lingkaran, dan bobot buah, serta panjang, lebar, dan tebal biji.

Analisis Data

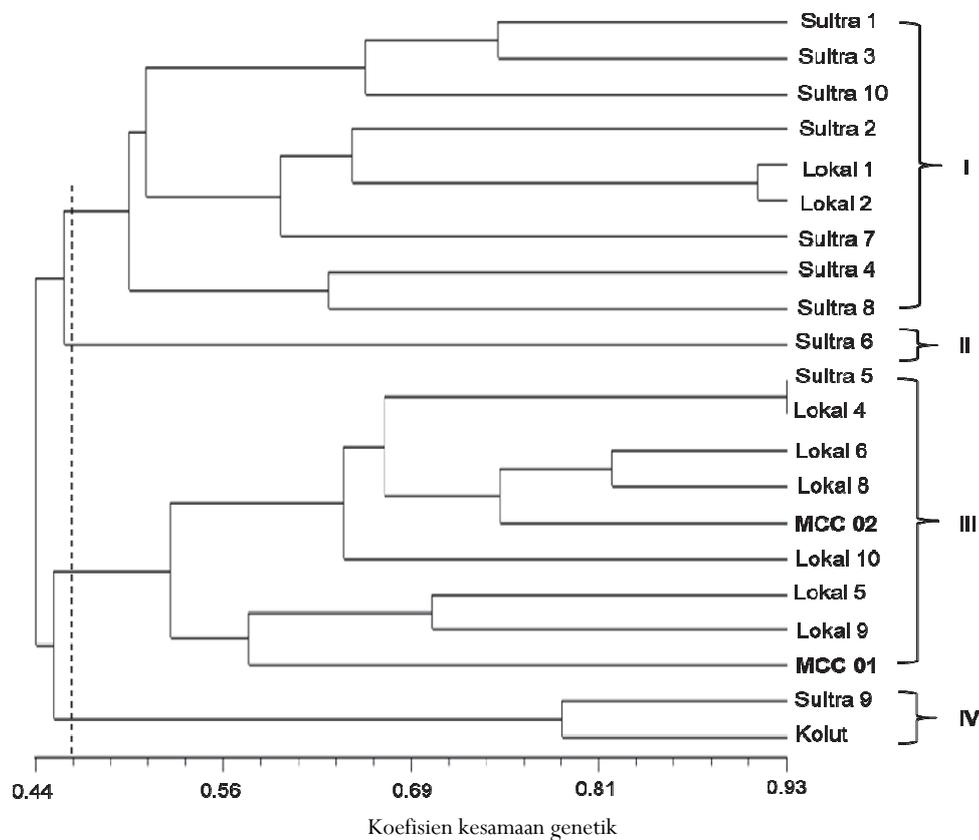
Hasil amplifikasi DNA yang menunjukkan pita polimorfik diberi skor menggunakan format data biner, yaitu skor 1 apabila terdapat pita dan 0 apabila tidak ada pita. Data biner tersebut selanjutnya digunakan untuk melakukan analisis keragaman genetik dan hubungan kekerabatan antar klon kakao lokal berdasarkan metode *unweighted pair group with arithmetic mean* (UPGMA) yang terdapat pada program NTSYS-PC versi 2.1 (Rohlf, 2000). Kesamaan genetik antara klon kakao dihitung berdasarkan koefisien *simple matching* (SM) dengan menggunakan subprogram SIMQUAL. Analisis kluster dilakukan dengan menggunakan metode UPGMA pada subprogram SAHN NTSYS-PC. Sementara itu, nilai jarak genetik antar klon kakao dihitung berdasarkan rumus 1-matrik kesamaan genetik.

Hasil pengelompokan klon kakao berdasarkan marka SSR selanjutnya digunakan sebagai dasar untuk melakukan analisis keragaman klon kakao berdasarkan karakter morfologi. Data karakter morfologi dianalisis berdasarkan empat kelompok genetik menggunakan analisis ragam satu arah (*one-way anova*), dan apabila hasilnya nyata maka dilanjutkan dengan uji beda rata-rata perlakuan dengan menggunakan metode Tukey pada taraf 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Keragaman Genetik antar Klon Kakao Berdasarkan Marka SSR

Karakterisasi secara molekuler menggunakan 22 marka SSR pada 21 klon kakao yang berasal dari Sulawesi Tenggara menunjukkan bahwa 11 marka menghasilkan pita polimorfik, sedangkan 11 marka yang lain memperlihatkan pita monomorfik dan tidak spesifik. Nilai kesamaan genetik 0,46 digunakan sebagai ambang untuk mengelompokkan 21 klon kakao menjadi empat kelompok utama (Gambar 1). Kelompok I terdiri dari 9 klon lokal, yaitu Sultra 1, Sultra 3, Sultra 10, Sultra 2, Lokal 1, Lokal 2, Sultra 7, Sultra 4, dan Sultra 8, sedangkan kelompok II hanya terdiri dari satu klon, yaitu Sultra 6. Kelompok III terdiri dari 7 klon lokal (Sultra 5, Lokal 4, Lokal 6, Lokal 8, Lokal 10, Lokal 5, dan Lokal 9) dan 2 varietas nasional (MCC 01 dan MCC 02). Kelompok IV terdiri dari 2 klon lokal, yaitu Sultra 9 dan Kolut.



Gambar 1. Hasil pengelompokan 21 klon kakao berdasarkan marka SSR. Klon kakao dengan cetak normal merupakan klon lokal hasil eksplorasi dari Sulawesi Tenggara, sedangkan klon dengan cetak tebal adalah varietas nasional

Figure 1. Clustering of 21 cacao clones based on SSR markers. Cacao clones with normal letters are local clones derived from Southeast Sulawesi, whereas clones with bold letters are national varieties

Pengelompokan genetik berdasarkan marka SSR menunjukkan bahwa semua klon kakao hasil eksplorasi di Sulawesi Tenggara mempunyai variasi genetik 0,07–0,56 atau mempunyai kesamaan genetik 0,44–0,93 (Gambar 1). Nilai variasi genetik antar klon kakao yang diperoleh pada penelitian ini lebih rendah dibandingkan dengan nilai variasi genetik klon kakao yang berasal dari Kolaka, Sulawesi Tenggara, yaitu 0,12–0,73 (Rubiyo *et al.*, 2015). Hal ini diduga disebabkan oleh jenis klon kakao yang berbeda serta perbedaan jumlah marka SSR yang digunakan. Namun demikian, hasil penelitian menunjukkan bahwa semua klon kakao tersebut mempunyai keragaman genetik tinggi yang diperlukan dalam upaya pengembangan varietas unggul baru. Kondisi ini sesuai dengan pernyataan Wicaksono, Rubiyo, Sukma, & Sudarsono (2017) bahwa ketersediaan klon unggul lokal dapat meningkatkan peluang keberhasilan dalam merakit varietas unggul baru. Hasil dendrogram juga memperlihatkan bahwa 2 varietas nasional yang digunakan sebagai pembandingan pada penelitian ini

(MCC 01 dan MCC 02) terletak pada kelompok III, menandakan adanya hubungan kekerabatan yang dekat dengan klon lokal yang terdapat pada kelompok yang sama.

Di sisi lain, marka SSR yang digunakan terbukti cukup efektif dalam membedakan semua klon kakao lokal hasil eksplorasi, kecuali antara klon Sultra 5 dengan Lokal 4 yang mempunyai kemiripan genetik 0,93 (jarak genetik 0,07). Demikian juga antara klon Lokal 2 dengan Lokal 1 yang mempunyai nilai kesamaan genetik 0,91 (jarak genetik 0,09) (Tabel 2). Diduga pasangan klon-klon kakao tersebut sebenarnya adalah klon yang sama secara genetik, namun dikoleksi dengan nama yang berbeda. Kejadian yang sama juga dilaporkan oleh Rubiyo *et al.* (2015) pada saat mengidentifikasi klon kakao lokal hasil observasi di daerah Kolaka. Selain itu, hasil penelitian Izzah *et al.* (2013) pada tanaman kubis juga berhasil mendeteksi dua varietas, yaitu Charmant dan GC 60 yang mempunyai kesamaan genetik 1 meskipun dikenal dengan nama yang berbeda.

Tabel 2. Nilai jarak genetik antar klon kakao lokal Sulawesi Tenggara yang dianalisis berdasarkan marka SSR
Table 2. Genetic distance values among local cacao clones derived from Southeast Sulawesi analyzed based on SSR markers

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	
1. S1	0,00																					
2. S2	0,43	0,00																				
3. S3	0,26	0,47	0,00																			
4. S4	0,39	0,49	0,53	0,00																		
5. S5	0,49	0,53	0,51	0,63	0,00																	
6. S6	0,54	0,53	0,51	0,54	0,48	0,00																
7. S7	0,50	0,43	0,53	0,59	0,44	0,49	0,00															
8. S8	0,59	0,52	0,44	0,37	0,56	0,51	0,53	0,00														
9. S9	0,57	0,50	0,52	0,62	0,64	0,75	0,50	0,48	0,00													
10. S10	0,35	0,53	0,33	0,54	0,53	0,53	0,54	0,45	0,65	0,00												
11. L1	0,45	0,31	0,43	0,51	0,50	0,61	0,35	0,43	0,64	0,44	0,00											
12. L2	0,53	0,39	0,50	0,58	0,56	0,62	0,42	0,50	0,65	0,52	0,09	0,00										
13. L4	0,53	0,57	0,50	0,71	0,07	0,51	0,48	0,60	0,63	0,51	0,49	0,50	0,00									
14. L5	0,61	0,60	0,58	0,55	0,40	0,59	0,35	0,58	0,60	0,60	0,41	0,42	0,38	0,00								
15. L6	0,54	0,53	0,56	0,63	0,22	0,57	0,40	0,64	0,69	0,58	0,45	0,51	0,29	0,35	0,00							
16. L8	0,61	0,50	0,65	0,51	0,32	0,55	0,32	0,59	0,56	0,67	0,63	0,69	0,40	0,46	0,18	0,00						
17. L9	0,61	0,60	0,74	0,65	0,44	0,59	0,50	0,74	0,65	0,60	0,62	0,63	0,43	0,30	0,44	0,56	0,00					
18. L10	0,67	0,60	0,58	0,70	0,35	0,69	0,45	0,53	0,60	0,60	0,51	0,58	0,38	0,50	0,40	0,32	0,65	0,00				
19. Kolut	0,58	0,46	0,57	0,64	0,45	0,72	0,50	0,57	0,21	0,69	0,61	0,62	0,48	0,59	0,45	0,30	0,73	0,45	0,00			
20. MCC01	0,53	0,58	0,44	0,63	0,46	0,57	0,47	0,44	0,50	0,45	0,37	0,39	0,45	0,42	0,41	0,59	0,53	0,53	0,57	0,00		
21. MCC02	0,49	0,52	0,57	0,67	0,39	0,71	0,35	0,76	0,57	0,58	0,55	0,61	0,38	0,49	0,26	0,25	0,40	0,35	0,42	0,56	0,00	

Keterangan: Angka yang dicetak tebal menunjukkan nilai jarak genetik >0,70

Notes : Numbers in bold type indicates the value of genetic distance >0,70

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa karakterisasi secara molekuler dengan marka SSR sangat penting dilakukan dalam proses identifikasi tanaman, karena dapat mengetahui hubungan kekerabatan antar klon dan mendeteksi adanya duplikasi pada klon kakao hasil eksplorasi. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Motamayor *et al.* (2008) yang menggunakan 106 marka SSR untuk mengkarakterisasi 1.241 aksesi kakao dalam upaya menghindari kesalahan identifikasi dan kesalahan interpretasi analisis keragaman plasma nutfah kakao di Amerika Selatan. Memahami keragaman genetik yang terdapat dalam koleksi plasma nutfah merupakan syarat utama untuk mengadopsi strategi konservasi dan pengelolaan yang efektif untuk memanfaatkan sumber daya genetik dalam perbaikan genetik tanaman (Roorkiwal *et al.*, 2014).

Hubungan kekerabatan antar klon kakao lokal dapat diketahui melalui nilai jarak genetik antar klon yang dapat dilihat pada Tabel 2. Nilai jarak genetik antar klon yang tinggi menunjukkan bahwa kedua klon tersebut mempunyai hubungan kekerabatan yang jauh, demikian juga sebaliknya. Dari Tabel 2 diketahui bahwa nilai jarak genetik antar klon bervariasi mulai 0,07–0,76. Nilai jarak genetik terendah (0,07) ditunjukkan pada kombinasi antara klon Lokal 4 dan Sultra 5, sedangkan nilai jarak genetik tertinggi (0,76) antara klon Sultra 8 dan MCC 02. Nilai jarak genetik ini dapat digunakan sebagai acuan dalam pemilihan tetua persilangan. Klon-klon yang mempunyai nilai jarak genetik tinggi ($>0,50$) dapat dipilih sebagai kombinasi tetua persilangan ideal dengan harapan untuk

mendapatkan progeni yang lebih unggul dibandingkan kedua tetuanya (Rubiyo *et al.*, 2015; Dani, Izzah, & Randriani, 2016). Hasil penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Rubiyo *et al.* (2015) mendapatkan nilai jarak genetik tertinggi 0,88 yang ditunjukkan oleh kombinasi klon ICCRI 04 dan ICCRI 03. Sementara itu, pada penelitian ini diperoleh 8 kombinasi klon lokal dengan nilai jarak genetik $>0,70$ yang dapat digunakan sebagai tetua persilangan, antara lain Lokal 9 x Sultra 3 (jarak genetik 0,74), Lokal 4 x Sultra 4 (jarak genetik 0,71), Sultra 9 x Sultra 6 (jarak genetik 0,75), Kolut x Sultra 6 (jarak genetik 0,72), MCC 02 x Sultra 6 (jarak genetik 0,71), Lokal 9 x Sultra 8 (jarak genetik 0,74), MCC 02 x Sultra 8 (jarak genetik 0,76), dan Kolut x Lokal 9 (jarak genetik 0,73) (Tabel 2).

Nilai jarak genetik juga dikalkulasi antar kelompok klon kakao yang dianalisis berdasarkan metode UPGMA. Rata-rata nilai jarak genetik yang diperoleh antar kelompok yang terbentuk disajikan pada Tabel 3. Nilai jarak genetik antar kelompok II dan IV merupakan yang paling tinggi, yaitu 0,74, dibandingkan dengan antar kelompok yang lainnya, yaitu antara 0,51 sampai 0,59. Hal ini juga didukung dengan hasil dendrogram yang menunjukkan bahwa kelompok II dan IV masing-masing terdiri dari satu dan dua klon kakao, menandakan bahwa ketiga klon tersebut sangat berbeda secara genetik dengan klon kakao lainnya hasil eksplorasi di Sulawesi Tenggara. Oleh karena itu, persilangan antar klon kakao yang berasal dari kelompok II dan IV juga memiliki peluang yang besar untuk menghasilkan materi hibrida unggul.

Tabel 3. Rata-rata nilai jarak genetik antar kelompok klon kakao
Table 3. Average of genetic distance values between groups of cacao clones

	Kelompok			
	I	II	III	IV
I	-			
II	0,51	-		
III	0,53	0,59	-	
IV	0,54	0,74	0,56	-

Tabel 4. Karakter vegetatif 4 kelompok kakao dari Sulawesi Tenggara
Table 4. Vegetative characters observed in 4 clusters of cacao derived from Southeast Sulawesi

Kelompok	Lebar tajuk U-S (m)	Lebar tajuk B-T (m)	Tinggi pohon (m)	Lingkar batang (cm)	Panjang daun (cm)	Lebar daun (cm)	Panjang tangkai daun (cm)
I	3,34 b	3,34 b	2,83 b	32,47 b	25,96 a	10,11 a	2,14 a
II	3,93 a	4,08 a	3,12 ab	37,00 a	29,48 a	10,80 a	2,25 a
III	3,33 b	3,40 b	3,28 a	33,20 ab	25,87 a	10,01 a	2,20 a
IV	3,84 a	3,64 ab	2,60 b	36,96 a	25,55 a	11,20 a	2,17 a
Rata-rata	3,61	3,61	2,96	34,91	26,71	10,53	2,19

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata menurut uji Tukey taraf 5%; U-S = utara-selatan; B-T = barat-timur; pengamatan dilakukan pada kakao umur 5 tahun setelah grafting

Notes : Numbers followed by the same letters in each column are not significantly different according to Tukey test at 5% level; N-S = north-south; W-E = west-east; observations were conducted at 5 years old cacao after grafting

Tabel 5. Komponen buah dan biji pada 4 kelompok kakao dari Sulawesi Tenggara
Table 5. Pod and seed components in 4 cacao clusters derived from Southeast Sulawesi

Kelompok	Jumlah buah/pohon	Bobot buah (g)	Panjang buah (cm)	Lingkar buah (cm)	Panjang biji (mm)	Lebar biji (mm)	Tebal biji (mm)
I	14,57 b	413,68 b	16,94 b	25,91 a	20,25 b	11,13 b	5,75 c
II	11,67 b	563,40 a	20,63 a	27,05 a	24,21 a	11,81 ab	6,09 bc
III	14,16 b	460,01 ab	16,29 b	26,69 a	24,19 a	12,32 a	7,15 ab
IV	29,75 a	480,60 ab	19,28 a	26,46 a	20,48 b	11,59 b	7,17 a
Rata-rata	17,54	479,42	18,28	26,53	22,28	11,71	6,54

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata menurut uji Tukey taraf 5%; pengamatan dilakukan pada kakao umur 5 tahun setelah grafting

Notes : Numbers followed by the same letters in each column are not significantly different according to Tukey test at 5% level; observations were conducted at 5 years old cacao after grafting

Keragaman Klon Kakao Berdasarkan Karakter Morfologi

Karakterisasi morfologi merupakan langkah awal yang memegang peranan penting dalam proses identifikasi suatu jenis tanaman (Wardiana, Towaha, & Syafaruddin, 2017). Hasil analisis keragaman karakter vegetatif pada empat kelompok klon kakao dapat dilihat pada Tabel 4. Penampilan empat karakter vegetatif, yaitu lebar tajuk, tinggi pohon, dan lingkar batang menunjukkan perbedaan pada keempat kelompok klon kakao. Sementara itu, karakter panjang dan lebar daun, serta panjang tangkai daun tidak berbeda nyata pada semua kelompok. Dengan demikian, berdasarkan hasil analisis menunjukkan bahwa karakter lebar tajuk, tinggi pohon, dan lingkar batang pada klon kakao lokal Sulawesi Tenggara lebih beragam dibandingkan dengan karakter panjang dan lebar daun, serta panjang tangkai daun. Oleh karena itu, ketiga karakter tersebut dapat digunakan sebagai pembeda antar klon untuk karakter vegetatif pada saat dilakukannya observasi.

Penampilan karakter buah yang meliputi jumlah, panjang, lingkar, dan bobot buah serta komponen biji (panjang, lebar, dan tebal biji) ditampilkan pada Tabel 5. Dari Tabel 5 diketahui bahwa kelompok IV yang terdiri dari klon Sultra 9 dan Kolut mempunyai jumlah buah terbanyak dibandingkan dengan kelompok lainnya. Hal ini mengindikasikan bahwa kedua klon kakao pada kelompok IV dapat dikategorikan sebagai materi genetik unggul dalam program pengembangan varietas unggul baru. Selain itu hasil analisis menunjukkan bahwa bobot buah dan panjang buah berbeda nyata pada keempat kelompok kakao. Kelompok II mempunyai bobot buah yang lebih berat dibandingkan dengan kakao pada kelompok I, namun tidak berbeda nyata dengan kakao pada kelompok III dan IV. Pada karakter panjang buah, kelompok II dan IV mempunyai buah yang lebih panjang dibandingkan dengan kakao yang terdapat pada kelompok I dan III, sedangkan karakter lingkar buah tidak menunjukkan perbedaan yang nyata pada semua

kelompok kakao. Hal ini menunjukkan bahwa karakter bobot buah dan panjang buah lebih beragam dibandingkan dengan lingkar buah pada klon kakao hasil eksplorasi di Sulawesi Tenggara. Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa karakter bobot buah merupakan salah satu karakter komponen buah yang digunakan untuk mengelompokkan 33 aksesori kakao Kaliwining menjadi 2 kelompok (Wardiana *et al.*, 2017). Selanjutnya, pada karakter komponen biji yang meliputi panjang, lebar, dan tebal biji juga menunjukkan keragaman pada semua kelompok kakao. Klon kakao pada kelompok II dan III mempunyai biji dengan ukuran yang lebih panjang dan lebar dibandingkan kelompok lainnya, namun demikian klon kakao pada kelompok IV mempunyai biji yang lebih tebal dibandingkan dengan kelompok I dan II. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Martínez *et al.* (2017) yang menyatakan bahwa penampilan fenotipik buah, yang meliputi warna buah, ketebalan kulit buah, jumlah biji, serta ukuran biji dan buah mempunyai variasi yang tinggi.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai rata-rata jarak genetik yang didasarkan pada karakterisasi molekuler (Tabel 3) sejalan dengan performa tanaman pada beberapa karakter morfologi (Tabel 4 dan 5). Sebagai contoh, berdasarkan karakterisasi molekuler diketahui bahwa nilai jarak genetik antar kelompok II dan IV adalah paling tinggi (0,74), sesuai dengan hasil karakterisasi morfologi, yaitu jumlah buah, panjang biji, dan tebal biji yang nyata berbeda antar kedua kelompok tersebut. Demikian halnya antar kelompok I, II, dan III, yang mempunyai nilai jarak genetik lebih rendah (0,51–0,59) juga diketahui mempunyai performa morfologi yang sama pada beberapa karakter morfologi, yaitu panjang dan lebar daun, panjang tangkai daun, jumlah buah, dan lingkar buah. Hal ini menunjukkan bahwa hasil karakterisasi molekuler berdasarkan marka SSR relatif sejalan dengan hasil karakterisasi morfologi. Meskipun demikian, pada penelitian ini masih ditemukan adanya sedikit perbedaan antara hasil

karakterisasi molekuler dengan morfologi yang diduga disebabkan oleh relatif sedikitnya jumlah marka SSR yang digunakan, sehingga belum dapat mewakili semua sifat morfologi yang diamati pada penelitian ini. Kejadian ini serupa dengan hasil penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Izzah, Randriani, & Dani (2015) pada kultivar kopi, yaitu mengelompokkan kopi dengan sifat morfologi yang berbeda pada kelompok yang sama. Namun, adanya hasil yang konsisten antar kedua pendekatan karakterisasi (molekuler dan morfologi) seperti yang ditunjukkan oleh kelompok II dan IV pada performa morfologi jumlah buah, panjang biji, dan tebal biji memberikan informasi yang menarik untuk diteliti lebih lanjut.

KESIMPULAN

Hasil analisis keragaman genetik berdasarkan marka SSR membagi klon kakao lokal yang berasal dari Sulawesi Tenggara menjadi 4 kelompok pada nilai kesamaan genetik 0,46. Berdasarkan nilai jarak genetik diketahui bahwa kelompok II dan IV mempunyai rata-rata nilai jarak genetik yang lebih tinggi (0,74) dibandingkan antar kelompok lainnya. Oleh karena itu, persilangan antar klon kakao yang berasal dari kelompok II dengan IV memiliki peluang yang besar untuk menghasilkan materi hibrida unggul. Selain itu, analisis menggunakan marka SSR juga berhasil mendeteksi adanya kemungkinan duplikasi pada klon yang dikoleksi, yaitu antar klon Sultra 5 dan Lokal 4 dengan kesamaan genetik 0,93, serta klon Lokal 2 dan Lokal 1 dengan kesamaan genetik 0,91. Hasil karakterisasi morfologi menunjukkan bahwa karakter lebar tajuk, tinggi pohon, lingkaran batang, bobot buah, panjang buah, dan komponen biji berbeda nyata pada 4 kelompok klon kakao. Hasil penelitian juga menunjukkan adanya keterkaitan antara hasil karakterisasi molekuler dan morfologi yang ditunjukkan oleh kelompok II dan IV. Karakterisasi molekuler dan morfologi yang dilakukan terhadap klon kakao yang berasal dari Sulawesi Tenggara ini dapat dijadikan sebagai dasar pada saat memanfaatkan klon tersebut untuk kegiatan pemuliaan berikutnya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Ibu Ir. Khairiah dan para staf *Sub Station* Penelitian Kakao, Dinas Perkebunan dan Hortikultura, Provinsi Sulawesi Tenggara, yang terletak di Desa Lebojaya, Kecamatan Konda, Kabupaten Konawe Selatan, yang telah membantu terlaksananya penelitian ini. Ucapan terima

kasih juga disampaikan kepada Januar Firmansyah, SP., Tri Buana Dewi, dan Mira Sitepu, SSi., yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian di Laboratorium. Penelitian ini didanai oleh DIPA Balittri T.A 2015.

DAFTAR PUSTAKA

- Allen, G. C., Flores-Vergara, M. A., Krasynanski, S., Kumar, S., & Thompson, W. F. (2006). A modified protocol for rapid DNA isolation from plant tissues using cetyltrimethylammonium bromide. *Nature Protocols*, 1(5), 2320–2325. <http://doi.org/10.1038/nprot.2006.384>
- Martínez, I. B., de la Cruz, M. V., Nelson, M. R., & Bertin, P. (2017). Morphological characterization of traditional cacao (*Theobroma cacao* L.) plants in Cuba. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 64(1), 73–99. <http://doi.org/10.1007/s10722-015-0333-4>
- Cosme, S., Cuevas, H. E., Zhang, D., Oleksyk, T. K., & Irish, B. M. (2016). Genetic diversity of naturalized cacao (*Theobroma cacao* L.) in Puerto Rico. *Tree Genetics and Genomes*, 12(88), 1–13. <http://doi.org/10.1007/s11295-016-1045-4>
- Dani, Izzah, N. K., & Randriani, E. (2016). Variasi genetik dalam populasi kultivar kopi Arabika berbuah kuning di lahan petani berdasarkan penanda SSRs. *Jurnal Tanaman Industri dan Penyegar*, 3(2), 83–94.
- Direktorat Jenderal Perkebunan. (2017). *Statistik perkebunan Indonesia 2016-2018: Kakao*. Jakarta: Kementerian Pertanian.
- Efombagn, M. I. B., Sounigo, O., Nyassé, S., Manzaneres-Dauleux, M. J., & Eskes, A. B. (2009). Phenotypic variation of cacao (*Theobroma cacao* L.) on farms and in the gene bank in Cameroon. *Journal of Plant Breeding and Crop Science*, 1(6), 258–264.
- Izzah, N. K., Randriani, E., & Dani. (2015). Analisis kekerabatan genetik kultivar kopi Arabika berbuah kuning dan berbuah merah berdasarkan marka SSR. *Jurnal Tanaman Industri dan Penyegar*, 2(3), 113–122.
- Izzah, N. K., Lee, J., Perumal, S., Park, J. Y., Ahn, K., Fu, D., & Nam, Y. (2013). Microsatellite-based analysis of genetic diversity in 91 commercial *Brassica oleracea* L. cultivars belonging to six varietal groups. *Genet Resour Crop Evol*, 60(7), 1967–1986. <http://doi.org/10.1007/s10722-013-9966-3>

- Jing, R., Vershinin, A., Grzebyta, J., Shaw, P., Smykal, P., Marshall, D., ... Flavell, A. J. (2010). The genetic diversity and evolution of field pea (*Pisum*) studied by high throughput retrotransposon based insertion polymorphism (RBIP) marker analysis. *BMC Evolutionary Biology*, 10(44), 1–20.
- Lanaud, C., Risterucci, A. M., Pieretti, I., Falque, M., Bouet, A., & Lagoda, P. J. L. (1999). Isolation and characterization of microsatellites in *Theobroma cacao* L. *Molecular Ecology*, 8(12), 2141–2152. <http://doi.org/10.1046/j>
- Motamayor, J. C., Lachenaud, P., e Mota, J. W. D. S, Loor, R., Kuhn, D. N., Brown, J. S., & Schnell, R. J. (2008). Geographic and genetic population differentiation of the Amazonian chocolate tree (*Theobroma cacao* L.). *PLoS ONE*, 3(10), 1–8. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0003311>
- Nurbani, S. (2015). Eksplorasi dan karakterisasi tumbuhan mekai sebagai penyedap rasa di Kabupaten Bulungan, Provinsi Kalimantan Utara. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon*, 1(2), 201–206.
- Pugh, T., Fouet, O., Risterucci, A. M., Brottier, P., Abouladze, M., Deletrez, C., ... Lanaud, C. (2004). A new cacao linkage map based on codominant markers: Development and integration of 201 new microsatellite markers. *Theor. Appl. Genet.*, 108(6), 1151–1161. <http://doi.org/10.1007/s00122-003-1533-4>
- Reflinur, Lestari, P., & Lee, S. (2016). The potential use of SSR markers to support the morphological identification of Indonesian mungbean varieties. *Indonesian Journal of Agricultural Science*, 17(2), 65–74.
- Rohlf, F. J. (2000). NTSYSpc: Numerical taxonomy and multivariate analysis system. Version 2.1. Exeter Software. New York: Applied Biostatistics Inc.
- Roorkiwal, M., Von Wettberg, E. J., Upadhyaya, H. D., Warschefsky, E., Rathore, A., & Varshney, R. K. (2014). Exploring germplasm diversity to understand the domestication process in *Cicer* spp. using SNP and DArT markers. *PLoS ONE*, 9(7), 1–10. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0102016>
- 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.
- Santos, R. C., Pires, J. L., & Correa, R. X. (2012). Morphological characterization of leaf, flower, fruit and seed traits among Brazilian *Theobroma* L. species. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 59(3), 327–345. <http://doi.org/10.1007/s10722-011-9685-6>
- Sujiprihati, & Syukur, M. (2012). Konservasi sumber daya genetik tanaman. In R. Poerwanto, I. Z. Siregar, & A. Suryani (Eds.), *Merevolusi Revolusi Hijau* (Buku III, pp. 528–536). Bogor: IPB Press.
- Thomson, M. J., Septiningsih, E. M., Suwardjo, F., Santoso, T. J., Silitonga, T. S., & Mccouch, S. R. (2007). Genetic diversity analysis of traditional and improved Indonesian rice (*Oryza sativa* L.) germplasm using microsatellite markers. *Theor Appl Genet.*, 114, 559–568. <http://doi.org/10.1007/s00122-006-0457-1>
- Tresniawati, C., Izzah, N. K., Sulistiyorini, I., & Wicaksono, I. N. A. (2017). Genetic variability of 11 local cacao clones derived from West Sumatra using SSR markers. *Jurnal Tanaman Industri dan Penyegar*, 4(2), 79–88.
- Varshney, R. K., Graner, A., & Sorrells, M. E. (2005). Genic microsatellite markers in plants: Features and applications. *Trends in Biotechnology*, 23(1), 48–55. <http://doi.org/10.1016/j.tibtech.2004.11.005>
- Wardiana, E., Towaha, J., & Syafaruddin. (2017). Pengelompokan 33 aksesii kakao berdasarkan karakter morfologi komponen buah. *Jurnal Tanaman Industri dan Penyegar*, 4(2), 67–78.
- Wicaksono, I. N. A., Rubiyo, Sukma, D., & Sudarsono. (2017). Analisis keragaman genetik 28 nomor koleksi kakao (*Theobroma cacao* L.) berdasarkan marka SSR. *Jurnal Tanaman Industri dan Penyegar*, 4(1), 13–22.
- Yang, J. Y., Scascitelli, M., Motilal, L. A., Sveinsson, S., Engels, J. M. M., Kane, N. C., ... Cronk, Q. C. B. (2013). Complex origin of trinitario-type *Theobroma cacao* (Malvaceae) from Trinidad and Tobago revealed using plastid genomics. *Tree Genetics and Genomes*, 9(3), 829–840. <http://doi.org/10.1007/s11295-013-0601-4>

Jurnal
**TANAMAN INDUSTRI
DAN PENYEGAR**
Journal of Industrial and Beverage Crops
Volume 5, Nomor 3, November 2018

**PERTUMBUHAN BENIH HASIL SETEK SAMBUNG
BEBERAPA KLON UNGGUL TEH**

*THE GROWTH OF SEEDLINGS GENERATED FROM CLEFT GRAFTING
OF SEVERAL SUPERIOR TEA CLONES*

* Muthia Syafika Haq dan Adhi Irianto Mastur

Pusat Penelitian Teh dan Kina

Desa Mekarsari Kecamatan Pasirjambu Kabupaten Bandung, Indonesia 40972

* muthiasyafikahaq.work@gmail.com

(Tanggal diterima: 17 Januari 2018, direvisi: 5 Maret 2018, disetujui terbit: 30 November 2018)

ABSTRAK

Kegiatan perakitan varietas unggul teh untuk menggabungkan beberapa sifat unggul memerlukan waktu cukup lama sehingga diperlukan cara yang lebih cepat dan praktis, di antaranya melalui cara setek sambung. Setek yang digunakan harus memiliki beberapa keunggulan, antara lain berpotensi hasil tinggi, toleran terhadap kekeringan, tahan serangan organisme pengganggu tanaman, dan memiliki *inner quality* yang baik. Tujuan penelitian adalah mengetahui pertumbuhan benih hasil setek sambung beberapa klon unggul teh. Penelitian dilakukan di Kebun Percobaan Pusat Penelitian Teh dan Kina Gambung, Jawa Barat, dengan ketinggian tempat 1.250–1.450 m di atas permukaan laut (dpl), mulai bulan Maret 2016 sampai Juni 2017. Percobaan menggunakan rancangan acak kelompok dengan 9 perlakuan dan 3 ulangan. Perlakuan merupakan kombinasi antara batang atas dan batang bawah beberapa klon unggul (GMB 3, GMB 7, GMB 9, TRI 2025, PS 1, dan Gedeh 1) dengan teknik setek sambung. Peubah yang diamati adalah tinggi benih, jumlah daun, jumlah akar, dan panjang akar. Data dianalisis dengan menggunakan sidik ragam yang dilanjutkan dengan uji Duncan (DMRT) pada taraf 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi setek sambung TRI 2025/GMB 3, TRI 2025/GMB 7, TRI 2025/GMB 9, PS 1/GMB 3, PS 1/GMB 7, dan Gedeh 1/GMB 3 memiliki kompatibilitas dan pertumbuhan yang lebih baik dibandingkan dengan PS 1/GMB 9, Gedeh 1/GMB 7, dan Gedeh 1/GMB 9. Keenam kombinasi tersebut dapat digunakan untuk perbanyakan teh menggunakan setek sambung.

Kata kunci: Kompatibilitas, setek sambung, teh

ABSTRACT

Efforts to produce superior tea varieties require a long time, therefore a more practical method is needed, through cleft grafting. Planting material to be used should have superior qualities such as high yield, drought tolerance, resistant to pest and disease, and good inner quality. The research aimed to investigate the growth of grafted seedlings of several superior tea clones. The experiment was conducted at IRITC Gambung Experimental Garden with an altituded 1,250–1,450 m asl, from March 2016 until June 2017. Randomized complete block design with 9 treatments and 3 replications was used in this study. The 9 treatments were a combinations of scion and rootstock from several superior tea clones (GMB 3, GMB 7, GMB 9, TRI 2025, PS 1, and Gedeh 1) by grafting technique. Variables observed were plant height, number of leaves, number, and length of roots. The data were analyzed by anova and followed by duncan multiple range test (DMRT) at 5% level. The results showed that the grafting combinations of TRI 2025/GMB 3, TRI 2025/GMB 7, TRI 2025/GMB 9, PS 1/GMB 3, PS 1/GMB 7, and Gedeh 1/GMB 3 showed good compatibility and growth compared to PS 1/GMB 9, Gedeh 1/GMB 7, and Gedeh 1/GMB 9. Therefore, those six combinations can be used for tea propagation through grafting technique.

Keywords: Grafting, compatibility, tea

PENDAHULUAN

Tanaman teh (*Camellia sinensis* [L.] O. Kuntze) merupakan komoditas perkebunan yang berasal dari daerah subtropis dengan suhu optimum 13–25°C dan kelembapan (RH) 70%. Jika tanaman teh ditanam di daerah dengan suhu kurang dari 13°C atau lebih dari 30°C serta RH kurang dari 70% maka pertumbuhannya akan terhambat. Pertumbuhan tanaman teh memerlukan curah hujan harian yang cukup tinggi, yaitu tidak kurang dari 2.000–2.500 mm/tahun dan sinar matahari yang sangat dibutuhkan untuk pertumbuhan pucuk (Santoso *et al.*, 2006).

Penggunaan benih unggul merupakan salah satu teknologi yang sangat berperan penting dalam menjaga produktivitas tanaman teh. Idealnya, benih yang digunakan harus memiliki beberapa keunggulan, antara lain berpotensi hasil tinggi, toleran terhadap kekeringan, tahan terhadap serangan organisme pengganggu tumbuhan (OPT), dan memiliki *inner quality* yang baik (Sriyadi, 2012).

Tanaman teh merupakan tanaman tahunan, maka kegiatan perakitan klon teh unggul memerlukan waktu yang cukup lama (Khomaeni, Carsono, Rostini, Rahadi, & Sriyadi, 2015). Oleh sebab itu, perlu dicari cara yang praktis untuk mendapatkan benih unggul, salah satunya melalui perbanyakan secara vegetatif, yaitu dengan cara setek sambung. Setek sambung biasa dilakukan untuk menyatukan dua karakter unggul yang berbeda sehingga tanaman memiliki gabungan sifat unggul yang diinginkan. Selain itu, menurut Bordoloi *et al.* (2011), penyambungan juga dilakukan sebagai upaya untuk mengantisipasi adanya cekaman lingkungan akibat ketidaksesuaian iklim. Akan tetapi, seberapa besar penyambungan dilakukan untuk meningkatkan produksi melalui perubahan yang proporsional secara fisiologis maupun morfologis antara batang atas dengan batang bawah (Bore, 2008).

Penelitian mengenai perbanyakan tanaman teh dengan setek sambung telah banyak dilakukan. Perlakuan setek sambung menggunakan batang bawah MFS 87 dan batang atas PC I dan SFS 204 dapat meningkatkan produktivitas di daerah Malawi, India (Kayange, Scarborough, & Nyirenda, 1981). Di Kenya, telah dilaporkan bahwa kombinasi dua klon yang tepat pada percobaan setek sambung dapat meningkatkan produksi lebih tinggi dibandingkan setek biasa (Tuwei, Kaptich, Langat, Chomboi, & Corley, 2008). Pada penelitian lainnya, Tuwei, Kaptich, Langat, Smith, & Corley (2008) melaporkan bahwa perlakuan setek sambung dengan penggunaan batang bawah yang tepat dapat meningkatkan toleransi tanaman terhadap kekeringan. Di India, *United Planters Association of South*

India (UPASI) telah melakukan perbanyakan tanaman teh dengan cara setek sambung untuk menghasilkan benih tahan kekeringan, di antaranya penyambungan antara UPASI-3/UPASI-2, UPASI-3/UPASI-6, dan UPASI-8/UPASI-9 (Saravanan, 2014).

Setek sambung pertama kali dilakukan di Indonesia pada tahun 2000, dan saat ini perlu untuk dikembangkan kembali sebagai alternatif dalam menghasilkan benih unggul. Percobaan setek sambung di pembibitan untuk memperoleh benih tahan kekeringan telah dilakukan oleh Dalimoenthe & Rachmiati (2008). Mereka menggunakan beberapa kombinasi klon seri GMB, TRI 2025, PS 1 sebagai batang bawah yang tahan terhadap kekeringan, sedangkan untuk batang atas digunakan klon yang memiliki potensi hasil tinggi.

Berdasarkan hasil komunikasi pribadi dengan Khomaeni (2016) diperoleh informasi beberapa klon teh yang dapat digunakan sebagai bahan perbanyakan setek sambung. Klon-klon yang tahan kekeringan seperti TRI 2025, PS 1, dan Gedeh 1 dapat digunakan sebagai batang bawah. Selanjutnya Sriyadi (2015) mengemukakan bahwa sebagai tetua dalam menghasilkan klon baru dengan potensi hasil dan *inner quality* yang baik dapat digunakan klon GMB 3, GMB 7, dan GMB 9. Potensi produksi dan kadar katekin klon GMB 3, GMB 7, dan GMB 9 masing-masing sebesar 4.247 kg/ha/tahun dan 14,6% bk, 5.800 kg/ha/tahun dan 15,9% bk, serta 4.700 kg/ha/tahun dan 17,0% bk. Ketiga klon tersebut juga memiliki keunggulan lainnya, yaitu relatif tahan terhadap serangan penyakit cacar daun (*Exobasidium vexans*), sedangkan kelemahannya adalah relatif tidak tahan terhadap kondisi kekeringan.

Penelitian bertujuan mengetahui pertumbuhan benih teh hasil setek sambung dari beberapa klon unggul yang telah direkomendasikan.

BAHAN DAN METODE

Tempat, Waktu, dan Bahan Percobaan

Penelitian dilakukan di Kebun Percobaan (KP) Pusat Penelitian Teh dan Kina (PPTK), Gambung, Jawa Barat pada ketinggian 1.250–1.450 m di atas permukaan laut (dpl), koordinat 107° 29' 32"–107° 31' 11" BT dan 07° 07' 18"–07° 09' 11" LS, jenis tanah andisol, dan tipe iklim B menurut klasifikasi Schmidt dan Fergusson. Penelitian dilakukan dari bulan Maret 2016 sampai Juni 2017. Rata-rata suhu lingkungan selama percobaan adalah 19,8°C dengan total curah hujan (CH) 2.481 mm (Sumber: Rekapitulasi *Automatic Weather Station* Gambung Tahun 2016–2017). Benih yang digunakan adalah klon unggul GMB 3, GMB 7, dan GMB 9 yang memiliki karakter potensi produksi dan

kadar katekin tinggi, serta klon lokal TRI 2025, PS 1, dan Gedeh 1 yang relatif tahan kekeringan.

Rancangan Percobaan dan Analisis Data

Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan acak kelompok (RAK) dengan 9 perlakuan dan 3 ulangan. Satu unit percobaan terdiri dari 26 polybag. Perlakuan yang diuji merupakan kombinasi batang bawah dan batang atas beberapa klon teh (Tabel 1).

Tabel 1. Kombinasi batang bawah dengan batang atas beberapa klon teh untuk perlakuan setek sambung

Table 1. The rootstock and scion combinations as treatments

Batang bawah	Batang atas
TRI 2025	GMB 3
TRI 2025	GMB 7
TRI 2025	GMB 9
PS 1	GMB 3
PS 1	GMB 7
PS 1	GMB 9
Gedeh 1	GMB 3
Gedeh 1	GMB 7
Gedeh 1	GMB 9

Setek batang atas maupun batang bawah diambil dari setekres di kebun induk masing-masing (Gambar 1 dan 2). Setekres yang dipilih adalah setekres yang telah cukup matang (tidak terlalu tua dan tidak terlalu muda), tumbuh tegak lurus, sehat, berdaun mulus (tidak terdapat serangan hama/penyakit), dan berwarna hijau tua mengkilat. Adapun cara mendapatkan setek pada setekres adalah sebagai berikut:

- 1) Membuang bagian atas setekres yang masih muda dan bagian bawah yang sudah terlalu tua.
- 2) Bahan setek diambil dari tunas ketiak pada 1 ruas yang memiliki 1 helai daun kemudian dipotong \pm 5 cm.
- 3) Setek dipotong dengan kemiringan batang 45° menggunakan pisau yang tajam.



Gambar 1. Setekres
Figure 1. Rootstock



Gambar 2. Setek
Figure 2. Cutting

- 4) Selanjutnya setek disambung menggunakan metode penyambungan Kangaye (1990). Setek batang atas pada bagian bawahnya dibuat runcing membentuk "V". Sedangkan setek batang bawah pada bagian atas

batang di belah membentuk "V". Setek batang atas kemudian disambungkan dengan setek batang bawah pada bagian yang telah dibentuk "V".

- 5) Sambungan diikat dengan plastik sehingga luka sambungan tertutup.

Pengamatan dilakukan terhadap tinggi benih, jumlah daun, dan pertumbuhan akar sebagai berikut:

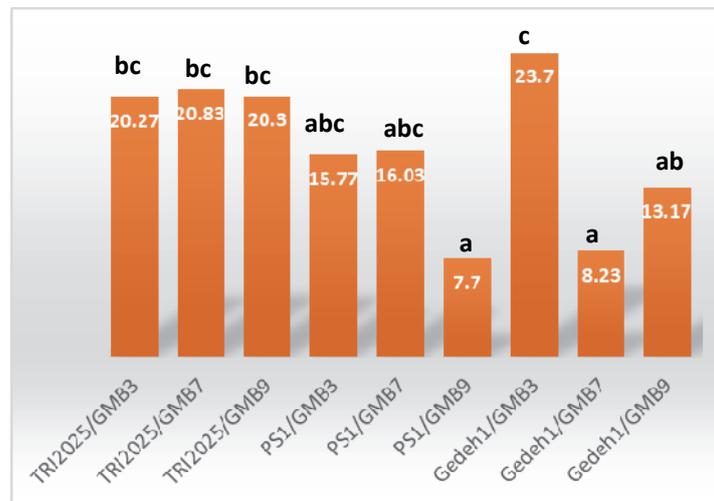
- 1) Tinggi benih
Tinggi benih diukur mulai dari luka penyambungan sampai pucuk tertinggi. Pengukuran tinggi benih diambil dari tanaman sampel, masing-masing 5 polybag dari setiap plot, saat benih berumur 14 bulan setelah tanam (BST).
- 2) Jumlah daun
Jumlah daun dihitung dari tanaman sampel (5 polybag) dari masing-masing plot. Perhitungan jumlah daun dilakukan saat benih berumur 14 BST.
- 3) Panjang akar
Panjang akar diukur dari pangkal batang hingga ujung akar terpanjang dengan cara destruksi. Pengamatan dilakukan dari tanaman sample (masing-masing 3 polybag) per plot. Pengamatan dilakukan pada saat benih berumur 8 BST.
- 4) Jumlah akar
Jumlah akar dihitung dari 3 tanaman sampel per plot. Penghitungan jumlah akar dilakukan secara destruksi pada umur 8 BST.

Data yang terkumpul kemudian dianalisis dengan menggunakan analisis ragam (anova). Apabila hasilnya berbeda nyata, dilanjutkan dengan uji Duncan pada taraf 5% untuk membandingkan nilai rata-rata perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tinggi Benih

Tinggi benih merupakan hasil dari proses pertumbuhan dan perkembangan tanaman yang didukung oleh energi yang dihasilkan dari proses asimilasi (Paramita, Indradewa, & Waluyo, 2014). Berdasarkan hasil analisis, diketahui adanya perbedaan yang nyata antar perlakuan kombinasi setek sambung untuk variabel tinggi benih (Gambar 3). Tinggi benih terbaik terlihat pada kombinasi setek sambung Gedeh 1/GMB 3, meskipun tidak berbeda nyata dibandingkan dengan kombinasi lainnya yang menggunakan batang bawah TRI 2025 dan PS 1, kecuali kombinasi PS 1/GMB 9. Namun demikian, kombinasi batang bawah Gedeh 1 dengan batang atas klon GMB 7 dan GMB 9 menghasilkan tinggi benih yang nyata lebih pendek.



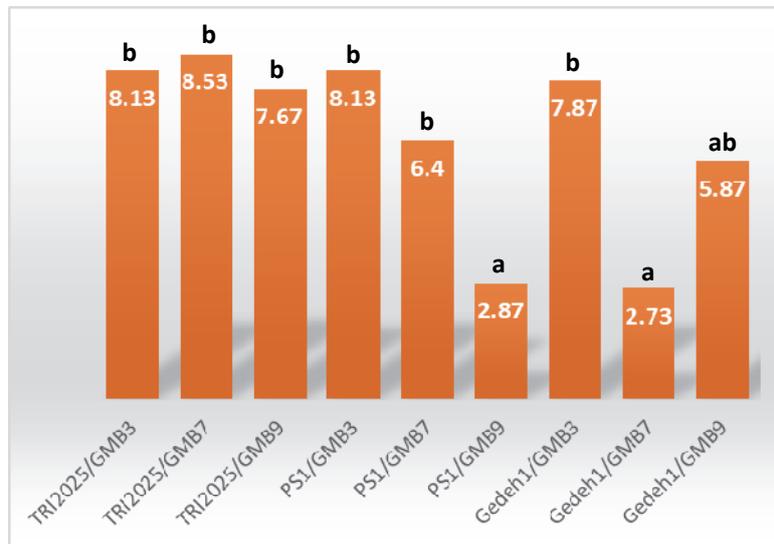
Gambar 3. Rata-rata tinggi benih setek sambung teh pada umur 14 bulan setelah tanam (BST)
Figure 3. Average of plant height at 14 months after planting (MAP)

Apabila ditinjau dari tinggi benih, klon GMB 7 dan GMB 9 sebagai batang atas menunjukkan ketidakcocokan jika disambung dengan batang bawah klon Gedeh 1. Tinggi masing-masing adalah 8,23 cm dan 13,17 cm pada 14 BST. Hal tersebut juga terjadi jika klon GMB 9 sebagai batang atas disambung dengan batang bawah klon PS 1, tinggi tanaman hanya mencapai 7,7 cm (Gambar 3). Ketidakcocokan antara klon GMB 7 dan GMB 9 sebagai batang atas dan klon Gedeh 1 sebagai batang bawah disebabkan oleh perbedaan faktor genetik. Demikian juga dengan klon GMB 9 sebagai batang atas dan klon PS 1 sebagai batang bawah. Selain faktor genetik, faktor lain yang dapat memengaruhi kompatibilitas antara batang atas dengan batang bawah pada teknik perbanyak tanaman teh secara sambung adalah kondisi vigoritas batang atas dan batang bawah yang digunakan (Barua & Saikia, 1973; Harvey, 1989).

Jumlah Daun

Hasil analisis terhadap pertumbuhan jumlah daun menunjukkan perbedaan yang nyata antar

kombinasi perlakuan (Gambar 4). Pertumbuhan daun terbanyak ditunjukkan pada kombinasi klon TRI 2025/GMB 3, TRI 2025/GMB 7, TRI 2025/GMB 9, PS 1/GMB 3, PS 1/GMB 7, Gedeh 1/GMB 3, dan Gedeh 1/GMB9. Kombinasi klon Gedeh 1/GMB 9 memiliki jumlah daun yang tidak berbeda nyata dengan kombinasi lainnya, baik kombinasi dengan jumlah daun terbanyak maupun yang terendah. Sementara itu, kombinasi klon PS 1/GMB 9 dan Gedeh 1/GMB 7 menunjukkan pertumbuhan jumlah daun yang paling sedikit. Sedikitnya jumlah daun dapat menyebabkan berkurangnya proses fotosintesis sehingga fotosintat yang dihasilkan sebagai sumber energi untuk pertumbuhan tanaman juga akan terbatas. Dampak dari terbatasnya energi untuk pertumbuhan ini terlihat juga pada data pertumbuhan tinggi benih (Gambar 3), dimana kedua kombinasi tersebut (PS 1/GMB 9 dan Gedeh 1/GMB 7) memperlihatkan pertumbuhan tinggi yang relatif rendah.



Gambar 4. Rata-rata jumlah daun setek sambung teh pada umur 14 bulan setelah tanam (BST)
Figure 4. Average of number of leaves at 14 months after planting (MAP)

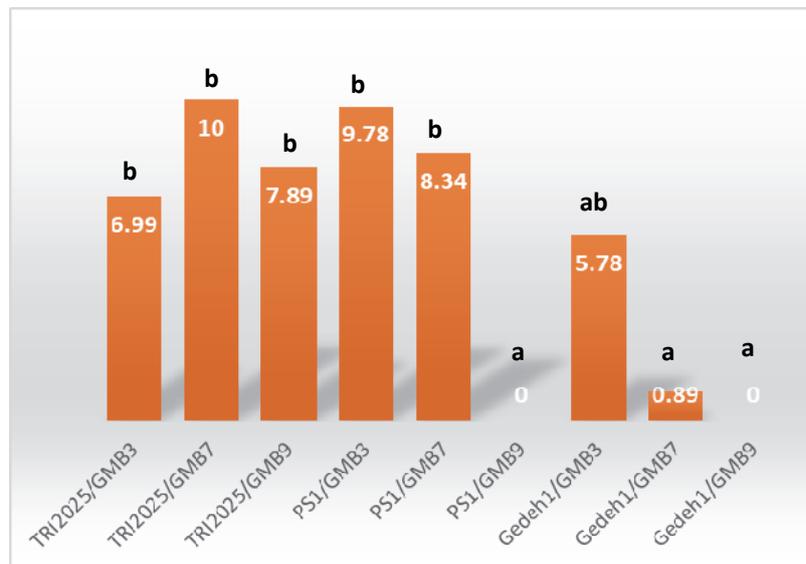
Jumlah dan Panjang Akar

Hasil analisis terhadap pertumbuhan akar menunjukkan adanya perbedaan nyata antar kombinasi klon yang diuji (Gambar 5 dan 6). Jumlah dan panjang akar pada kombinasi klon PS 1/GMB 9, Gedeh 1/GMB 7, dan Gedeh 1/GMB 9 relatif sedikit, bahkan kombinasi PS 1/GMB 9 dan Gedeh 1/GMB 9 tidak memperlihatkan adanya pertumbuhan akar. Hal ini mengindikasikan ketidakcocokan antara batang atas dan batang bawah yang digunakan. Pertumbuhan tinggi benih dan jumlah daun pada kedua kombinasi tersebut (PS 1/GMB 9 dan Gedeh 1/GMB 9) seperti yang ditampilkan pada Gambar 3 dan 4, kemungkinan besar ditunjang oleh fotosintat sebagai sumber energi yang masih tersimpan pada organ tanaman di luar akar, yaitu pada setek batang atas maupun batang bawah. Fotosintat yang jumlah terbatas pada organ tanaman di luar akar dapat mengakibatkan pertumbuhan tinggi dan jumlah daun relatif terhambat dibandingkan dengan kombinasi lainnya (Gambar 3 dan 4). Menurut Hajra (2001), sampai benih mengeluarkan akar, setek hanya mampu menyerap air tanah dalam jumlah yang sedikit dan pertumbuhan benih hanya ditunjang oleh fotosintat hasil fotosintesis daun yang terdapat pada setek tersebut.

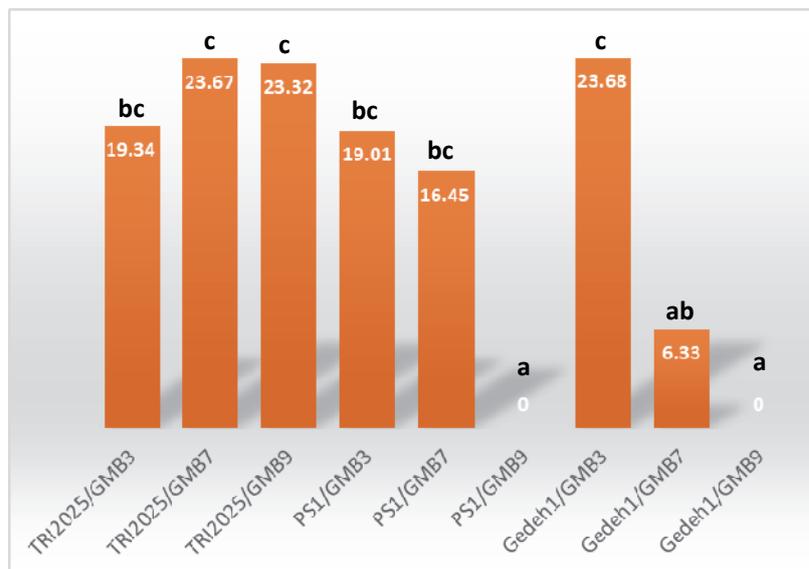
Dugaan lainnya yang mungkin terjadi kenapa terhambatnya pertumbuhan tinggi dan jumlah daun pada kombinasi PS 1/GMB 9 dan Gedeh 1/GMB 9 disebabkan oleh terhentinya pertumbuhan benih yang hanya sampai pada pembentukan kalus. Pertumbuhan benih setek diawali dengan pertumbuhan primordia akar

yang didahului oleh pembentukan kalus. Kalus merupakan massa padat berbentuk rudimenter atau bentuknya tidak beraturan hasil akumulasi sekresi sel-sel muda dalam jaringan kambium, korteks, dan empulur. Adanya kalus pada setek belum menjamin kemudahan pembentukan primordia akar. Kalus lebih berfungsi sebagai penutup luka pada bekas potongan guna mencegah kontaminasi mikroba penyebab setek menjadi busuk (Hartmann, Kester, & Davies, 1990). Oleh karena itu, pertumbuhan pada kedua kombinasi klon tersebut (PS 1/GMB 9 dan Gedeh 1/GMB 9) tidak akan berjalan dengan baik karena tidak terdapat akar tanaman. Akar merupakan salah satu komponen penting pada tanaman yang tugasnya berfungsi untuk menyerap air dan unsur hara yang diperlukan oleh tanaman bagi pertumbuhan.

Secara umum ditinjau dari pertumbuhan akar, tinggi benih, dan jumlah daun, ternyata klon TRI 2025 relatif cocok digunakan sebagai batang bawah bila disetek sambung dengan batang atas dari klon GMB 3, GMB 7, dan GMB 9. Klon PS1 hanya cocok sebagai batang bawah yang disambung dengan batang atas klon GMB 3 dan GMB 7, dan klon Gedeh 1 hanya cocok sebagai batang bawah yang disambung dengan batang atas klon GMB 3. Oleh karena itu, kombinasi dari klon-klon tersebut memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai benih unggul tanaman teh melalui perbanyakan setek sambung.



Gambar 5. Rata-rata jumlah akar setek sambung teh pada umur 8 bulan setelah tanam (BST)
Figure 5. Average of number of roots at 8 months after planting (MAP)



Gambar 6. Rata-rata panjang akar setek sambung teh pada umur 8 bulan setelah tanam (BST)
Figure 6. Average of root length at 8 months after planting (MAP)

KESIMPULAN

Kombinasi setek sambung klon TRI 2025/GMB 3, TRI 2025/GMB 7, TRI 2025/GMB 9, PS 1/GMB 3, PS 1/GMB 7, dan Gedeh 1/GMB 3 memiliki potensi yang baik untuk dikembangkan karena memiliki kompatibilitas yang cukup baik. Kombinasi dari klon-klon tersebut memperlihatkan pertumbuhan

akar, tinggi benih, dan jumlah daun yang relatif lebih baik. Sementara itu, kombinasi PS 1/GMB 9, Gedeh 1/GMB 7, dan Gedeh 1/GMB 9 memperlihatkan pertumbuhan yang relatif sangat lambat, sehingga mengindikasikan adanya ketidakcocokan (inkompatibilitas) antara batang atas dengan batang bawah.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Bapak Kusnawan dan Bapak Hermawan sebagai teknisi yang telah membantu berlangsungnya kegiatan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Barua, D.N., & Saikia, L.R. (1973). Stock-scion compatibility in tea (*Camellia sinensis* L.). *Journal of Horticultural Science* 48(4), 339-346. <https://doi.org/10.1080/00221589.1973.11514536>
- Bordoloi, R.K., Borthakur, D., Dutta, R.K., Neog, N.J., Saikia, H. Thakur, D., & Barman, T.S. (2011). Applicability of cleft grafting in breeding program of tea [*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze]. *Two and a Bud* 58, 87-92.
- Bore, J.K. (2008). *Physiological responses of grafted tea (Camellia sinensis L.) to water stress*. Dissertation. Horticulture in the Jomo Kenyatta University of Agriculture and Technology.
- Dalimoenthe, S., & Rachmiati, Y. (2008). Pengelolaan perdu dan tindakan yang tepat untuk meminimalisir resiko akibat kekeringan. Laporan Penelitian APBN TA 2008. Bandung.
- Hajra, N.G. (2001). *Tea Cultivation Comprehensive Treatise*. First Edition. India: International Book Distributing Company. Page: 517.
- Harvey, F.J. (1989). Composite tea plants: A review. *Quarterly Newsletter - Tea Research Foundation of Central Africa* 94, 12-15.
- Hartmann, H.T., Kester, D.E., & Davies, F.T. (1990). *Plant Propagation: Principles and Practices*. 5th Ed. Prentice-Hall, International Inc., Englewood Cliffs. New Jersey.
- Kangaye, C.W. (1990). Cleft grafting on unrooted tea cuttings in the nursery. *Quarterly Newsletter - Tea Research Foundation of Central Africa*, 9-11. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19920311914>.
- Kayange, C.W., Scarborough, I.P., & Nyirenda, H.E. (1981). Rootstock influence on yield and quality of tea (*Camellia sinensis* L.). *Journal of Horticultural Science* 56(2), 117-20. <https://doi.org/10.1080/00221589.1981.11514975>.
- Khomaeni, H.S. (2016). "Klon teh untuk perbanyak setek sambung. *Personal Communication* (Maret 2016)."
- Khomaeni, H.S., Carsono, N., Rostini, N., Rahadi, V.P., & Sriyadi, B. (2015). Korelasi genotipik morfologi daun dengan kandungan katekin pada tanaman teh [*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze]. *Jurnal Penelitian Teh dan Kina* 18(1), 37-44.
- Mahfudloh, A. (2008). Keberhasilan dan pertumbuhan setek teh [*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze] klon GMB 4 dan GMB 7 pada beberapa macam media tanam. Institut Pertanian Bogor. <http://repository.ipb.ac.id/handle/123456789/57154>.
- Paramita, G., Indradewa, D., & Waluyo, S. (2014). Pertumbuhan bibit tujuh klon teh [*Camellia sinensis* (L.) Kuntze] PGL dengan pemberian bahan mengandung hormon tumbuh alami. *Vegetalika* 3(2), 1-12. <https://doi.org/10.22146/veg.5147>
- Richards, A.V. (1965). The breeding, selection and propagation of tea. In: *The Breeding, Selection and Propagation of Plantation Crops*, 154-60.
- Santoso, J., Suprihatini, R., Widayat, W., Sriyadi, B., Johan, M.E., Rayati, D.J., & Dharmadi, A. (2006). *Petunjuk Kultur Teknis Tanaman Teh*. Edisi Ketiga. Bandung: Pusat Penelitian Teh dan Kina.
- Saravanan, M. (2014). Planting material and propagation technique." Valparai-India: UPASI.
- Sriyadi, B. (2012). Seleksi klon teh Assamica unggul berpotensi hasil dan kadar katekin tinggi. *Jurnal Penelitian Teh dan Kina* 15, 1-10.
- Sriyadi, B. (2015). Penilaian hubungan genetik klon teh berdasarkan komponen senyawa kimia utama dan potensi hasil. *Jurnal Penelitian Teh dan Kina* 18(1), 1-10.
- Sriyadi, B., Astika, W., & Suprihatini, R. (2008). Anjuran teh unggul untuk peremajaan. Dalam: *Prosiding Pertemuan Teknis Teh Tahun 2006: Teknologi Replanting Menuju Perkebunan Teh Yang Berkelanjutan*, 56-62.

Tuwei, G., Kaptich, F.K.K., Langat, M.C., Smith, B.G., & Corley, R.H.V. (2008). Effects of grafting on tea 2. Drought tolerance. *Experimental Agriculture* 44(4), 537-546. <https://doi.org/10.1017/S0014479708006947>.

Tuwei, G., Kaptich, F., Langat, M., Chomboi, K., & Corley, R. (2008). Effects of grafting on tea 1. Growth, yield and quality. *Experimental Agriculture* 44(4), 521-535. <https://doi.org/10.1017/S0014479708006765>.

Jurnal
**TANAMAN INDUSTRI
DAN PENYEGAR**
Journal of Industrial and Beverage Crops
Volume 5, Nomor 3, November 2018

**SELEKSI MIKROB FILOPLAN DAN ENDOFIT SEBAGAI AGENS HAYATI
PENYAKIT GUGUR DAUN KARET (*Corynespora cassiicola*)**

**SELECTION OF PHYLLOPLANE AND ENDOPHYTE MICROBES AS BIOCONTROL
FOR RUBBER LEAF FALL DISEASE (*Corynespora cassiicola*)**

* Khaerati, Yulius Fery, dan Rusli

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

(Tanggal diterima: 4 Juli 2018, direvisi: 20 September 2018, disetujui terbit: 30 November 2018)

ABSTRAK

Penyakit gugur daun pada karet disebabkan oleh jamur *Corynespora cassiicola* dapat menurunkan produktivitas secara signifikan. Infeksi *C. cassiicola* menyebabkan daun gugur sepanjang tahun, keterlambatan matang sadap, penurunan produksi, dan kematian pada klon yang rentan. Tujuan penelitian adalah memperoleh mikroba filoplan dan endofit potensial yang dapat menekan *C. cassiicola* patogen penyakit gugur daun karet. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Terpadu Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar, Sukabumi, mulai bulan Januari hingga Desember 2016. Isolat yang digunakan merupakan mikroba filoplan dan endofit hasil eksplorasi dari daerah Jawa Barat dan Kalimantan Barat. Mikroba yang diperoleh diseleksi dengan metode oposisi langsung dengan *C. cassiicola*. Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) untuk menguji antagonisme jamur dan bakteri filoplan dan endofit terhadap *C. cassiicola*. Hasil identifikasi jamur *Corynespora* sp., konidia tunggal, berwarna cokelat muda, berbentuk seperti tongkat, pada bagian pangkal membengkak, dan bersepta 2–14. Hasil uji daya hambat diperoleh 42 isolat jamur dan 19 isolat bakteri yang berpotensi menghambat *C. cassiicola*. Enam isolat jamur diantaranya memiliki daya hambat $\geq 90\%$ yang terdiri atas dua isolat jamur filoplan (DTJF11 dan CPSR7) dan empat jamur endofit (CEBPM15, CEBPM23, CEBPM27, dan CEPR9), dengan mekanisme penghambatan lisis, mikoparasitisme, kompetisi dan antibiosis. Hasil identifikasi menunjukkan DTJF11 sebagai *Trichoderma asperellum*, CPSR7 sebagai *Talaromyces pinophilus*, dan CEBPM15 sebagai *Amanita tenuifolia*. Sedangkan isolat bakteri yang memiliki potensi sebagai agens hayati adalah isolat BP7, L3, BP3, BP4, BP5, dan BP6, yang memiliki daya hambat antara 28,54%–40,94%, dengan mekanisme antibiosis.

Kata kunci: Agens hayati, *Corynespora cassiicola*, filoplan, endofit, karet

ABSTRACT

Leaf fall disease in rubber caused by *Corynespora cassiicola* fungi significantly decreases rubber productivity. *C. cassiicola* causes leaves to fall all year round, a delay in the tapping of immature rubber plants, yield decrease of producing plants, and even death of susceptible clones. The study aimed to obtain phylloplane and endophytic microbes potentially to inhibit the disease, was conducted from January to December 2016. The study used randomized complete design to assess antagonistic fungi and phylloplane and endophytic bacterias toward *C. cassiicola* in isolates obtained through exploration in West Java and West Kalimantan. Pathogen isolation showed *Corynespora* sp with pale brown color, single conidia which slightly bended, shaped like a stick that is swollen at the base, with 2–14 septa. Inhibitory analysis found 42 fungi isolates and 19 bacteria isolates potentially inhibiting *C. cassiicola*. Six fungi isolates have an inhibitory ability of $\geq 90\%$, consisting of two phylloplane fungi isolates (DTJF11 and CPSR7) and four endophytic fungi (CEBPM15, CEBPM23, CEBPM27, and CEPR9) with lysis, mycoparasitism, competition, and antibiosis inhibitory mechanism. The identification showed fungi isolate of DTJF11 is classified as *Trichoderma asperellum*, CPSR7 as *Talaromyces pinophilus*, and CEBPM15 as *Amanita tenuifolia*. Potential bacterial isolates as biological agents are BP7, L3, BP3, BP4, BP5 and BP6 isolates, which have inhibitory power of 28.54%–40.94%, with antibiosis inhibition mechanism.

Keywords: Biological agents, *Corynespora cassiicola*, endophytic, phylloplane, rubber

PENDAHULUAN

Penyakit gugur daun yang disebabkan jamur *Corynespora cassiicola* merupakan penyakit penting yang secara signifikan menurunkan produktivitas tanaman karet. *C. cassiicola* menyebabkan daun gugur terus menerus sepanjang tahun sehingga tanaman menjadi gundul. Hal ini dapat menyebabkan keterlambatan matang sadap pada tanaman karet belum menghasilkan, penurunan hasil pada karet yang sudah menghasilkan, dan bahkan tanaman mati pada klon yang rentan (Jinji *et al.*, 2007). Serangan penyakit tersebut telah mengakibatkan kerugian pada beberapa negara penghasil karet alam, diantaranya Malaysia, Thailand, Sri Lanka, India, Afrika, dan Indonesia (Daslin, 2013). Pada tahun 1985 terjadi epidemi di Sri Lanka, menyerang klon RRIC 103 yang mengakibatkan kurang lebih 4.500 ha tanaman karet rusak berat (Fernando, Jayasinghe, Wijesundera, & Siriwardena, 2011).

Penyakit gugur daun *C. cassiicola* menyerang beberapa klon anjuran di Indonesia pada tahun 1980-an (Situmorang & Budiman, 1984 dalam Situmorang, 2002). Pada tahun 1999–2000 terjadi serangan pada klon RRIM 600 di daerah Sumatera Utara, Riau, Jambi, Bengkulu, dan Lampung, GT1 di Sumatera Utara, PR 261 di Riau, serta BPM 24 di sentra perkebunan karet (Situmorang, 2002). Saat ini, serangan gugur daun telah menyerang di 7 provinsi, yaitu: Aceh, Jambi, Lampung, Kalimantan Barat, Kalimantan Tengah, dan Kalimantan Selatan. Serangan tertinggi di daerah Kalimantan Barat dengan luas serangan 15.476 ha, diikuti daerah Lampung 3.832 ha, dan Jawa Barat 1.099,75 ha (Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian, 2015).

Penyakit gugur daun *C. cassiicola* menyerang tanaman karet pada semua tingkatan umur, baik pada tanaman di pembibitan maupun tanaman menghasilkan. Pengendalian yang banyak dilakukan adalah menggunakan fungisida sintetik. Penggunaan fungisida sintetik tidak bersifat ramah lingkungan. Salah satu teknik pengendalian yang ramah lingkungan adalah dengan memanfaatkan agens hayati mikroba filoplan dan endofit yang bersifat antagonistik.

Mikroba filoplan merupakan mikroorganisme yang tumbuh/hidup pada permukaan daun tanaman. Permukaan daun merupakan habitat yang cocok untuk pertumbuhan mikroorganisme antagonis sehingga dapat menghambat perkembangan patogen dengan cara mengeluarkan antibiotik melalui proses sekresi, serta menjadi pesaing dalam memperoleh nutrisi (Thakur & Harsh, 2014). Jamur filoplan *Trichocladium* dan *Aspergillus niger* efektif mengendalikan *C. cassiicola* dalam skala laboratorium (Evueh, Okhuoya, Osemwegie, Attitalla, & Ogebor, 2011) dan bakteri filoplan *Ochrobactrum*

anthropi untuk penyakit cacar daun teh (Sowndhararajan, Marimuthu, & Manian, 2013).

Mikroba endofit merupakan mikroorganisme yang hidup di dalam jaringan tanaman. Hubungan antara endofit dan tanaman inangnya adalah hubungan saling menguntungkan (Yuan *et al.*, 2017). Vurukonda, Giovanardi, & Stefani (2018) menyatakan bahwa endofit dapat berperan meningkatkan pertumbuhan dan sebagai agens pengendali hama dan penyakit. Mikroba endofit menekan penyakit dengan cara menginduksi tanaman untuk memproduksi senyawa metabolit. Senyawa metabolit tersebut berperan untuk mengaktifkan ketahanan tanaman melalui peningkatan aktivitas peroksidase dan polifenol oksidase (Marwan, 2011), asam salisilat (Tondok, 2012), dan antibiotik (Harni, Amaria, Khaerati, & Taufiq, 2016). Aplikasi mikroba endofit dalam menekan perkembangan penyakit telah banyak dilaporkan oleh para peneliti diantaranya jamur endofit *Xylariaceae* dan *C. gambosa* dalam menekan penyakit busuk buah pada kakao (Tondok, 2012), jamur endofit CMS8, CMI16, bakteri endofit BMS21, dan BLI11 dalam menekan serangan patogen penyakit kuning pada lada (Ropalia, 2015). Penelitian bertujuan memperoleh mikroba filoplan dan endofit potensial yang dapat menekan *C. cassiicola* patogen penyakit gugur daun karet.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Terpadu Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar (Balittri), Sukabumi Jawa Barat, mulai bulan Januari sampai Desember 2016. Sampel daun karet diperoleh dari hasil eksplorasi di daerah Kebun Percobaan (KP) Pakuwon Parungkuda, Jawa Barat dan Kabupaten Landak, Kalimantan Barat.

Isolasi Jamur dan Bakteri Filoplan dan Endofit *Isolasi jamur dan bakteri filoplan*

Jamur dan bakteri filoplan diisolasi dari daun tanaman karet yang sehat, dengan menggunakan metode Batool, Rehman, & Hasnain (2016) dan Sowndhararajan *et al.* (2013). Sampel daun karet dicuci bersih, kemudian 10 gr sampel daun dimasukkan ke dalam 100 ml air steril, digoyang menggunakan *rotary shaker* (80 rpm; 30 menit), selanjutnya dibuat pengenceran berseri sampai pengenceran 10^{-3} . Pada isolasi jamur, suspensi dengan konsentrasi 10^{-1} dan 10^{-2} masing-masing diambil sebanyak 100 μ l, lalu ditumbuhkan pada media *water agar* (WA) dan *potato dextrose agar* (PDA), sedangkan untuk isolasi bakteri suspensi dengan konsentrasi 10^{-2} dan 10^{-3} ditumbuhkan pada media *trypticase soy agar* (TSA). Inkubasi dilakukan selama 24–36 jam. Jamur dan bakteri

yang ditemukan kemudian dimurnikan menggunakan medium PDA dan TSA.

Isolasi jamur dan bakteri endofit

Jamur endofit diisolasi dari daun karet yang sehat (bebas serangan patogen) menggunakan metode Kalyanasundaram, Nagamuthu, & Muthukumaraswamy (2015) yang telah dimodifikasi. Sampel daun dicuci bersih dengan air mengalir dan dipotong kecil 1–2 cm. Kemudian permukaan daun disterilkan dengan alkohol 70% selama 1 menit, NaOCl (natrium hipoklorit) 2% selama 2 menit, dan dibilas dengan akuades steril 3 kali, kemudian daun dikeringanginkan di atas tisu steril. Bagian sisi daun yang mengalami perubahan warna menjadi coklat dipotong dalam kondisi aseptik. Potongan daun ditumbuhkan pada media PDA dan WA sebanyak 5–6 potongan dan diinkubasi pada suhu ruang. Sebelum potongan daun ditumbuhkan perlu terlebih dahulu dilakukan deteksi sterilisasi permukaan, caranya potongan daun dioleskan pada petri berisi media PDA. Keberhasilan sterilisasi permukaan daun ditandai dengan media tidak ditumbuhi jamur atau bakteri kontaminan.

Isolasi bakteri endofit sama dengan proses isolasi jamur endofit yaitu menggunakan metode Hye, Anand, & Chun (2014) yang dimodifikasi. Daun ditimbang sebanyak 5 g dan digerus sampai hancur menggunakan mortar steril. Ekstrak daun ditambah 9 ml akuades steril kemudian dilakukan pengenceran secara berseri sampai 10^{-3} . Sebanyak 100 μ L suspensi dari pengenceran 10^{-3} ditumbuhkan pada media 20% TSA dengan metode sebar dan diinkubasi pada suhu ruang selama 48 jam. Koloni tunggal pada media TSA dimurnikan dan diseleksi secara morfologi.

Isolasi Jamur Patogen *Corynespora cassiicola*

C. cassiicola diisolasi dari daun karet yang terserang penyakit gugur daun (bercak hitam pada tulang daun, kemudian berkembang seperti tulang ikan, daun berubah warna menjadi kuning atau coklat kemerahan) yang diperoleh dari Pakuwon, Jawa Barat. Isolasi dilakukan berdasarkan metode Jayasuriya & Thennakoon (2007) yang dimodifikasi. Daun bergejala terserang *C. cassiicola* dibersihkan dengan air mengalir, disterilisasi permukaannya menggunakan ethanol 70% selama 1 menit, larutan hipoklorit 1% selama 2 menit, kemudian dibilas dengan air steril sebanyak 3 kali, selanjutnya dikering anginkan. Bagian yang menunjukkan gejala khas (di perbatasan sehat dan sakit) dipotong dan diletakkan pada media WA dan PDA 20%. Patogen *C. cassiicola* yang tumbuh di media selanjutnya dimurnikan pada media PDA. Jamur yang sudah murni diidentifikasi dengan melihat bentuk konidia menggunakan mikroskop, hasil yang didapat dicocokkan dengan buku identifikasi Barnett & Hunter (2006) dan Seifert *et al.* (2011).

Selanjutnya dilakukan uji *Postulat Koch* pada daun karet muda yang berwarna hijau.

Uji Antagonisme Jamur Filoplan dan Endofit terhadap *Corynespora cassiicola*

Uji antagonis jamur filoplan dan endofit hasil isolasi dari daun karet terhadap *C. cassiicola* dilakukan secara makroskopis menggunakan metode *dual culture* pada media PDA (Campanile *et al.*, 2007 dalam Rabha, Naglot, Sharma, Gogoi, & Veer, 2014). Sebanyak 294 isolat jamur yang terdiri dari 184 isolat filoplan dan 110 isolat endofit diuji terhadap *C. cassiicola*. Jamur *C. cassiicola* dan jamur filoplan atau endofit berumur 7 hari dipotong dengan pelubang berdiameter 9 mm, selanjutnya ditumbuhkan bersama pada media PDA dengan jarak 3 cm dari pinggir cawan petri yang berdiameter 9 cm. Sebagai kontrol, isolat *C. cassiicola* ditumbuhkan pada cawan petri tanpa agens hayati.

Pengamatan dilakukan terhadap daya hambat dan mekanisme kerja jamur filoplan dan endofit terhadap miselium *C. cassiicola*. Daya hambat diukur berdasarkan persentase penghambatan (P), menurut rumus (Ghildiyal & Pandey, 2008):

$$P = \frac{(r1 - r2)}{r1} \times 100\%$$

Keterangan:

P = persentase penghambatan jamur terhadap *C. cassiicola*

r1 = jari-jari koloni jamur patogen *C. cassiicola* yang tumbuh berlawanan arah terhadap jamur antagonis

r2 = jari-jari koloni jamur patogen yang tumbuh ke arah jamur antagonis

Mekanisme daya hambat diamati pada saat uji antagonis. Pengamatan terdiri dari antibiosis, lisis, mikoparasit, dan kompetisi yang dilakukan saat terjadi kontak miselium antar kedua koloni jamur filoplan atau endofit dan patogen *C. cassiicola*. Pengamatan dilakukan pada hari keempat sampai ketujuh setelah inokulasi. Pengamatan mikroskopis dilakukan dengan cara mengambil potongan hifa 1 cm x 1 cm di daerah kontak antar miselium jamur filoplan atau endofit dan patogen. Potongan media tersebut kemudian diletakkan pada kaca objek yang sudah disterilkan, lalu diamati di bawah mikroskop (Dwiastuti, Fajri, & Yunimar, 2015)

Uji Antagonisme Bakteri Filoplan dan Endofit terhadap *C. cassiicola*

Pengujian antagonis bakteri filoplan dan endofit terhadap *C. cassiicola* menggunakan metode *dual culture* (Wulandari, Zakiatulyaqin, & Supriyanto, 2012). Sebanyak 662 isolat bakteri diuji dengan cara

menggoreskan koloni bakteri berumur 48 jam pada bagian tengah cawan petri berisi media PDA, kemudian potongan *C. cassiicola* ditumbuhkan dengan jarak 2 cm dari tepi cawan petri. Sebagai kontrol, isolat *C. cassiicola* ditumbuhkan tanpa goresan bakteri endofit. Pengukuran jari-jari koloni *C. cassiicola* dilakukan setelah miselium *C. cassiicola* tumbuh mencapai tepi cawan petri. Penghitungan daya hambat bakteri filoplan dan endofit terhadap miselium *C. cassiicola* menggunakan rumus:

$$P = \frac{(r1 - r2)}{r1} \times 100\%$$

Keterangan:

- P = persentase penghambatan bakteri terhadap *C. cassiicola*
 r1 = jari-jari koloni *C. cassiicola* ke arah tepi cawan/petri
 r2 = jari-jari koloni *C. cassiicola* ke arah goresan bakteri endofit

Identifikasi Isolat Agens Hayati

Isolat jamur filoplan dan endofit yang potensial hasil uji antagonis, yaitu DTJF11, CPSR7, CEBPM15, dan CEBPM23 diidentifikasi secara molekuler. Identifikasi dilakukan di Pusat Penelitian Biologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI). Identifikasi isolat jamur dilakukan berdasarkan analisis genetik secara parsial pada lokus *internal transcribed spacer* (ITS) *ribosomal DNA fungi*. Isolasi DNA diawali dengan menumbuhkan isolat jamur dalam media cair *potato dextrose broth* (PDB) dan diinkubasi selama 72 jam. Biomassa berupa miselia jamur selanjutnya dipanen untuk ekstraksi DNA. Ekstraksi DNA jamur dilakukan dengan menggunakan *reagen nucleoa PHYTOpure* (Amershan LIFE SCIENCE). Amplikasi PCR dan ITS menggunakan primer ITS 4:5'-TCC TCC GCT TAT TGA TAGC-3' dan primer ITS. Purifikasi *PCR product* dilakukan dengan *PEG precipitation method* (Hiraishi, Kamagata, & Nakamura, 1995) dan dilanjutkan dengan siklus sekuensing. Hasil siklus sekuensing dipurifikasi kembali dengan *ethanol purification method*. Analisis

pembacaan urutan basa nitrogen menggunakan *automated DNA sequencer* (ABI PRISM 3130 Genetic Analyzer) (Applied Biosystems). Data mentah hasil sekuensing selanjutnya dilakukan *trimming* dan *assembling* menggunakan program BioEdit. Data sekuens yang telah dilakukan *assembling* selanjutnya dilakukan BLAST dengan genom yang telah didaftarkan di DNA Data Bank of Japan (DDBJ) National Center For Biotechnology Information (NCBI) guna menentukan takson/spesies yang memiliki *homology/similarity* terbesar dan terdekat secara molekuler.

Analisis Data

Pengujian daya hambat dilakukan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL), dengan menguji jamur dan bakteri endofit terhadap *C. cassiicola* sebagai perlakuan. Persentase daya hambat jamur endofit dan filoplan terhadap *C. cassiicola* dianalisis dengan sidik ragam dan uji lanjut *Duncan* menggunakan program *software* SPSS versi 19. Sedangkan persentase daya hambat bakteri filoplan dan endofit terhadap *C. cassiicola* dianalisis dengan sidik ragam dan uji lanjut *LSD* dengan taraf kepercayaan 95% menggunakan program statistik 9.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Jamur dan Bakteri Filoplan dan Endofit

Hasil isolasi mikroba filoplan dan endofit dari daun karet menunjukkan adanya keragaman dari jamur dan bakteri yang ditemukan. Hasil isolasi diperoleh 184 isolat jamur dan 496 isolat bakteri filoplan, serta 110 isolat jamur dan 166 isolat bakteri endofit (Tabel 1). Hasil pengamatan menunjukkan bahwa jumlah jamur agens hayati yang ditemukan dari Jawa Barat baik filoplan maupun endofit lebih banyak dibandingkan yang berasal dari Kalimantan Barat. Sedangkan isolat bakteri hasil isolasi dari Kalimantan Barat lebih banyak dari pada yang berasal dari Jawa Barat. Hasil karakteristik jamur filoplan dan endofit yang diperoleh sangat beragam baik dari segi bentuk dan warna koloni serta kecepatan pertumbuhan koloninya.

Tabel 1. Isolat mikroba filoplan dan endofit yang berasal dari Jawa Barat dan Kalimantan Barat
 Table 1. Isolates of microbial phylloplanes and endophyte from West Java and West Kalimantan

Asal Sampel	Filoplan		Endofit	
	Jamur	Bakteri	Jamur	Bakteri
Jawa Barat	155	228	95	72
Kalimantan Barat	29	268	15	94
Jumlah	184	496	110	166

Isolasi Patogen *Corynespora cassiicola*

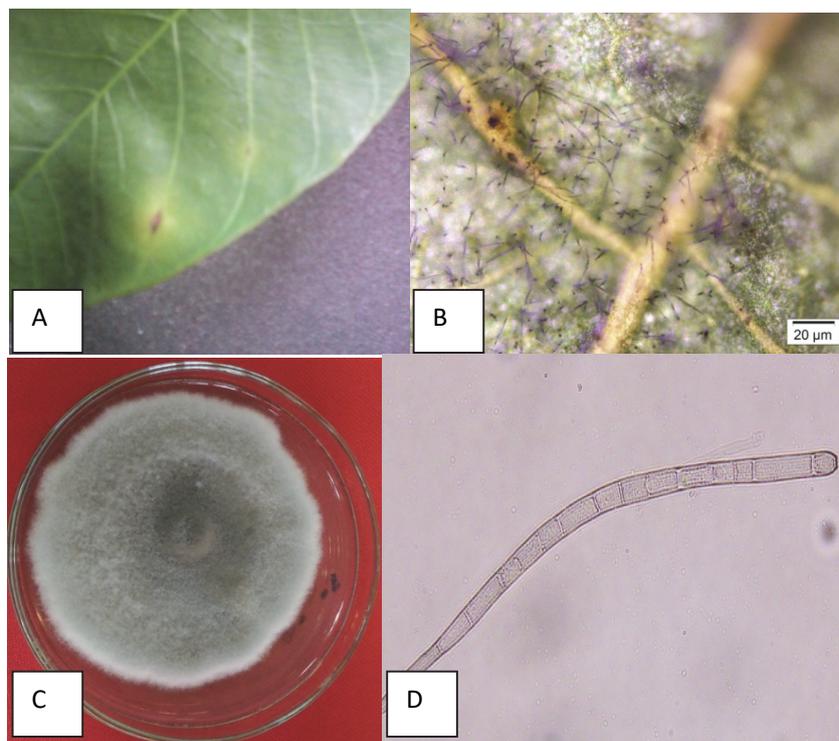
Hasil pengamatan terhadap gejala infeksi *C. cassiicola* pada daun karet ditemukan bercak warna hitam dikelilingi warna kuning. Bercak berkembang seiring bertambahnya umur daun. Pengamatan terhadap morfologi *C. cassiicola*, koloni berwarna abu-abu selanjutnya menjadi coklat sampai coklat kehitaman, terkadang tampak seperti berbulu atau beludru (Gambar 1). Perubahan warna koloni *C. cassiicola* ini sejalan dengan penelitian Ahmed, Alam, & Khair (2014).

Hasil uji *Postulat Koch* pada daun karet, gejala mulai terlihat 2–3 hari setelah inokulasi. Tampak miselium tumbuh dalam jaringan dan permukaan daun (Gambar 1). Pada miselium ditemukan konidiospora yang muncul di atas permukaan daun (Barnet & Hunter, 1998). Hasil identifikasi konidia *C. cassiicola*

memperlihatkan bentuk konidia tunggal, sedikit melengkung, berwarna coklat muda, berbentuk tongkat, membengkak pada bagian pangkalnya, bersepta 2–14 dengan ukuran $40\text{--}120\ \mu\text{m} \times 8\text{--}18\ \mu\text{m}$ (Gambar 1). Hasil yang diperoleh sejalan dengan penelitian Tangonan *et al.* (2009).

Uji Antagonisme Jamur Filoplan dan Endofit terhadap *Corynespora cassiicola*

Hasil pengujian *dual culture* atau daya hambat dari 294 isolat mikrob filoplan dan endofit terhadap *C. cassiicola* diperoleh isolat yang bersifat antagonis dengan kemampuan daya hambat 6,67%–93,67% dan diperoleh 42 isolat jamur yang mempunyai kemampuan daya hambat hingga 50% (Tabel 2).



Gambar 1. Gejala serangan penyakit gugur daun karet dan morfologi *C. cassiicola*: A = gejala serang *C. cassiicola* pada daun karet; B = infeksi *C. cassiicola* pada jaringan daun; C = koloni *C. cassiicola*. D = spora *C. cassiicola* perbesaran 1000x;

Figure 1. Symptoms of attack on rubber leaf and *C. cassiicola* morphology: A = symptomatic attack of *C. cassiicola* on rubber leaf; B = infection of *C. cassiicola* on leaf tissue; C = colonies of *C. cassiicola*; D = spores germinated at magnification 1000x.

Tabel 2. Daya hambat jamur filoplan dan endofit $\geq 50\%$ terhadap pertumbuhan koloni patogen *C. cassiicola*
Table 2. Inhibitory percentage of endophytic fungi and phylloplane $\geq 50\%$ on growth of pathogen colonies of *C. cassiicola*

No	Kode isolat	Jenis jamur	Asal	Daya hambat (%)	Mekanisme daya hambat
1	CEBPM6	Endofit	JawaBarat	50,00 a	Lisis
2	CEBPM21	Endofit	JawaBarat	53,33 a	Kompetisi
3	CEBPM23	Endofit	JawaBarat	93,33 c	Lisis
4	CEBPM25	Endofit	JawaBarat	80,00 cd	Lisis
5	CEBPM27	Endofit	JawaBarat	93,33 d	Lisis
6	CPBPM 15	Endofit	JawaBarat	51,67 a	Antibiosis
7	CEBPM16	Endofit	JawaBarat	50,00 a	Antibiosis
8	CEBPM17	Endofit	JawaBarat	56,67 ab	Antibiosis
9	CEBPM12	Endofit	JawaBarat	50,00 a	Antibiosis
10	CEBPM15	Endofit	JawaBarat	90,00 d	Lisis
11	CEBPM1	Endofit	JawaBarat	70,00 bc	Antibiosis
12	CEPR9	Endofit	JawaBarat	90,00 d	Mikoparasit
13	CEGT1	Endofit	JawaBarat	50,00 a	Kompetisi
14	CPBPM2	Filoplan	JawaBarat	57,14 ab	Antibiosis
15	CFBPM4	Filoplan	JawaBarat	58,33 ab	Lisis
16	CPBPM5	Filoplan	JawaBarat	50,00 a	Antibiosis
17	CPBPM6	Filoplan	JawaBarat	51,67 a	Kompetisi
18	CPBPM16	Filoplan	JawaBarat	65,00 abc	Antibiosis
19	CPBPM17	Filoplan	JawaBarat	60,00 ab	Lisis
20	CPBPM18	Filoplan	JawaBarat	56,67 ab	Antibiosis
21	CPBPM 15	Filoplan	JawaBarat	51,67 a	Lisis
22	CPSR7	Filoplan	JawaBarat	90,00 d	Antibiosis
23	CPGT 6	Filoplan	JawaBarat	60,00 ab	Antibiosis
24	CPGT2	Filoplan	JawaBarat	60,00 ab	Kompetisi
25	DTJE6	Endofit	Kalimantan Barat	53,33 a	Antibiosis
26	DTJE13	Endofit	Kalimantan Barat	71,67 bc	Kompetisi
27	DTJE14	Endofit	Kalimantan Barat	50,00 a	Antibiosis
28	DTJE1	Endofit	Kalimantan Barat	51,67 a	Antibiosis
29	DTJE5	Endofit	Kalimantan Barat	63,33 ab	Kompetisi
30	DTJE7	Endofit	Kalimantan Barat	51,67 a	Antibiosis
31	DTJE9	Endofit	Kalimantan Barat	56,67 ab	Kompetisi
32	DMJE20	Endofit	Kalimantan Barat	55,00 ab	Antibiosis
33	DMJE22	Endofit	Kalimantan Barat	51,67 a	Lisis
34	DMJE24	Endofit	Kalimantan Barat	51,67 a	Lisis
35	DMJE26	Endofit	Kalimantan Barat	58,33 ab	Kompetisi
36	DTJF1	Filoplan	Kalimantan Barat	50,00 a	Lisis
37	DTJF2	Filoplan	Kalimantan Barat	53,33 a	Antibiosis
38	DTJF3	Filoplan	Kalimantan Barat	50,00 a	Lisis
39	DTJF8	Filoplan	Kalimantan Barat	53,33 a	Antibiosis
40	DTJF11	Filoplan	Kalimantan Barat	93,67 d	Mikoparasit
41	DTJF12	Filoplan	Kalimantan Barat	53,33 a	Kompetisi
42	DMJF17	Filoplan	Kalimantan Barat	58,33 ab	Antibiosis

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

Angka yang dicetak tebal adalah isolat dengan daya hambat $\geq 90\%$

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

Numbers in bold type indicates isolates with inhibition $\geq 90\%$

Hasil uji daya hambat diperoleh 6 isolat jamur yang dapat menghambat pertumbuhan *C. cassiicola* $\geq 90\%$, yaitu DTJF11, CEBPM15, CEBPM23, CEBPM27, CPSR7, dan CEPR9. Keenam isolat tersebut terdiri dari dua isolat jamur filoplan (DTJF 11 dan CPSR7) dan empat jamur endofit (CEBPM15,

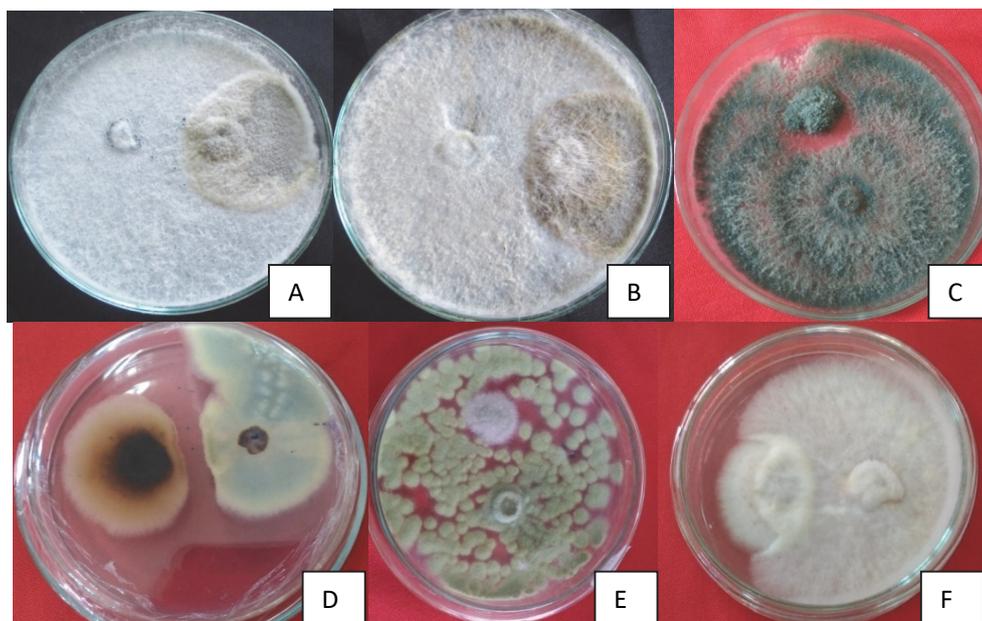
CEBPM23, CEBPM27, dan CEPR9). Isolat jamur yang paling tinggi daya hambatnya adalah isolat DTJF11, yaitu 93,67% dengan mekanisme mikoparasit (Tabel 2). Berdasarkan hasil identifikasi, isolat DTJF11 merupakan *Trichoderma asperellum*. Potensi *Trichoderma* sebagai agens hayati potensial sudah banyak dilaporkan. Jamur ini

merupakan jamur filoplan yang diisolasi dari daun karet hasil eksplorasi di wilayah Kalimantan Barat dan memiliki kemampuan sebagai mikoparasit. Kemampuan mikoparasit ditunjukkan dengan adanya kemampuan menutupi jamur patogen, dan pada bagian pertemuan kedua jamur tersebut tampak hifa jamur isolat DTJF11 yang melilit hifa jamur patogen. Menurut Omann & Zeilinger (2010), mekanisme mikoparasit *Trichoderma* diawali dengan mengenali inang, lalu terjadi perubahan morfologi dengan melingkari hifa inang, terbentuk struktur mirip appressorium, selanjutnya terjadi penetrasi, kemudian mematikan inang. Mekanisme mikoparasit dapat terjadi jika terdapat sinyal dari inang berupa lektin yang menginduksi perubahan morfologi hifa *Trichoderma* untuk melingkari hifa inang dan juga merangsang pembentukan appressorium. Dalam proses penetrasi dinding sel inang, *Trichoderma* menghasilkan enzim hidrolitik seperti *chitinases*, *glucanases*, dan protease.

Isolat CPSR7 koloninya cepat tumbuh menyebar ke segala arah petri sehingga mampu menekan pertumbuhan *C. cassicola* hingga 90% (Tabel 2). Berdasarkan hasil identifikasi molekuler, isolat ini merupakan jamur *Talaromyces pinophilus*. Mekanisme antagonisnya adalah antibiosis dan kompetisi nutrisi. Antibiosis terlihat dari zona bening pada media, yaitu pada pertemuan antara patogen dengan agens hayati. Selain itu, jamur ini mudah tersebar sehingga dalam waktu 3 hari sudah memenuhi petri, yang menyebabkan jamur patogen terhambat pertumbuhannya dan lama kelamaan tertutupi (Gambar 2). *Talaromyces pinophilus* sebelumnya bernama *Penicillium pinophilum* (Li *et al.*, 2017). Kemampuan jamur *Penicillium* dalam menghambat pertumbuhan jamur patogen sudah banyak dilaporkan. Menurut (Wafaa & Abdel-Latif, 2007), *Penicillium* sp. memiliki kemampuan dalam kompetisi dan pengeluaran beberapa senyawa alkaloid seperti agroklavine dan ergometrine yang memiliki sifat antifungi.

Tabel 3. Hasil identifikasi jamur filoplan dan endofit potensial
Table 3. Identification result of potential phylloplane and endophytic fungi

Kode isolat	Hasil identifikasi	Query coverage (%)	E value	Kemiripan(%)
DTJF 11	<i>Trichoderma asperellum</i>	100	0,0	99
CPSR 7	<i>Talaromyces pinophilus</i>	99	0,0	100
CEBPM 15	<i>Amanita tenuifolia</i>	100	0,0	99
CEPR 9	Belum terdeteksi	-	-	-
CEBPM 23	Belum terdeteksi	-	-	-
CEBPM 27	Belum terdeteksi	-	-	-



Gambar 2. Daya hambat isolat jamur filoplan dan endofit asal karet terhadap *C. cassicola*: A = isolat DTJF11; B = CEBPM23; C = CEBPM 27; D = CPSR7; E = CPSR7; F = CEBPM15.

Figure 2. Inhibitory growth of some phylloplane and endophytic fungal isolates from rubber to *C. cassicola*: A = DTJF11; B = CEBPM23; C = CEBPM27; D = CPSR7; E = CPSR7, F = CEBPM15 isolate.

Mekanisme penghambatan dari isolat jamur endofit CEBPM23, CEBPM27, dan CEBPM15 selain dapat tumbuh cepat, diduga terjadi lisis yang ditandai dengan adanya perubahan warna media pada area pertemuan antara miselium isolat jamur endofit dan patogen *C. cassiicola*. Jamur endofit mengeluarkan enzim lisis seperti kitinase, glukonase, protease, dan xilanase. Enzim-enzim ini akan mendegradasi senyawa-senyawa penyusun dinding sel patogen yang bekerja secara spesifik. Ada beberapa mekanisme antagonis jamur endofit yang telah dilaporkan, yaitu antibiosis, lisis, hiperparasit/mikoparasit, dan kompetisi (Bailey *et al.*, 2008).

Pengujian Antagonisme Bakteri Filoplan dan Endofit terhadap *Corynespora cassiicola*

Hasil isolasi bakteri filoplan dan endofit dari sampel daun karet yang berasal dari Jawa Barat dan Kalimantan Barat menunjukkan kemampuan daya hambat terhadap *C. cassiicola* antara 7,39%–40,95% (Table 4). Isolat bakteri dari Jawa Barat umumnya memiliki daya hambat yang lebih tinggi dibandingkan

yang berasal dari Kalimantan Barat. Karakteristik koloni isolat juga berbeda berdasarkan warna, tepi, dan bentuk permukaan koloni (Tabel 4). Lodewyckx *et al.* (2002) menyatakan bahwa isolasi mikroba dari tanaman yang berbeda habitat akan diperoleh berbagai bakteri. Bakteri filoplan yang diuji sebanyak 662 isolat, akan tetapi hanya 19 isolat yang menunjukkan daya hambat yang baik terhadap patogen *C. cassiicola*.

Bakteri endofit dapat berfungsi sebagai agens hayati dan meningkatkan pertumbuhan tanaman. Dalam hubungannya sebagai agens hayati, bakteri endofit mampu meningkatkan sistem pertahanan tanaman dengan adanya kemampuan menginduksi ketahanan tanaman berupa produksi senyawa sekunder diantaranya antibiotik, enzim, asam salisilat, dan sekunder lainnya (Backman & Sikora, 2008). Bakteri endofit tumbuh di dalam jaringan tanaman tanpa menyebabkan kerusakan. Sedangkan bakteri filoplan tumbuh dan hidup di atas permukaan jaringan tanaman. Perpaduan bakteri endofit dan filoplan diharapkan dapat menghasilkan mikroba potensial yang dapat dimanfaatkan untuk mengendalikan penyakit dari dalam dan luar jaringan tanaman.

Tabel 4. Karakteristik dan daya hambat isolat bakteri filoplan terhadap pertumbuhan koloni patogen *C. cassiicola* pada metode *dual culture*
Table 4. Characteristics and inhibition of phylloplane bacteria on growth of pathogens colonies of *C. cassiicola* in dual culture method

Kode Isolat	Sumber isolat	Karakteristik bakteri			Daya hambat (%)	
		Warna	Tepi	Bentuk permukaan koloni		
BP1	Jawa Barat	Kuning	Rata	Cembung	22,50	bcde
BP2	Jawa Barat	Kuning	Rata	Cembung	22,50	bcde
BP3	Jawa Barat	Kuning	Rata	Rata	32,39	abc
BP4	Jawa Barat	Putih	Berlekuk	Rata	31,27	abc
BP5	Jawa Barat	Putih	Berombak	Rata	31,12	abc
BP6	Jawa Barat	Putih	Berlekuk	Rata	28,54	abcd
BP7	Jawa Barat	Putih	Rata	Cembung	40,95	a
BP9	Jawa Barat	Kuning	Rata	Cekung	13,88	de
BP10	Jawa Barat	Kuning	Rata	Cembung	14,06	de
L1	Kalimantan Barat	Krem	Rata	Cekung	10,88	e
L3	Kalimantan Barat	Krem	Berombak	Cekung	37,38	ab
L7	Kalimantan Barat	Krem	Berombak	Rata	17,32	abcd
L11	Kalimantan Barat	Kuning	Berombak	Cekung	7,39	e
L14	Kalimantan Barat	Putih	Berlekuk	Rata	16,14	cde
L15	Kalimantan Barat	Krem	Berombak	Cekung	21,66	bcde
L16	Kalimantan Barat	Kuning	Rata	Rata	9,60	e
L17	Kalimantan Barat	Krem	Rata	Cembung	18,92	cde
L18	Kalimantan Barat	Putih	Berlekuk	Cembung	18,37	cde
L20	Kalimantan Barat	Putih	Berombak	Cembung	11,67	e

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 *n* test 5% level

KESIMPULAN

Isolasi mikrob dari daun karet hasil eksplorasi di Kalimantan Barat dan Jawa Barat diperoleh 184 isolat jamur dan 496 isolat bakteri filoplan, serta 110 isolat jamur dan 166 isolat bakteri endofit. Sebanyak 42 isolat jamur dan 19 isolat bakteri diantaranya berpotensi menghambat *C. cassiicola*. Enam isolat jamur memiliki daya hambat $\geq 90\%$, yaitu 2 isolat jamur filoplan (DTJF11 dan CPSR7) dan empat jamur endofit (CEBPM15, CEBPM23, CEBPM27, dan CEPR9) dengan mekanisme penghambatan yang bervariasi meliputi lisis, mikoparasit, kompetisi, dan antibiosis. DTJF11 teridentifikasi sebagai *Trichoderma asperellum*, CPSR7 adalah *Talaromyces pinophilus*, dan CEBPM15 adalah *Amanita tenuifolia*, sedangkan 3 isolat jamur lainnya belum teridentifikasi. Adapun isolat bakteri yang memiliki potensi sebagai agens hayati adalah isolat BP7, L3, BP3, BP4, BP5, dan BP6 yang memiliki daya hambat 28,54%–40,94%, dengan mekanisme penghambatan antibiosis.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Sumantri, Euis, dan Rapiudin sebagai teknisi yang telah membantu selama penelitian dan tim reviewer yang telah membantu dalam proses menyelesaikan penulisan KTI. Penelitian ini didanai oleh DIPA Balittri, Badan Litbang Pertanian, TA 2016.

DAFTAR PUSTAKA

- Backman, P. A., & Sikora, R. A. (2008). Endophytes : An emerging tool for biological control. *Biological Control*, 46, 1–3. <http://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2008.03.009>
- Bailey, B. A., Bae, H., Strem, M. D., Crozier, J., Thomas, S. E., Samuels, G. J., ... Holmes, K. A. (2008). Antibiosis, mycoparasitism, and colonization success for endophytic *Trichoderma* isolates with biological control potential in *Theobroma cacao*. *Biological Control*, 46(1), 24–35. <http://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2008.01.003>
- Barnett, H. L., & Hunter, B. B. (2006). *Illustrated Genera of Imperfect Fungi* (Fourth Ed). St. Paul, Minnesota: APS Press.
- Batool, F., Rehman, Y., & Hasnain, S. (2016). Phylloplane associated plant bacteria of commercially superior wheat varieties exhibit superior plant growth promoting abilities. *Frontiers in Life Science*, 9(4), 313–322. <http://doi.org/10.1080/21553769.2016.1256842>
- Daslin, A. (2013). Ketahanan genetik berbagai klon karet introduksi terhadap penyakit gugur daun. *Jurnal Penelitian Karet*, 31(2), 79–87.
- Dwiastuti, M., Fajri, M., & Yunimar. (2015). Potensi *Trichoderma* spp . sebagai agens pengendali *Fusarium* spp . penyebab penyakit layu pada tanaman stroberi (*Fragaria x ananassa* Dutch.). *J.Hort*, 25(4), 331–339.
- Evueh, A. G., Okhuoya, J. A., Osemwegie, O. O., Attitalla, I. H., & Ogebor, O. N. (2011). Evaluation of phylloplane fungi as biocontrol agent of *Corynespora* leaf fall disease of rubber (*Hevea brasiliensis* Muell.Arg.). *World Journal of Fungal and Plant Biology*, 2(1), 01–05.
- Fernando, T. H. P. S., Jayasinghe, C. K., Wijesundera, R. L. C., & Siriwardena, D. (2011). Susceptibility of different leaf stages of *Hevea* to *Corynespora cassiicola*. *Journal of the Rubber Research Institute of Sri Lanka*, 90(2010), 58–63.
- Ghildiyal, A., & Pandey, A. (2008). Isolation of cold tolerant antifungal strains of *Trichoderma* sp. from glacial sites of Indian Himalayan Region. *Research Journal of Microbiology*, 3(8), 559–564. <http://doi.org/10.3923/jm.2008.559.564>
- Harni, R., Amaria, W., Khaerati, & Taufiq, E. (2016). Isolasi dan seleksi jamur endofit asal tanaman kakao sebagai agens hayati *Phytophthora palmivora* Bult. *J.TIDP*, 3(3), 141–150.
- Hiraishi, A., Kamagata, Y., & Nakamura, N. (1995). Polymerase chain reaction amplification and restriction fragment length polymorphism analysis of 16S rRNA genes from methanogens. *Journal of Fermentation Bioengineering*, 79, 523–529.
- Hye, S., Anand, M., & Chun, S. (2014). Isolation and characterization of plant growth promoting endophytic diazotrophic bacteria from Korean rice cultivars. *Microbiological Research*, 169(1), 83–98. <http://doi.org/10.1016/j.micres.2013.06.003>
- Jayasuriya, K. E., & Thennakoon, B. I. (2007). Short communication first report of *Corynespora Cassiicola* on *Codiaeum Variegatum* (Croton) in Sri Lanka. *Plant Pathology*, 36(2), 138–141.

- Jinji, P., Zhang, X., Yangxian, Q., Yixian, X., Huiqiang, Z., & He, Z. (2007). First record of *Corynespora* leaf fall disease of *Hevea* rubber tree in China. *Australasian Plant Disease Notes*, 2, 35–36.
- Kalyanasundaram, I., Nagamuthu, J., & Muthukumaraswamy, S. (2015). Antimicrobial activity of endophytic fungi isolated and identified from salt marsh plant in Vellar Estuary. *Journal of Microbiology and Antimicrobials*, 7(2), 13–20. <http://doi.org/10.5897/JMA2014.0334>
- Li, C., Zhao, S., Zhang, T., Xian, L., Liao, L.-S., & Liu, J. (2017). Genome sequencing and analysis of *Talaromyces pinophilus* provide insights into biotechnological applications. *Scientific Reports*, (October 2016), 1–10. <http://doi.org/10.1038/s41598-017-00567-0>
- Lodewyckx, C., Vangronsveld, J., Porteous, F., Edward, R. B., Taghavi, S., Mezgeay, M., & Lelie, D. Van Der. (2002). Endophytic bacteria and their potential applications. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 6(21), 583–606. <http://doi.org/10.1080/0735-260291044377>
- Marwan, H. (2011). *Potensi Bakteri Endofit sebagai Agens Pengendalian Hayati terhadap Penyakit Darah pada Tanaman Pisang*. Disertasi. Institut Pertanian Bogor.
- Omann, M., & Zeilinger, S. (2010). How a mycoparasite employs G-protein signaling: Using the example of *Trichoderma*. *Journal of Signal Transduction*, 1–8. <http://doi.org/10.1155/2010/123126>
- Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian. (2015). *Statistik Iklim, Organisme Pengganggu Tanaman dan Dampak Perubahan Iklim 2012-2015*. Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian, Sekretariat Jenderal Kementerian Pertanian.
- Rabha, A. J., Naglot, A., Sharma, G. D., Gogoi, H. K., & Veer, V. (2014). In vitro evaluation of antagonism of endophytic *Colletotrichum gloeosporioides* against potent fungal pathogens of *Camellia sinensis*. *Indian Journal of Microbiology*, 54(3), 302–309. <http://doi.org/10.1007/s12088-014-0458-8>
- Ropalia. (2015). *Potensi Mikrob Endofit dan Aplikasinya dengan Kompos Tandan Kosong Kelapa Sawit untuk Pengendalian Penyakit Kuning pada Lada*. Tesis. Institut Pertanian Bogor.
- Seifert, K. A., Gareth, M.-J., Walter, G., & Bryce, K. (2011). *The Genera of Hyphomycetes*. Utrecht, The Netherlands: CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre.
- Situmorang, A. (2002). *Sebaran Penyakit Gugur Daun Virulensi dan Genetika Corynespora cassiicola Asal Sentra Perkebunan Karet Indonesia*. Disertasi. Institut Pertanian Bogor.
- Sowndhararajan, K., Marimuthu, S., & Manian, S. (2013). Biocontrol potential of phylloplane bacterium *Ochrobactrum anthropi* BMO-111 against blister blight disease of tea. *Journal of Applied Microbiology*, 114(1), 209–218. <http://doi.org/10.1111/jam.12026>
- Tanganon, N. G., Pecho, J. A., & Butardo, E. G. G. (2009). Leafspot of *Hevea brasiliensis* caused by *Corynespora cassiicola* in the Philippines: 1st reportin. *USM Agricultural Research Center*, 17(1), 45–48.
- Thakur, S., & Harsh, N. S. K. (2014). Phylloplane fungi as biocontrol agent against *Alternaria* leaf spot disease of Akarkara (*Spilanthes oleracea*). *Bioscience Discovery* 5(2), 139–144.
- Tondok, E. T. (2012). *Keragaman Cendawan Endofit pada Buah Kakao dan Potensinya dalam Pengendalian Busuk Buah Phytophthora*. Disertasi. Institut Pertanian Bogor.
- Vurukonda, S. S. K. P., Giovanardi, D., & Stefani, E. (2018). Plant growth promoting and biocontrol activity of *Streptomyces* spp. as endophytes. *International Journal of Molecular Sciences*, 19, 1–26. <http://doi.org/10.3390/ijms19040952>
- Wafaa, M. H., & Abdel-Latif, A. M. (2007). Biotechnological aspects of microorganisms used in plant biological control. *American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture*, 1(1), 7–12.
- Wulandari, H., Beludru, H., Wulandari, H., & Supriyanto, Z. (2012). Isolasi dan pengujian bakteri endofit dari tanaman lada (*Piper nigrum* L.) sebagai antagonis terhadap patogen hawar beludru (*Septobasidium* sp.) *Perkebunan dan Lahan Tropika* 2 (2), 23-31
- Yuan, Y., Feng, H., Wang, L., Li, Z., Shi, Y., Zhao, L., ... Zhu, H. (2017). Potential of endophytic fungi isolated from cotton roots for biological control against *Verticillium Wilt* disease. *PLOS ONE*, (201503109), 1–12. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0170557>
-

Jurnal
**TANAMAN INDUSTRI
DAN PENYEGAR**
Journal of Industrial and Beverage Crops
Volume 5, Nomor 3, November 2018

**POTENSI ASAP CAIR SEBAGAI INSEKTISIDA NABATI PENGENDALI
PENGGEREK BUAH KOPI *Hypothenemus hampei***
**POTENTIAL OF LIQUID SMOKE AS BOTANICAL INSECTICIDE
TO CONTROL COFFEE BERRY BORER *Hypothenemus hampei***

* Gusti Indriati dan Samsudin

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

(Tanggal diterima: 28 Desember 2017, direvisi: 20 Mei 2018, disetujui terbit: 26 November 2018)

ABSTRAK

Penggerak buah kopi (PBKo) merupakan hama utama tanaman kopi. Hama ini sulit dikendalikan karena menyerang buah kopi sejak berada di pohon hingga tahap penyimpanan di gudang. Tujuan penelitian adalah mengetahui potensi asap cair sebagai insektisida nabati untuk mengendalikan hama PBKo. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Proteksi Tanaman, Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar, mulai bulan Januari sampai Desember 2016. Asap cair yang digunakan berasal dari kulit buah kakao, serbuk gergaji, tempurung kelapa, dan sekam padi. Analisis kandungan fitokimia asap cair dilakukan secara kualitatif dan kuantitatif menggunakan *gas chromatography mass spectrometry* (GCMS). Uji toksisitas menggunakan metode residu dan kontak. Pengujian toksisitas dilakukan pada konsentrasi 1%; 1,5%; 2%; dan 2,5%, kontrol (akuades), insektisida klorpirifos (2 ml/l) sebagai pembanding. Masing-masing perlakuan menggunakan 15 ekor imago *H. hampei* diulang 3 kali. Parameter yang diamati mortalitas pada 24, 48, 72, 96, dan 120 jam setelah perlakuan (JSP). Uji daya tolak makan (*antifeedancy*) menggunakan 10 buah biji kopi dalam wadah plastik yang diinfestasi 20 ekor imago diulang 3 kali. Parameter yang diamati adalah jumlah lubang gerekkan pada 1, 2, 3, 4, 5, 6, dan 7 hari setelah infestasi. Hasil analisis menunjukkan komponen terbesar dalam asap cair yang diduga berfungsi sebagai insektisida adalah *benzenesulfonic acid 4-hydroxy* dan *acetic acid*. Semua asap cair yang diuji bersifat toksik terhadap imago PBKo. Mortalitas imago PBKo tertinggi pada perlakuan asap cair tempurung kelapa konsentrasi 2,5% sebesar 48,87%, dengan tingkat serangan 20% dan penurunan serangan 70%. Asap cair dari tempurung kelapa berpotensi sebagai insektisida nabati untuk mengendalikan hama PBKo.

Kata kunci: Asap cair, *Hypothenemus hampei*, kopi

ABSTRACT

Coffee berry borer (CBB) is the main pest of coffee plants. This pest is difficult to control as it attacks coffee fruit on the tree, multiplies inside the fruit and stays till storage. The study aimed to determine the potential liquid smoke from plant waste to control CBB. The research was conducted at Plant Protection Laboratory (IIBCRI), from January to December 2016. The liquid smokes made from cacao pod husks, sawdust, coconut shells, and rice husks. Phytochemical content of liquid smokes was analyzed qualitatively and quantitatively using *gas chromatography mass spectrometry* (GCMS). Toxicity analysis was carried out by residual and contact methods at concentrations of 1%; 1.5%; 2%; 2.5%; controls (aquades), and chlorpyrifos insecticide (2 ml/l) as comparison. Each treatment used 15 *H. hampei* imagos, repeated 3 times. Mortality parameters were observed at 24, 48, 72, 96, and 120 hours after treatment (HAT). To investigate antifeedance, 10 coffee fruits were infested with 20 imagos in plastic containers, repeated 3 times and parameters observed were the number of holes at 1, 2, 3, 4, 5, 6, and 7 days after infestation. The results showed that the largest component in liquid smoke presumably functioned as insecticides are *Benzenesulfonic acid 4-hydroxy* and *Acetic acid*. All liquid smokes tested were toxic to CBB imagos. The highest CBB mortalities occurred after liquid smoke treatment from coconut shell at concentrations of 2.5% by 48.87%, attack rate was only 20%, decreased 70%. Liquid smoke from coconut shell is the most potential as botanical insecticide to control CBB.

Keywords: Coffee, *Hypothenemus hampei*, liquid smoke

PENDAHULUAN

Hama penggerek buah kopi (PBKo) *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae) merupakan hama utama tanaman kopi. Kerusakan buah kopi akibat PBKo mencapai 25,2%–32% (Subawa & Sudarsono, 2011) dengan penurunan produksi 20%–30% (Hayata, 2016). *H. hampei* menginfeksi buah dari semua tingkat umur. Hama ini masuk ke dalam buah kopi dengan cara membuat lubang di sekitar diskus dan berkembang biak dalam buah. Hal ini terjadi sejak biji mulai membentuk endosperma, bila endosperma sudah cukup keras, serangga betina membuat lubang kecil pada permukaan kulit luar kopi (mesokarp) buah untuk meletakkan telur. Serangan pada buah muda menyebabkan gugur buah dan serangan pada buah yang cukup tua menyebabkan biji kopi cacat berlubang-lubang dan bermutu rendah.

Beberapa teknik pengendalian PBKo yang telah dilakukan antara lain secara mekanis (pembersihan gulma, pemangkasan tanaman kopi dan naungan, petik bubuk, rampasan, lelesan, dan penggunaan perangkap), agens hayati (parasitoid, dan jamur entomopatogen), kimiawi, dan penggunaan insektisida nabati (Wiryadiputra, 2012). Pengendalian PBKo dengan bahan nabati seperti minyak jarak kepyar dan serai wangi dilaporkan menyebabkan kematian imago 40,8%–80% (Celestino *et al.*, 2016; Mendesil *et al.* 2012).

Salah satu insektisida nabati yang berpotensi untuk dimanfaatkan sebagai pengendali hama tanaman adalah asap cair. Asap cair diperoleh dari hasil penguraian senyawa-senyawa organik yang terdapat dalam bahan tanaman melalui proses pirolisis dari bahan yang mengandung selulosa, hemiselulosa dan lignin, yang menghasilkan zat dalam tiga bentuk yaitu padatan, cairan, dan gas. Proses pirolisis melibatkan berbagai reaksi, yaitu dekomposisi, oksidasi, polimerisasi, dan kondensasi.

Komponen kimia utama asap cair adalah asam asetat dan berbagai jenis fenol, karbonil, dan alkohol. Beberapa peneliti melaporkan kandungan asap cair sangat beragam tergantung pada jenis bahan yang digunakan, temperatur, tekanan, dan lama pembakaran. Komposisi asap cair sudah diteliti, dimana ditemukan hampir 100 senyawa kimia. Beberapa senyawa yang sudah diidentifikasi adalah fenolik (85 macam), karbonil (45 macam), asam (35 macam), furan (11 macam), alkohol ester (15 macam), lakton (13 macam), dan hidrokarbon alifatik (21 macam) (Swastawati *et al.*, 2012). Asap cair tandan kelapa sawit mengandung fenol, 4-metilfenol, asam dodekanoat, metil ester, asam tetradekanoat, 2-metoksi-4-metilfenol.

Asap cair telah digunakan sebagai fungisida, herbisida, dan insektisida yang bersifat penolak datang (*repellent*) bagi serangga (Tiilikkala, Fagernäs, & Tiilikkala, 2010), dan penolak makan (*antifeedant*) (Wiyantono & Winarni, 2009). Beberapa bahan tanaman yang dilaporkan dapat digunakan sebagai bahan pembuatan asap cair adalah tempurung kelapa, limbah kelapa sawit (tandan dan cangkang), sekam padi, klobot jagung, kulit buah kakao, dan serbuk gergaji kayu suren (Wijaya, 2014; Anggraini & Yuniningsi, 2014; Adfa *et al.*, 2017).

Penggunaan asap cair sebagai pengendali hama telah dilaporkan oleh beberapa peneliti. Asap cair dari tempurung kelapa pada konsentrasi 12,5% menyebabkan kematian wereng coklat *Nilaparvata lugens* sebesar 53% dan tidak fitotoksik terhadap tanaman (Wagiman, Ardiansyah, & Witjaksono, 2014), asap cair dari limbah kelapa sawit pada konsentrasi 1,25% menyebabkan kematian *N. lugens* sebesar 91,67% (Soedijo, Pramudi, & Aisah, 2015). Selanjutnya Wititsiri (2011) melaporkan asap cair tempurung kelapa menyebabkan mortalitas rayap *Odontotermes* sp. sebesar 81,71% dan *Ferrisia virgata* sebesar 95,12%. Asap cair dari sekam padi dan tempurung kelapa bersifat *antifeedant* terhadap larva *Crocidolomia pavonana* (Wiyantono & Minarni, 2009) dan asap pembakaran tempurung kelapa dapat menyebabkan kematian imago dan larva, serta kerusakan telur dari *Rhyzopertha dominica* (Aryawan, Bambang, & Astuti, 2013). Asap cair dari ranting-ranting pohon dilaporkan dapat menghambat peletakan telur *Callosobruchus maculatus* pada kacang tunggak (Chalermisan & Peerapan, 2009) dan penggunaan asap cair 0,5% untuk benih jagung dan kedelai di penyimpanan (Nugroho & Aisyah, 2013)

Penelitian bertujuan mengetahui potensi asap cair sebagai insektisida nabati untuk mengendalikan hama penggerek buah kopi *Hypothenemus hampei*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Proteksi Tanaman, Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar (Balittri), Sukabumi, Jawa Barat mulai bulan Januari sampai Desember 2016. Penelitian menggunakan serangga uji imago *H. hampei* dan asap cair dari limbah tanaman kulit buah kakao, serbuk gergaji, tempurung kelapa, dan sekam padi.

Pembiakan Serangga Uji PBKo

Serangga uji *H. hampei* diperoleh dari buah kopi yang terserang penggerek buah di Kebun Percobaan Pakuwon, Sukabumi, Jawa Barat, kemudian diperbanyak di laboratorium menggunakan pakan buatan sesuai metode Brun, Gaudichon, & Wigley

(1993). Buah kopi yang terserang PBKo dikumpulkan dan dibelah untuk mendapatkan imago dan larva *H. hampei*. Larva dan imago yang diperoleh selanjutnya dipindahkan ke dalam kotak plastik untuk dipelihara sampai dewasa. Selanjutnya betina dewasa dipelihara dalam kotak plastik yang sudah diisi dengan buah kopi yang sudah matang (merah). Sebelum buah dimasukkan ke dalam kotak, terlebih dahulu disterilisasi permukaannya menggunakan klorok 1%, kemudian dicuci dengan air mengalir dan dikeringanginkan. Sanitasi sangat memengaruhi keberhasilan dalam perbanyakan *H. hampei*. Sanitasi yang baik akan mengurangi kontaminasi jamur seminimal mungkin. Selanjutnya biakan disimpan pada suhu 25°C dan kelembaban 85% pada ruang gelap. Kelembaban juga memengaruhi keberhasilan perbanyakan *H. hampei*. Kelembaban yang tinggi menyebabkan biakan sering terkontaminasi jamur, dan kondisi kering menyebabkan kematian larva yang tinggi. Biakan dibiarkan selama 2 bulan, setelah 2 bulan betina dipindahkan ke kotak plastik dengan pakan yang baru untuk meletakkan telur yang baru.

Penyiapan dan Pembuatan Asap Cair

Bahan yang digunakan untuk pembuatan asap cair adalah limbah tanaman dari kulit buah kakao, serbuk gergaji, tempurung kelapa, dan sekam padi. Kulit buah kakao segar dicacah kecil-kecil lalu dikeringkan di bawah sinar matahari hingga mencapai kadar air 6%–7% (Loppies, 2016), dan sekam padi dengan kadar air 11% (Ariyani, Mujiyanti, Umaningrum & Harlianto, 2015). Serbuk gergaji dan tempurung kelapa juga dikeringkan terlebih dahulu sebelum dilakukan pirolisis (400°C; 5 jam). Pirolisis merupakan proses penguraian senyawa-senyawa penyusun kayu menjadi beberapa senyawa organik melalui reaksi pembakaran tanpa oksigen. Proses pembuatan asap cair dilakukan menggunakan alat yang didesain khusus untuk mendapatkan asap cair melalui proses kondensasi. Kondensasi dilakukan dengan menggunakan drum sebagai tempat pembakaran bahan limbah tanaman untuk menghasilkan asap. Asap ditangkap oleh sungkup dari alat penyuling, lalu disalurkan melalui kondensor. Selanjutnya asap tersebut dikondensasikan pada kondensor menggunakan media pendingin air. Dari proses tersebut keluar cairan berwarna coklat tua hingga hitam yang dikenal sebagai asap cair. Asap cair yang dihasilkan ditampung dalam botol dan selanjutnya disimpan hingga saat digunakan.

Analisis Kimia Asap Cair

Asap cair yang dihasilkan dari pirolisis kulit buah kakao, serbuk gergaji, tempurung kelapa, dan sekam padi dianalisis komponen kimianya secara kuantitatif (analisis pH dan berat jenis) dan secara kualitatif dengan menggunakan *gas chromatography mass spectrometry* (GCMS) di Laboratorium Pusat Penelitian dan Pengembangan Hasil Hutan, Bogor.

Uji Toksisitas

Pengujian toksisitas asap cair dilakukan dengan metode residu dan kontak.

Metode residu

Sampel buah kopi yang digunakan adalah buah berwarna merah. Buah kopi dicuci bersih kemudian dilakukan sterilisasi permukaan dengan klorox, lalu dibilas dengan air bersih dan dikeringanginkan selama ± 15 menit. Pengujian asap cair dengan metode residu dilakukan pada konsentrasi 1%; 1,5%; 2%; 2,5%; kontrol (akuades); dan insektisida kimia berbahan aktif kloropirifos (2 ml/l) sebagai pembanding. Kondensat asap cair dilarutkan dalam akuades, dibuat larutan stok dengan konsentrasi 50%, kemudian ke dalam larutan tersebut ditambahkan akuades untuk mendapatkan konsentrasi sesuai perlakuan (Wiyantono & Minarni, 2009). Masing-masing perlakuan menggunakan 10 buah kopi yang disemprot secara merata dengan asap cair dan diulang sebanyak 4 kali. Buah kopi yang telah diberi perlakuan diletakkan dalam wadah plastik, lalu dimasukkan 15 ekor imago *H. hampei*. Mortalitas imago *H. hampei* diamati pada 24 jam setelah perlakuan (JSP), 48 JSP, 72 JSP, 96 JSP, dan 120 JSP.

Metode kontak

Pengujian asap cair dengan metode kontak dilakukan pada konsentrasi 1%; 1,5%; 2%; 2,5%; kontrol (akuades); dan insektisida kimia berbahan aktif kloropirifos (2 ml/l) sebagai pembanding. Kondensat asap cair dilarutkan dalam akuades, dibuat larutan stok dengan konsentrasi 50%, kemudian ke dalam larutan tersebut ditambahkan akuades untuk mendapatkan konsentrasi sesuai perlakuan (Wiyantono & Minarni, 2009). Serangga uji *H. hampei* disemprot dengan larutan uji sesuai perlakuan, lalu dидiamkan selama 5 menit, selanjutnya diletakkan ke dalam wadah plastik yang telah diisi masing-masing 10 buah kopi, dan diulang sebanyak 4 kali. Buah kopi yang digunakan adalah buah yang sudah disterilisasi permukaan menggunakan klorok, kemudian dicuci bersih dengan air dan dikeringanginkan selama ± 15 menit. Parameter yang diamati adalah mortalitas imago *H. hampei* pada 24 jam setelah perlakuan (JSP), 48; 72; 96; dan 120 JSP.

Uji Daya Tolak Makan (*Antifeedancy*) Asap Cair terhadap PBKo

Uji *antifeedancy* dari asap cair dilakukan pada konsentrasi 1%; 1,5%; 2%; 2,5%; kontrol (akuades); dan insektisida kimia berbahan aktif kloropirifos (2 ml/l) sebagai pembanding. Asap cair yang digunakan terbuat dari kulit buah kakao, serbuk gergaji, tempurung kelapa, dan sekam padi. Pengujian dilakukan dengan metode pilihan, yaitu menyemprot 10 buah kopi untuk masing-masing perlakuan, kemudian buah yang telah disemprot dikeringanginkan selama ± 5 menit. Sebelum buah diberi perlakuan asap cair, terlebih dahulu disterilisasi menggunakan klorok, kemudian dicuci bersih dan dikeringanginkan selama ± 15 menit. Buah kopi yang telah diberi perlakuan dimasukkan ke dalam wadah plastik kemudian diinfestasikan 20 ekor imago *H. hampei* dan diinkubasi selama 24 jam. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 ulangan. Parameter yang diamati adalah jumlah lubang gerakan akibat *H. hampei* pada 1, 2, 3, 4, 5, 6, dan 7 hari setelah infestasi imago PBKo.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis Kimia Asap Cair

Asap cair merupakan hasil dari proses kondensasi asap pembakaran bahan-bahan yang mengandung hemiselulosa, selulosa, dan lignin. Kandungan senyawa kimia yang terdapat dalam asap cair secara kuantitatif dan kualitatif dipengaruhi oleh komponen utama bahan yang dipirolisis. Asap cair yang berasal dari kulit buah kakao memiliki pH lebih tinggi (5,06) dibandingkan dengan asap cair dari serbuk gergaji (2,90), tempurung kelapa (2,53), dan sekam padi

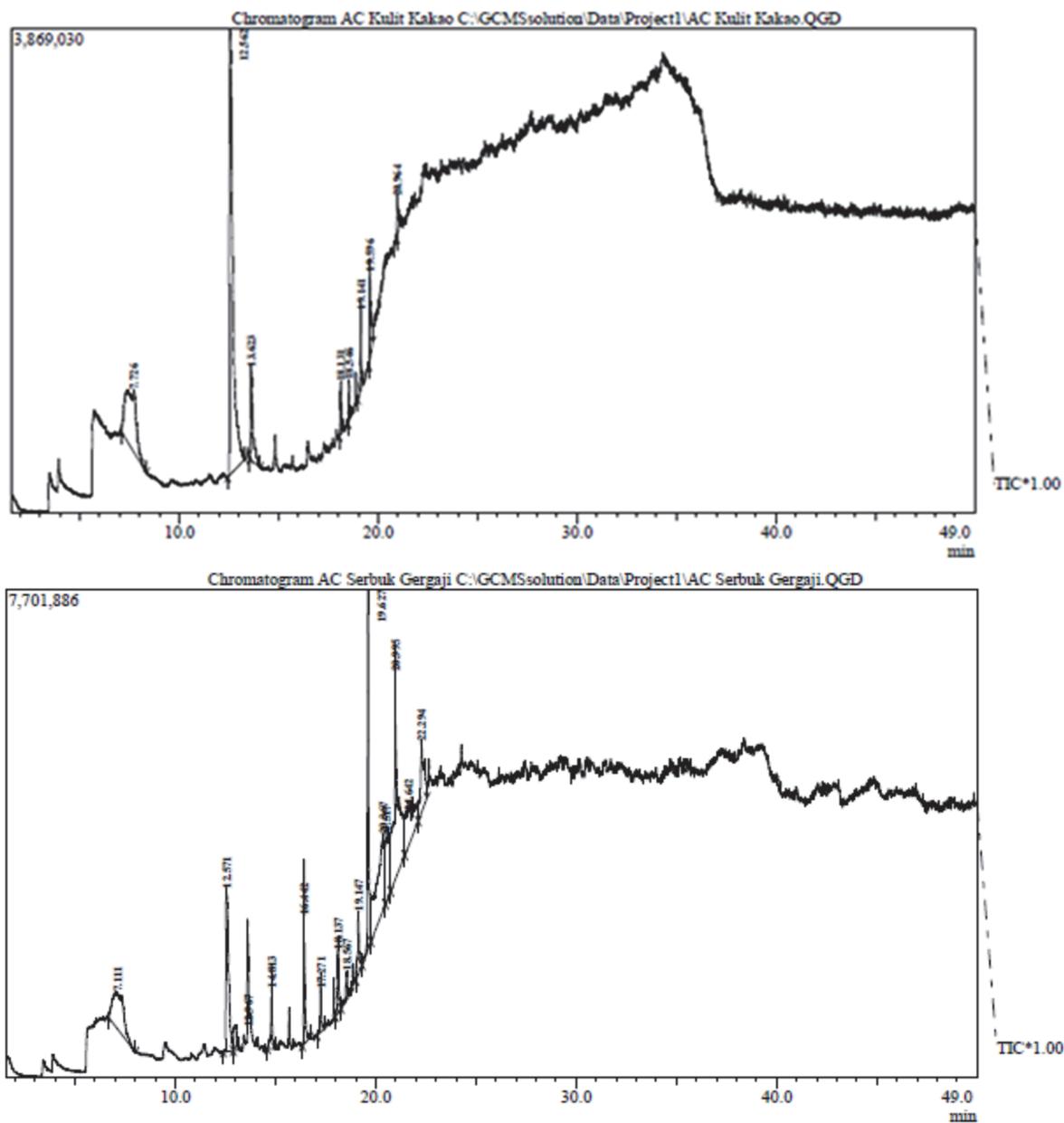
(3,35). Sementara itu berat jenis dari semua asap cair yang dianalisis relatif sama, yaitu 1,0560–1,0886 g/cm³. Hasil analisis kuantitatif berupa pH dan berat jenis asap cair yang berasal dari kulit buah kakao, serbuk gergaji, tempurung kelapa, dan sekam padi dapat dilihat pada Tabel 1.

Hasil analisis secara kualitatif melalui deteksi GCMS terhadap kondensat dari kulit buah kakao, serbuk gergaji, tempurung kelapa, dan sekam padi dapat dilihat pada Gambar 1, Gambar 2, dan Tabel 2.

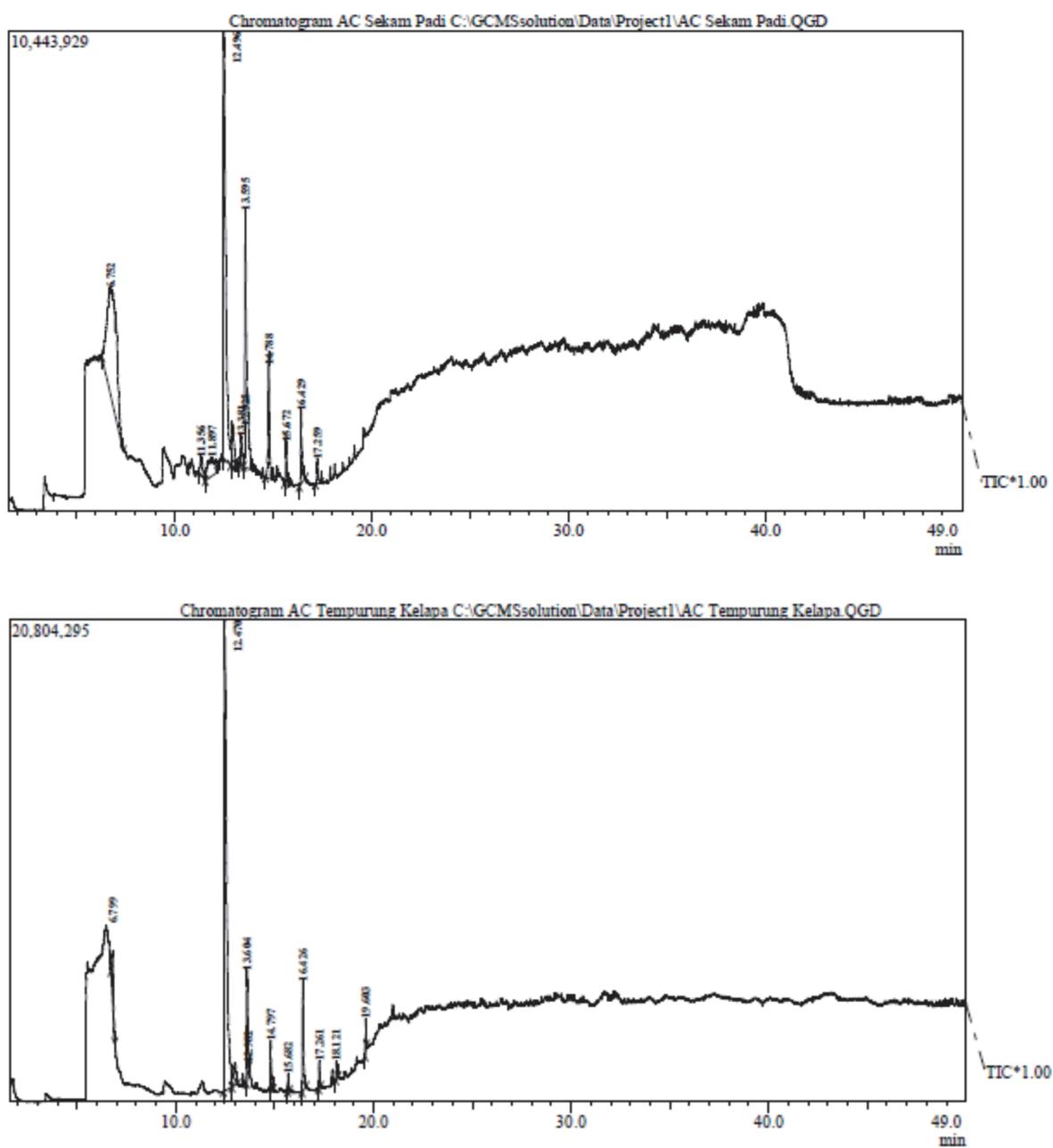
Hasil analisis kualitatif seperti terlihat pada Gambar 1 dan Gambar 2 menunjukkan puncak-puncak kromatogram senyawa penyusun asap cair kulit buah kakao terdiri dari 8 senyawa, dengan 5 senyawa berkadar tinggi adalah: 1) *benzenesulfonic acid, 4-hydroxy* (57,71%); 2) *acetic acid* (22,51%); 3) *phenol, 2-methoxy* (7,32%); 4) *myristic acid* (4,22%); dan 5) *5-azulenemethanol* (2,97%). Puncak-puncak kromatogram senyawa penyusun asap cair serbuk gergaji terdiri dari 15 senyawa, dengan 5 senyawa berkadar tinggi adalah: 1) *palmitic acid* (19,40%); 2) *dotriacontane* (15,21%); 3) *benzenesulfonic acid, 4-hydroxy* (10,69%); 4) *acetic acid* (9,81%); dan 5) *1,2-dihydroxyoctadecane* (7,96%). Senyawa penyusun asap cair tempurung kelapa terdiri dari 10 senyawa, dengan 5 senyawa yang kadarnya tinggi adalah: 1) *benzenesulfonic acid 4-hydroxy* (71,42%); 2) *2-methoxyl-4-methylphenol* (7,06%); 3) *benzene, 1,2,3-trimethoxy* (6,46%); 4) *acetic acid* (4,14%); dan 5) *phenol, 2-methoxy* (4,04%). Sedangkan senyawa penyusun asap cair sekam padi terdiri dari 11 senyawa, dengan 5 senyawa paling tinggi kadarnya adalah: 1) *acetic acid* (33,15%); 2) *benzenesulfonic acid 4-hydroxy* (32,77%); 3) *2-methoxyl-4-methylphenol* (14,02%); 4) *phenol, 4-ethyl-2-methoxy* (4,62%); dan 5) *ethisolide* (4,09%).

Tabel 1. Hasil analisis pH dan berat jenis dari asap cair kulit buah kakao, serbuk gergaji, tempurung kelapa, dan sekam padi
Table 1. pH and density analysis of liquid smoke of cocoa pod husks, sawdust, coconut shell, and rice husks

Asap cair berasal dari	pH	Berat jenis (g/cm ³)
Kulit buah kakao	5,06	1,0886
Serbuk gergaji	2,90	1,0560
Tempurung kelapa	2,53	1,0647
Sekam padi	3,35	1,0615



Gambar 1. Data hasil deteksi GCMS dari asap cair (a) kulit buah kakao dan (b) serbuk gergaji
Figure 1. Data of GCMS detection from liquid smoke (a) cocoa pod husks, (b) sawdust



Gambar 2. Data hasil deteksi GCMS dari asap cair (a) tempurung kelapa dan (b) sekam padi.
Figure 2. Data of GCMS detection from liquid smoke (a) coconut shell and (b) rice husk

Tabel 2. Komponen kimia kondensat asap cair dari kulit buah kakao, serbuk gergaji, tempurung kelapa, dan sekam padi berdasarkan analisis GCMS

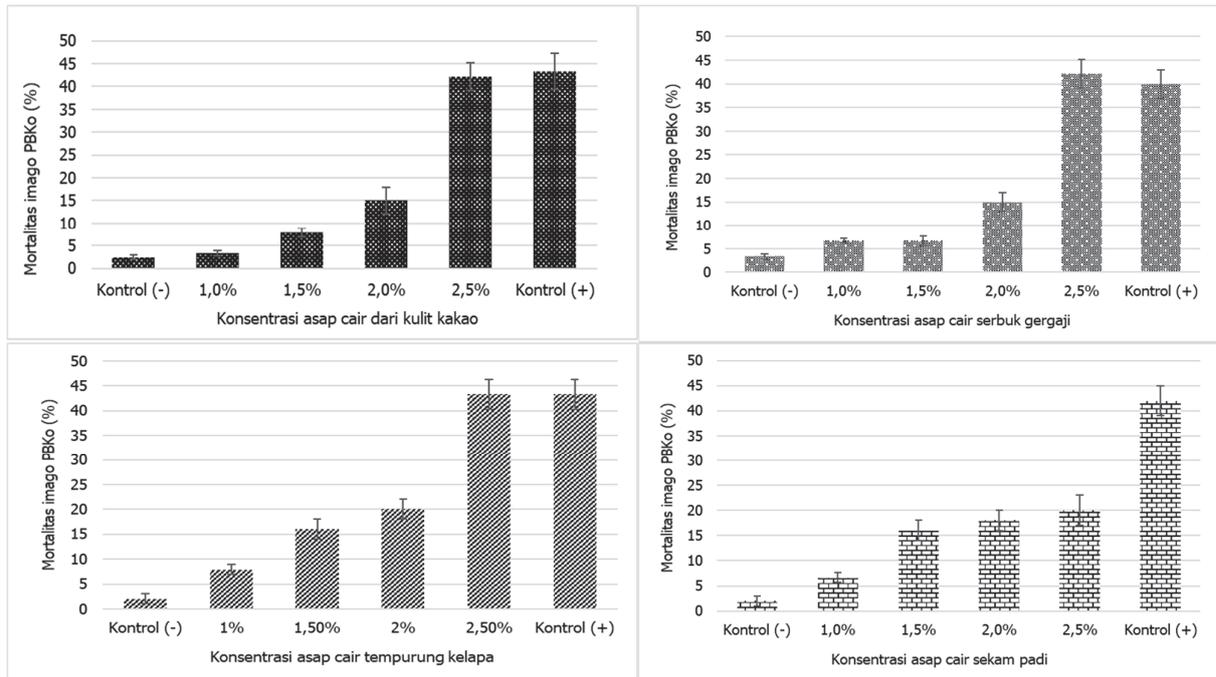
Table 2. Components of chemical condensate of liquid smoke from cocoa pod husks, sawdust, coconut shell, and rice husk based on GCMS analysis

Senyawa kimia	Kadar (%)			
	Kulit buah kakao	Serbuk gergaji	Tempurung kelapa	Sekam padi
<i>Acetic acid</i>	22,51	9,81	4,14	33,15
<i>Benzenesulfonic acid, 4-hydroxy</i>	57,71	10,69	71,42	32,77
<i>Benzene, 1,2,3-trimethoxy</i>	-	4,28	6,46	2,83
<i>2-Methoxyl-4-methylphenol</i>	-	1,69	7,06	14,02
<i>Phenol, 2,6-dimethoxy</i>	-	2,40	0,81	1,35
<i>Phenol, 2-methoxy</i>	7,32	-	4,04	1,63
<i>Phenol, 2-methyl</i>	-	-	-	3,30
<i>Phenol, 4-ethyl-2-methoxy</i>	-	-	2,53	4,63
<i>Methylsyl</i>	-	1,35	1,25	0,82
<i>Oleic acid</i>	-	2,69	-	-
<i>Guaiol</i>	1,05	1,35	-	-
<i>5-Azulenemethanol</i>	2,97	2,34	-	-
<i>Myristic acid</i>	4,62	8,48	1,19	-
<i>Dotriacontane</i>	-	15,21	-	-
<i>6,11-Undecadiene</i>	-	6,20	-	-
<i>Palmitic acid</i>	1,94	19,40	-	-
<i>1,2-Dihydroxyoctadecane</i>	-	7,69	-	-
<i>9-Hexadecenoic acid</i>	-	6,14	-	-
<i>Elemol</i>	1,88	-	-	-
<i>Lauric acid</i>	-	-	1,11	-
<i>Butyrotactone</i>	-	-	-	1,42
<i>Ethisolide</i>	-	-	-	4,09

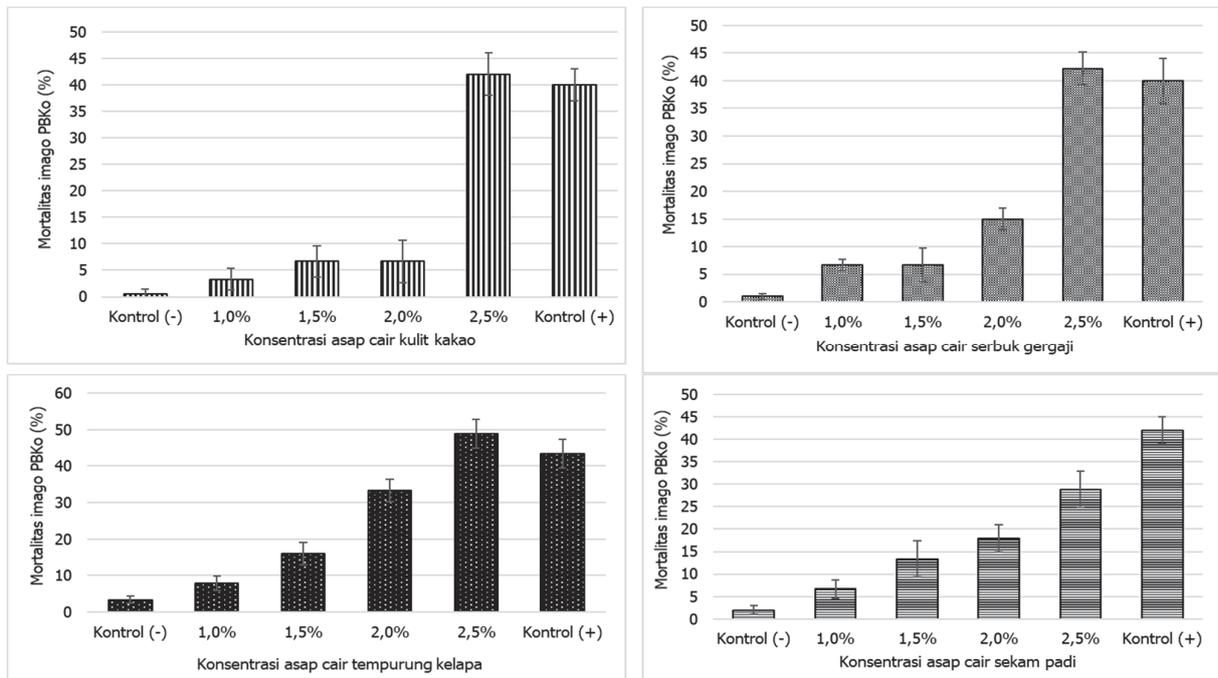
Hasil penelitian ini menunjukkan ada 2 senyawa yang terdapat pada semua asap cair dari bahan yang dipirolisis dengan kandungan yang cukup besar, yaitu *benzenesulfonic acid 4-hydroxy* dan *acetic acid*. Hasil penelitian Reta (2013) menunjukkan senyawa terbesar yang ditemukan dari hasil analisis GCMS asap cair tempurung kelapa adalah *acetic acid* sebesar 81%. Demikian pula hasil penelitian (Ariyani *et al.*, 2015) yang menyatakan bahwa senyawa terbesar pada asap cair sekam padi adalah *acetic acid* sebesar 58,68%. Sedangkan hasil penelitian lainnya menunjukkan hasil yang berbeda, yaitu Gumanti (2006) menyampaikan kandungan asam asetat asap cair asal tempurung kelapa sebesar 7,10% dan Suryono (2009) sebesar 21,68%. Perbedaan kandungan asam asetat pada asap cair tempurung kelapa tergantung kepada bahan baku yang digunakan, asal bahan baku, suhu bahan baku, kadar air bahan baku dan ukuran partikelnya.

Toksitas Asap Cair terhadap Imago *H. hampei* dengan Metode Residu

Hasil pengamatan terhadap toksitas asap cair terhadap imago *H. Hampei* dengan metode residu menunjukkan perlakuan asap cair menyebabkan mortalitas imago PBKo (Gambar 3). Peningkatan konsentrasi menyebabkan persentase mortalitas imago PBKo semakin tinggi. Hasil pengamatan pada 120 JSP menunjukkan asap cair dari kulit buah kakao, serbuk gergaji, tempurung kelapa, dan sekam padi, pada konsentrasi 2,5% menunjukkan mortalitas imago *H. hampei* berturut-turut 42,2%; 42,2%; 43,3%; dan 20%. Mortalitas imago PBKo pada perlakuan asap cair dari sekam padi paling rendah, hal ini diduga terkait dengan kandungan senyawa fitokimianya yang sebagian besar berupa senyawa volatile (fenol) yang bersifat lebih mudah menguap.



Gambar 3. Mortalitas imago PBKo pada perlakuan asap cair dengan metode residu
Figure 3. CBB imago mortality after liquid smoke treatment with residual method



Gambar 4. Mortalitas imago PBKo pada perlakuan asap cair dengan metode kontak
Figure 4. CBB imago mortality after liquid smoke treatment with contact method

Toksistas Asap Cair terhadap Imago *H. hampei* dengan Metode Kontak

Mortalitas imago PBKo pada perlakuan asap cair dengan metode kontak, pada perlakuan asap cair dari tempurung kelapa menghasilkan mortalitas paling tinggi dibandingkan asap cair yang berasal dari kulit buah kakao, serbuk gergaji, dan sekam padi (Gambar 4). Perlakuan asap cair dari kulit buah kakao, serbuk gergaji, tempurung kelapa, dan sekam padi pada konsentrasi 2,5% menimbulkan mortalitas imago PBKo berturut-turut 42,22%; 42,22%; 48,87%; dan 28,87% pada 120 JSP (Gambar 4).

Kematian imago PBKo diduga karena adanya senyawa yang bersifat racun perut dalam asap cair seperti *benzenesulfonic acid 4-hydroxy* dan *acetic acid* yang terpenetrasi sepenuhnya ke dalam tubuh kumbang PBKo. Semakin tinggi kadar kedua senyawa tersebut dalam asap cair akan menyebabkan pertumbuhan serangga tertekan. Kemampuan senyawa aktif ini akan efektif dan semakin meningkat apabila komponen ini selalu bersama-sama dengan senyawa fenol (Darmadji, 1995).

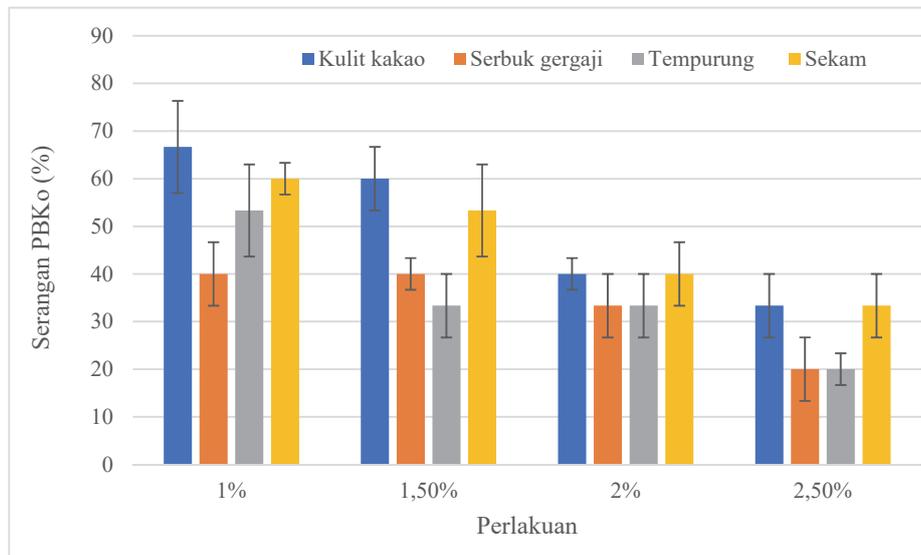
Senyawa benzo(a)pyrene yang memiliki titik leleh 179°C dan titik didih 495°C dalam bentuk padat merupakan senyawa yang bersifat toksik terhadap serangga, sehingga berpotensi untuk digunakan sebagai insektisida nabati (Santoso, 2016). Hasil penelitian Tima, Yopi, & Ifa (2016) menunjukkan komponen senyawa yang terdapat pada asap cair dari kulit biji mete adalah fenol dan turunannya, benzenediol dan turunannya, pyroline, alpha-D-lyxofuranoside, heptine, dan pyran yang dapat dimanfaatkan sebagai pestisida alternatif pengendali serangga dan organisme pengganggu lainnya pada tanaman. Senyawa tersebut apabila masuk ke dalam tubuh serangga akan cepat berdifusi ke dalam pori-pori (spirakel) pada permukaan tubuh serangga yang akan mengganggu sistem respirasi. Terganggunya sistem respirasi akan berpengaruh terhadap pembentukan energi di dalam sel, sehingga sel kekurangan energi yang menyebabkan kerusakan jaringan, keracunan, dan kematian serangga.

Daya Tolak Makan (*Antifeedancy*) Asap Cair terhadap PBKo

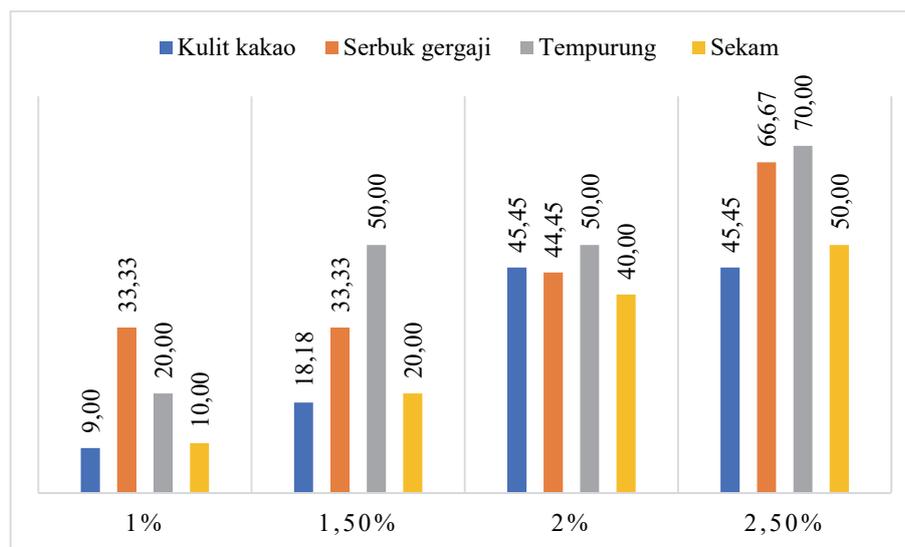
Hasil pengamatan terhadap persentase serangan PBKo pada buah kopi setelah perlakuan asap cair ditunjukkan dengan banyaknya jumlah lubang gergaji dan penurunan tingkat serangan dibandingkan dengan

kontrol (Gambar 5 dan Gambar 6). Rata-rata serangan PBKo pada buah kopi setelah perlakuan asap cair kulit buah kakao dengan konsentrasi 1%; 1,5%; 2%; dan 2,5% masing-masing sebesar 66,67%; 60%; 40%; 40% dengan penurunan serangan sebesar 9,08%; 18,18%; 45,45%; dan 45,45%, sedangkan pada konsentrasi 2% dan 2,5% penurunan serangan tidak berbeda dengan insektisida kimia (kontrol positif) yaitu 45,45%. Persentase serangan pada perlakuan asap cair dari serbuk gergaji masing-masing 40%; 40%; 33,33%; dan 20% dengan penurunan serangan sebesar 33,33%; 33,33%; 44,45%; dan 66,67%. Bahkan penurunan serangan pada perlakuan 2,5% lebih besar daripada kontrol positif (55,55%). Persentase serangan pada perlakuan asap cair dari tempurung kelapa masing-masing 53,33%; 33,33%; 33,33%; dan 20% dengan penurunan serangan masing-masing 20%; 50%; 50%; dan 70%. Penurunan serangan pada perlakuan 2,5% lebih besar daripada kontrol positif (59,99%). Sementara itu persentase serangan pada perlakuan asap cair dari sekam padi masing-masing 60%; 53,33%; 40%; dan 33,33% dengan penurunan serangan sebesar 10%; 20%; 40%; dan 50%. Penurunan serangan pada seluruh perlakuan asap cair dari sekam padi masih di bawah kontrol positif (80%). Semua asap cair yang digunakan pada semua konsentrasi mampu menurunkan serangan PBKo sebesar 9,08%–70,00%. Asap cair dari tempurung kelapa dan serbuk gergaji pada konsentrasi 2,5% mampu menurunkan serangan PBKo yang lebih besar daripada penggunaan insektisida kimia. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian Wiyantono & Minarni (2009) yang melaporkan bahwa asap cair dari tempurung kelapa bersifat *antifeedant* terhadap hama *Crociodolomia pavonana*.

Hama PBKo menyerang buah kopi sejak buah berada di pohon dan terus berkembang meskipun buah telah jatuh ke tanah bahkan buah telah di simpan dalam gudang. Perilaku serangga betina pada buah kopi, yaitu: 1) serangga betina mulai penetrasi eksokarp, 2) PBKo penetrasi buah tapi belum sampai endosperm, 3) kumbang mulai melubangi endosperm tetapi belum meletakkan telur, dan 4) PBKo memproduksi *gallery* pada endosperm dan satu atau lebih *immature* ditemukan dalam endosperm (Bustillo *et al.*, 1998 dalam Jaramillo *et al.*, 2009). Fungsi asap cair yang mengandung senyawa sebagai *antifeedant* ini akan berperan efektif dalam mencegah imago betina untuk menggerek buah kopi.



Gambar 5. Persentase serangan PBKo setelah perlakuan asap cair
Figure 5. Percentage of CBB attacks after liquid smoke treatment



Gambar 6. Persentase penurunan serangan PBKo setelah perlakuan asap cair
Figure 6. Percentage of attacks decrease of CBB after liquid smoke treatment

KESIMPULAN

Semua asap cair yang diuji bersifat insektisidal terhadap imago PBKo. Kandungan senyawa kimia terbesar dari asap cair yang diduga bersifat insektisidal terhadap imago PBKo adalah *benzenesulfonic acid 4-hydroxy* dan *acetic acid*. Asap cair dari tempurung kelapa pada konsentrasi 2,5% menyebabkan mortalitas imago PBKo tertinggi yaitu 48,87%, dengan tingkat serangan 20% dan penurunan serangan 70%. Asap cair dari tempurung kelapa paling berpotensi untuk digunakan sebagai pengendali PBKo. Pengujian lebih lanjut masih

sangat diperlukan untuk mengetahui efisiensi penggunaan asap cair dalam pengendalian hama dan penghitungan skala ekonomi dari penggunaan asap cair.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan kepada Bapak Sumantri, Euis, dan Rafi yang telah membantu dalam kegiatan penelitian ini. Terima kasih juga disampaikan Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian atas dana penelitian yang telah dialokasikan melalui DIPA Balai

Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar, tahun anggaran 2016.

DAFTAR PUSTAKA

- Adfa, M., Kusnanda, A. J., Saputra, W. D., Banon, C., Efdi, M., & Koketsu, M. (2017). Termiticidal activity of toona sinensis wood vinegar against *Coptotermes curvignathus* Holmgren. *Rasayan Journal of Chemistry*, *10*(4), 1088–1093. <https://doi.org/10.7324/RJC.2017.1041866>
- Ariyani, D., & Mujiyanti, D.R., Umaningrum, D., Harlianto, Y. A. (2015). Studi kajian kandungan senyawa pada asap cair dari sekam padi. *Prosiding Seminar Nasional Kimia*, 128–133.
- Aryawan, A. A. K., & Bambang, T.R., Astuti, L. P. (2013). Potensi asap pembakaran tempurung kelapa dalam pengendalian hama *Rhyzopertha dominica* F. (Coleoptera: Bostrichidae) pada gabah dalam simpanan. *Jurnal HPT*, *1*(1), 6–15.
- Brun, L. ., Gaudichon, V., & Wigley, P. . (1993). An artificial diet for continuous rearing of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae). *Insect Sci. Applic.*, *14*(5/6), 585–587.
- Celestino, F. N., Pratisoli, D., Machado, L. C., Gonçalves, H. J., Junior, S., Queiroz, V. T. De, & Mardgan, L. (2016). Control of coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) with botanical insecticides and mineral oils. *Acta Scientiarum Agronomy*, *38*(1), 1–8. <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v38i1.27430>
- Chalermnan, Y., & Peerapan, S. (2009). Wood vinegar: by-product from rural charcoal kilns and its role in plant protection. *Asian Journal of Food and Agro-Industry*, (189–195), 189–195.
- Hayata, H. (2016). Hubungan persentase serangan hama penggerek buah kopi (*Hypothenemus hampei* Ferr. (Coleoptera: Curculionidae) dengan dugaan kehilangan hasil di Kecamatan Betara Tanjung Jabung Barat. *Jurnal Media Pertanian*, *1*(2), 85–90.
- Jaramillo, J., Chabi-olaye, A., Borgemeister, C., Kamonjo, C., Poehling, H. M., & Vega, F. E. (2009). Where to sample? Ecological implications of sampling strata in determining abundance and impact of natural enemies of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*. *Biological Control*, *49*(3), 245–253. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2008.12.007>
- Loppies, J. E. (2016). Karakteristik arang kulit buah kakao yang dihasilkan dari berbagai kondisi pirolisis. *Jurnal Industri Hasil Perkebunan*, *11*(2), 105–111.
- Mendesil, E., Tadesse, M., & Negash, M. (2012). Efficacy of plant essential oils against two major insect pests of coffee (Coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*, and antestia bug, *Antestiopsis intricata*) and maize weevil, *Sitophilus zeamais*. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, *45*(3), 366–372. <https://doi.org/10.1080/03235408.2011.587286>
- Nugroho, A., & Aisyah, I. (2013). Efektivitas asap cair dari limbah tempurung kelapa sebagai biopestisida benih di gudang penyimpanan. *Jurnal Penelitian Hasil Hutan*, *31*(1), 1–8.
- Reta, K.B. (2013). Pembuatan asap cair dari kelapa, tongkol jagung, dan bambu menggunakan proses slow pyrolysis. *Jurnal Penelitian Mahasiswa Teknik Sipil dan Teknik Kimia 1*(1)-1-10.
- Santoso, R. S. (2016). Characterization of liquid smoke from coconut shell as a natural pesticide for *Hexamitodera semivelutinia* Beetle on Clove Trees. *International Journal of Applied Chemistry*, *12*(3), 389–397.
- Soedijo, S., Pramudi, M. I., & Aisah, S. (2015). Introduction study of potential of natural insecticide liquid smoke from solid waste oil palm to brown planthopper (*Nilaparvata lugens* Stall) in South Kalimantan. *Asian Journal of Applied Sciences*, *03*(01), 196–198.
- Subawa, I. ., & Sudarsono, H. (2011). Serangan hama bubuk buah kopi (*Hypothenemus hampei*, Coleoptera: Scolytidae) pada sistem agroforestri sederhana VS. sistem agroforestri komplek di Lampung. *Prosiding Siminar Nasional Sains Dan Teknologi IV*, (November), 329–337.
- Tiilikkala, K., Fagernäs, L., & Tiilikkala, J. (2010). History and use of wood pyrolysis liquids as biocide and plant protection product. *The Open Agricultural Journal*, *4*, 111–118.
- Tima, S. L. T., Yopi, & Ifa, L. (2016). Pemanfaatan asap cair kulit biji mete sebagai pestisida. *Journal of Chemical Proses Engineering*, *01*(02), 16–22.
- Wagiman, F. X., Ardiansyah, A., & Witjaksono. (2014). Activity of coconut-shell liquid-smoke as an insecticide on the rice brown planthopper (*Nilaparvata lugens*). *ARPN Journal of Agricultural and Biological Science*, *9*(9), 293–296.
- Wiradiputra, S. (2012). Keefektifan insektisida Cyantraniliprole terhadap hama penggerek buah kopi (*Hypothenemus hampei*) pada kopi arabika. *Pelita Perkebunan*, *28*(2), 100–110.

Wititsiri, S. (2011). Production of wood vinegars from coconut shells and additional materials for control of termite workers, *Odontotermes* sp. and striped mealy bugs, *Ferrisia virgata*. *Songklanakar J. Sci. Technol.*, 33(3), 349–354.

Wiyantono, & W, M. (2009). Kajian Potensi Aap Cair dalam Mengendalikan Uat Krop Kubis, *Crocidolomia pavonana*. *Jurnal Pembangunan Pedesaan*, 9(1), 50–56.

Journal
**TANAMAN INDUSTRI
 DAN PENYEGAR**
 Journal of Industrial and Beverage Crops
 Volume 5, Nomor 3, November 2018

**EVALUASI KESERAGAMAN KLONAL PADA ENAM KLON KAKAO UNGGUL
 BERDASARKAN MARKA SSR**

*EVALUATION OF CLONAL UNIFORMITY IN SIX SUPERIOR CACAO CLONES
 BASED ON SSR MARKER*

* Indah Sulistiyorini¹⁾, Rubiyo²⁾, dan Sudarsono³⁾

¹⁾ **Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar**

Jalan Raya Pakuwon Km 2 Parungkuda, Sukabumi 43357 Indonesia

* *i_sulistiyorini@yahoo.com*

²⁾ **Balai Besar Pengkajian dan Pengembangan Teknologi Pertanian**

Jalan Tentara Pelajar No 10. Bogor 16114 Indonesia

³⁾ **Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor**

Jalan Meranti, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680 Indonesia

(Tanggal diterima: 2 Mei 2018, direvisi: 7 Juli 2018, disetujui terbit: 30 November 2018)

ABSTRAK

Perbanyakan bahan tanam unggul kakao umumnya dilakukan secara vegetatif (klonal). Oleh karena itu, tanaman yang diperbanyak secara klonal harus memiliki keseragaman genetik. Keseragaman 135 genetik dalam klon kakao juga sangat penting untuk konservasi plasma nutfah dan mendapatkan tetua persilangan yang murni. Evaluasi keseragaman genetik dapat diketahui melalui marka *simple sequence repeats* (SSR). Tujuan penelitian adalah mengetahui keseragaman genetik pada enam klon kakao unggul berdasarkan marka SSR. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Terpadu, Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar, Sukabumi dan Laboratorium Biologi Molekuler Tanaman, IPB, Bogor mulai bulan September 2015 sampai Desember 2016. Enam klon kakao yang digunakan adalah TSH 858, TSH 908, ICS 13, PA 300, GC 7, dan UIT yang berasal dari Kebun Percobaan Kalitelepak PTPN XII, Kecamatan Genteng, Banyuwangi, Jawa Timur. Sepuluh tanaman sampel diambil dari masing-masing klon secara acak untuk isolasi DNA. Amplifikasi DNA dilakukan dengan menggunakan 12 marka SSR. Hasil penelitian menunjukkan 12 marka SSR yang digunakan menghasilkan 45 alel dengan jumlah alel per lokus adalah 3–4 alel. Nilai *polymorphic information content* (PIC) berkisar 0,37–0,67 yang tergolong sangat informatif untuk mengidentifikasi keragaman genetik populasi kakao. Hasil analisis menunjukkan bahwa enam primer SSR menghasilkan pola pita yang tidak seragam pada klon TSH 858 dan UIT yang mengindikasikan adanya *off type* sebanyak 8,33%, sedangkan pada empat klon kakao yang lain (GC 7, ICS 13, PA 300, dan TSH 908) lebih seragam secara genetik.

Kata kunci: Kakao, keseragaman genetik, klon, marka SSR

ABSTRACT

Propagation of cacao plants is generally carried out vegetatively. Therefore, plants that are clonally propagated should be genetically uniform. Genetic uniformity in cacao clones is also very important information for germplasm conservation and in obtaining pure parental crosses. Evaluation of genetic uniformity can be seen through analysis using SSR markers. This study aimed to determine the genetic uniformity in six cacao clones using SSR markers. This experiment was conducted at IBCRI Integrated Laboratory in Sukabumi and Plant Molecular Biology Laboratory, IPB Bogor, from September 2015 to December 2016. Six cacao clones used (TSH 858, TSH 908, ICS 13, PA 300, GC 7 and UIT) are from Kalitelepak experimental station of PTPN XII, Genteng District, Banyuwangi, East Java. Ten samples were taken randomly to represent cacao clones. DNA

amplification was carried out using 12 SSR markers. The result showed that 12 SSR markers generated 45 alleles with the number of alleles per locus was 3-4 alleles. The polymorphic information content (PIC) ranges from 0.37–0.67, which are identified as very informative molecular analysis in identifying the genetical uniformity of the evaluated cacao population. Six SSR loci generated variant alleles within both the TSH 858 and UIT clones, indicating there are off-type plants in these two samples. Clonal uniformity were detected for samples of the GC 7, ICS 13, PA 300 and TSH 908 clones. On the other hand, 8.33% of evaluated samples within the TSH 858 and UIT clones were off-type plants.

Keywords: Cacao, clone, genetic uniformity, SSR markers

PENDAHULUAN

Peningkatan produktivitas dan mutu biji kakao memerlukan ketersediaan bahan tanaman yang unggul dan bermutu. Hal itu dapat dilakukan melalui perbanyakan secara vegetatif dan generatif. Pada umumnya, penyediaan bahan tanam dilakukan secara vegetatif, melalui okulasi, setek, sambung samping, sambung pucuk, dan kultur jaringan (Ardiyani & Yuliasmara, 2015). Perbanyakan vegetatif terbentuk dari sel somatik berdasarkan pada pembelahan sel secara mitosis dan menghasilkan dua sel anak yang memiliki sifat dan jumlah kromosom yang sama dengan induknya. Tanaman yang diperbanyak secara vegetatif (klonal) mempunyai susunan genetik yang identik dan stabil (Syukur, Sujiprihati, & Yunianti, 2015).

Klon-klon unggul kakao banyak dimanfaatkan sebagai tetua untuk menghasilkan hibrida maupun sebagai sumber entres. Kebun entres merupakan sumber pertama bahan entres yang harus mempunyai kemurnian 100% (Permentan, 2013). Kebun kakao Kalitelepak milik PTPN XII yang berlokasi di Genteng, Banyuwangi, Jawa Timur merupakan salah satu kebun kakao yang memiliki beberapa koleksi klon unggul yang dimanfaatkan sebagai sumber entres. Klon-klon kakao yang digunakan sebagai sumber entres harus dijaga kemurniannya dengan cara mengamati karakter morfologi tanaman. Klon kakao yang murni dapat ditunjukkan melalui kestabilan dan keseragaman genetik klon tersebut. Informasi kestabilan genetik suatu klon sangat penting diketahui untuk memastikan homogenitas genetik dari suatu tanaman, menjaga karakteristik klon tersebut, serta untuk konservasi plasma nutfah yang digunakan sebagai sumber perbanyakan secara massal (Cruz-Martínez *et al.*, 2017). Mahdi, Hare, Maliheh, Mohsen, & Mahdieh (2015) menyebutkan identifikasi keseragaman dan kestabilan tanaman dapat diketahui dengan penanda (marka) genetik yaitu marka morfologi, marka biokimia (isozim), dan marka DNA (molekuler). Dari ketiga penanda tersebut, penanda molekuler memiliki keuntungan antara lain bersifat stabil dan dapat dideteksi dalam semua jaringan tanaman serta tidak dipengaruhi oleh lingkungan.

Simple sequence repeats (SSR) atau mikrosatelit merupakan salah satu penanda DNA berbasis PCR. SSR terdiri atas pengulangan beberapa basa nukleotida, berupa dinukleotida, trinukleotida, atau tetranukleotida, yang tersebar disepanjang genom kebanyakan spesies eukariotik. SSR dapat ditemukan pada genom inti sel, mitokondria, dan kloroplas yang tersebar secara acak (Powell, Machray, & Provar, 1996). Kelebihan marka mikrosatelit adalah jumlahnya banyak di dalam genom tanaman, bersifat polimorfik, mudah dideteksi dengan PCR, waktu deteksi yang dibutuhkan singkat, bersifat *co-dominan*, dan membutuhkan DNA dalam jumlah sedikit. Selain itu, marka mikrosatelit juga mampu membedakan individu yang heterozigot maupun homozigot (Kalia, Rai, Kalia, Singh, & Dhawan, 2011).

Marka SSR telah banyak dimanfaatkan oleh para peneliti, di antaranya untuk identifikasi duplikasi dan kesalahan pelabelan pada koleksi plasma nutfah kakao (Saunders, Mischke, & Leamy 2004) dan untuk mengidentifikasi keaslian klon kakao pada kebun koleksi plasma nutfah di Malaysia (Johnsiul & Awang 2016). Selain itu, marka SSR juga dimanfaatkan untuk mendeteksi keseragaman dan kestabilan genetik pada beberapa tanaman, antara lain pada kelapa sawit untuk pengendalian mutu dalam memproduksi klon kelapa sawit pada skala komersial (Singh, Nagappan, Tan, Panandam, & Cheah, 2007), tanaman tebu hasil kultur jaringan (Pandey, Singh, Rastogi, Sharma, & Singh, 2012), tanaman anggur (Nookaraju & Agrawal, 2012), dan tanaman kelapa hasil kultur jaringan (Bandupriya *et al.*, 2017). Pada tanaman kakao, proses identifikasi keseragaman dan kemurnian genetik selama ini masih banyak dilakukan berdasarkan karakter morfologi yang dipengaruhi oleh faktor lingkungan. Oleh karena itu, penggunaan marka molekuler perlu dilakukan untuk mengetahui keseragaman dan kemurnian genetik tanaman kakao yang diperbanyak secara klonal.

Penelitian bertujuan mengetahui keseragaman genetik pada enam klon kakao unggul di kebun koleksi Kalitelepak PTPN XII Genteng, Banyuwangi, Jawa Timur, berdasarkan marka SSR.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Terpadu, Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar (Balittri), Sukabumi dan Laboratorium Biologi Molekuler Tanaman, Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor. Penelitian dilaksanakan mulai bulan Desember 2015 sampai Juni 2016.

Materi Tanaman

Sampel tanaman kakao yang digunakan adalah enam klon kakao unggul, yaitu ICS 13, GC 7, PA 300, TSH 858, TSH 908, dan UIT yang berasal dari Kebun Koleksi Kalitelepak PTPN XII, Banyuwangi, Jawa Timur. Klon kakao tersebut merupakan hasil okulasi dengan batang bawah berasal dari benih komposit yang telah berumur 24 tahun. Tanaman kakao tersebut ditanam secara poliklonal dengan jarak tanam 2,5 x 2,5 m. Pada 10 tanaman sampel masing-masing klon diambil daun muda secara acak untuk isolasi DNA.

Isolasi DNA dan Penentuan Kualitas DNA

Isolasi DNA dilaksanakan di Laboratorium Terpadu, Balittri menggunakan metode

cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) (Allen, Flores-Vergara, Krasynanski, Kumar, & Thompson, 2006; Rogrio *et al.*, 2014). Dari kedua metode tersebut dilakukan modifikasi dengan menambahkan *polyvinylpyrrolidone* (PVP) pada proses ekstraksi DNA. Daun muda dari masing-masing sampel ditimbang kurang lebih 0,3–0,35 g, dihaluskan dengan mortar dengan menambahkan nitrogen cair kemudian ditambahkan 0,05 g PVP, 5 µl 2-mercaptoetanol, dan 1,5 ml buffer ekstrak (2% CTAB, 1,4 M NaCl, 100 mM Tris HCl pH 8,0, dan 20 mM EDTA).

DNA hasil isolasi diuji kualitas dan kuantitasnya untuk melihat konsentrasi dan kemurnian DNA. Pengujian kualitas DNA menggunakan elektroforesis gel agarose bertujuan mengetahui DNA yang dihasilkan tidak banyak terkontaminasi oleh protein, lemak, karbohidrat, polyvenol, dan kontaminan lainnya. DNA yang tidak terkontaminasi akan menghasilkan garis pita yang bersih. Sementara pengujian kuantitas DNA dilakukan menggunakan nanodrop 2000 spectrophotometer. DNA yang mempunyai nilai rasio A260/A280 antara 1,8–2 menunjukkan tidak ada kontaminasi RNA sehingga dapat digunakan untuk proses selanjutnya, yaitu amplifikasi DNA.

Tabel 1. Marka SSR yang digunakan untuk analisis keseragaman genetik enam klon kakao unggul

Table 1. SSR markers used in analyzing genetic uniformity of six superior cacao clones

Nama Lokus	Urutan basa nukleotida primer SSR	Jumlah basa	Ukuran alel	Suhu penempelan (°C)
mTcCIR 69	F: GGACATCGGTGTCCATCAG	20	208	55,6
	R: TGCTATGAGATTGAAAGAGAATTGA	25		52,4
mTcCIR 76	F: GAAAATGGGGGTCTTTGGT	20	196	53,3
	R: AGGCGAAGAGGGAGAAGAAG	20		56,3
mTcCIR 82	F: GCAATCATGTGCCCTTCTA	20	206	55,2
	R: AAGCTTATTGCGGAAGACA	20		54,5
mTcCIR 145	F: TGGAAGGCTGTCCAAAATTC	20	241	50,2
	R: TGTTTGTGTCTGGCTTTTGC	20		49,7
mTcCIR 155	F: CTTAGAGGCTTGTGCCGTGA	20	197	57,2
	R: GCCATGCCAATTTCCAATAA	20		51,7
mTcCIR 190	F: CTGAAGCACAATTATCCATCAA	23	172	53,7
	R: CCAATTGCTCCACAAAGAGC	20		54,6
mTcCIR 209	F: TGTCCTTCACATAAGCCATGA	21	243	53,8
	R: TGTTGCCCTTCCTTGTTAGG	20		55,0
mTcCIR 213	F: GATCTCGCAAACTAACA	18	261	47,1
	R: TAAGTAAAATGAAGGTGTGA	20		46,3
mTcCIR 251	F: TCATGCCAGTGACACAAAT	20	228	54,8
	R: AATGGACTGGAGCATGGAAG	20		54,9
mTcCIR255	F: GCCTTACAGCATTCCCATGA	20	193	55,2
	R: ATCTGCAGGACTTGACCAC	20		57,1
mTcCIR 268	F: TGTAATCCAAATAATAAGCAT	21	316	44,9
	R: CAGTGAAGAGGCAAGAGA	18		51,3
mTcCIR 291	F: TTGCAATTGTCCCAAGCATA	20	212	52,8
	R: ATGTCAAGCATGGCAGTGT	20		55,3

Sumber : Kurniasih *et al.*, 2011

Source: Kurniasih *et al.*, 2011

Analisis Marka SSR

Sampel DNA kakao diamplifikasi menggunakan 12 primer SSR yang dikembangkan oleh Lanaud *et al.*, (1999) dan Pugh *et al.* (2004) yang telah didesain ulang urutan nukleotidanya oleh Kurniasih, Rubiyo, Setiawan, Purwantara, & Sudarsono (2011) (Tabel 1). Amplifikasi DNA dilakukan menggunakan mesin PCR (*thermal cycler*). Total volume reaksi PCR adalah 15 µl terdiri dari 2 µl DNA *template* (konsentrasi 10 ng), 0,3 µl primer mix (*forward* dan *reverse*) dengan konsentrasi 10 pmol, 7,5 µl PCR mix (*Kapa Biosystems Inc., USA*) dan ditambah dengan *ultra purewater* (ddH₂O) steril hingga mencapai volume akhir total 15 µl.

Proses PCR dimulai dengan denaturasi awal (94°C; 3 menit), diikuti 35 siklus dimulai dengan denaturasi (94°C; 15 detik), *annealing* (53–55°C; 15 detik), dan perpanjangan (*extension*) (72°C; selama 15 detik). Tahap terakhir adalah perpanjangan akhir (*final extension*) (72°C selama; 10 menit) dan pendinginan (*cooling*) (16°C; 5 menit). Evaluasi hasil amplifikasi PCR dilakukan dengan menggunakan elektroforesis gel agarose 1%.

DNA hasil amplifikasi PCR diseparasi dengan teknik elektroforesis menggunakan gel akrilamid 6% yang mengandung Urea. Produk PCR diambil sebanyak 2 µl dan ditambahkan 3 µl *loading buffer* (10mM EDTA, 98% formaldehyde, 0,01% xylene cyanol, 0,01% bromophenol blue), kemudian dihomogenkan dan didenaturasi (94°C; 10 menit). Proses elektroforesis dilakukan selama 2,5 jam pada mesin elektroforesis Cole-Parmer®Dedicated Height Sequencers (3000 volt; 300 mA; 65 Watt).

Pemisahan produk PCR divisualisasikan dengan pewarnaan perak nitrat yang telah dimodifikasi (Creste, Neto, & Figueira, 2001). Proses pewarnaan terdiri atas lima tahapan. Tahap pertama adalah fiksasi gel selama 10 menit dengan cara membilas kaca menggunakan aquades selama 1 menit. Tahap kedua adalah merendam kaca dengan *nitrit acid* selama 3 menit, kemudian dibilas dengan aquades selama 1 menit. Tahap ketiga adalah pewarnaan perak nitrat selama 20 menit, kemudian ditambahkan larutan *developing* (1,5 ml formaldehid dan 200 µl sodium thiosulfate) sebelum proses pewarnaan berakhir. Selanjutnya, kaca dicuci dengan aquades secara cepat sekitar 5–10 detik. Tahap keempat yaitu tahap *developer* selama 5–7 menit sampai muncul pita pada kaca. Tahap kelima adalah *reaction stop* selama 5 menit, kemudian kaca dicuci selama 5 menit menggunakan aquades sebanyak 1 liter. Setelah perwarnaan, kaca dikeringanginkan dan didokumentasikan.

Skoring dan Analisis Data

Skoring dilakukan terhadap posisi alel hasil amplifikasi PCR untuk masing-masing lokus SSR. Hasil skoring kemudian dianalisis dengan menggunakan software Cervus 2.0 (Marshall, Slate, Kruuk, & Pemberton, 1998) untuk mendapatkan data alel frekuensi, *polymorphic information content* (PIC), *observed heterozygosity* (Ho), dan *Expected heterozygosity* (He). Selain itu, juga dilakukan analisis gerombol (*clustering analysis*) menggunakan software *Dissimilarity Analysis and Representation for WINDOWS* (DARwin) v.6 (Perrier & Jacquemoud-Collet., 2010) dan indeks disimilaritas (*genetic distance*) untuk menduga keseragaman dalam klon kakao.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Marka SSR

Marka SSR merupakan marka multi alel sehingga dapat diperoleh informasi mengenai jumlah alel dari setiap primer yang digunakan. Hasil analisis menggunakan 12 marka SSR menghasilkan alel sebanyak 45 alel (Tabel 2), dengan rata-rata jumlah alel sebanyak 3,5 per lokus. Jumlah alel yang dihasilkan pada penelitian ini berbeda dengan hasil penelitian sebelumnya, meskipun menggunakan marka SSR yang sama (Kurniasih, Rubiyo, Setiawan, & Sudarsono, 2011; Rubiyo, Izzah, Sulistiyorini, & Tresniawati, 2015); Wicaksono, Rubiyo, Sukma, & Sudarsono, 2017). Perbedaan jumlah alel yang dihasilkan dengan penelitian sebelumnya diduga disebabkan perbedaan jenis populasi yang digunakan dalam penelitian. Sebagai contoh lokus mTcCIR 155 menghasilkan 4 alel pada penelitian ini, namun pada penelitian yang dilakukan Kurniasih *et al.*, (2011) menghasilkan 8 alel, dan pada penelitian Rubiyo *et al.*, (2015) menghasilkan 3 alel.

Nilai PIC yang dihasilkan dalam penelitian ini 0,37–0,67 (Tabel 2). Nilai PIC merupakan nilai suatu marka yang menunjukkan polimorfisme pada sebuah populasi. Nilai PIC ditentukan berdasarkan jumlah alel yang terdeteksi dan distribusi frekuensinya. Jumlah variasi alel dan frekuensinya tergantung dari keragaman genetik pada populasi yang diamati (Nagy *et al.*, 2012). Mateescu *et al.* (2005) mengategorikan nilai PIC menjadi 3 kelompok yaitu sangat informatif (>0,60), cukup informatif (0,30–0,59), dan tidak informatif (<0,30). Primer mTcCIR 69, mTcCIR 209, mTcCIR 213, dan mTcCIR 251 yang digunakan dalam penelitian ini diketahui mempunyai nilai PIC dengan kategori sangat informatif, sedangkan primer yang lainnya termasuk kategori cukup informatif. Marka dengan kategori nilai PIC sangat informatif dapat dimanfaatkan untuk analisis keragaman genetik pada populasi kakao lainnya.

Ditinjau dari nilai heterozigositas, primer mTcCIR 251 mempunyai nilai Ho tertinggi (1,00), sedangkan primer mTcCIR 255 mempunyai nilai Ho terendah (0,28) (Tabel 2). Nilai Ho menunjukkan jumlah penyebaran gen atau alel yang diamati pada suatu populasi. Marka yang mempunyai nilai Ho lebih besar dari He menunjukkan bahwa lokus tersebut memiliki tingkat Ho yang tinggi (Govindaraj, Vetriventhan, & Srinivasan, 2015). Primer dengan nilai Ho tinggi berpeluang lebih besar untuk mendeteksi lebih banyak alel yang terdapat pada suatu populasi tanaman.

Pendugaan parameter genetik juga dilakukan pada masing-masing klon kakao. Hasil analisis menunjukkan nilai Ho pada semua klon lebih tinggi dibanding nilai He (Tabel 3). Hal itu menunjukkan bahwa klon-klon tersebut mempunyai tingkat

heterozigositas yang tinggi. Tingkat Ho yang tinggi pada klon kakao dipengaruhi oleh sifat tanaman kakao yang menyerbuk silang. Hasil penelitian terdahulu menyatakan bahwa populasi tanaman yang mempunyai nilai Ho tinggi merupakan materi genetik unggul karena mempunyai keragaman alel yang tinggi yang diperlukan dalam program pemuliaan (Izzah *et al.*, 2013). Selain itu, tingkat Ho yang tinggi juga berpengaruh pada teknik perbanyakan tanaman yang ideal. Hasil pendekatan molekuler membuktikan bahwa teknik perbanyakan yang direkomendasikan pada tanaman kakao adalah secara vegetatif (klonal), agar diperoleh bibit yang seragam dan bermutu. Pada penelitian ini juga ditemukan adanya alel spesifik yang hanya ditemukan pada klon PA 300 (0,25) dan UIT (0,17) (Tabel 3).

Tabel 2. Karakteristik berbagai primer mTcCIR berdasarkan jumlah alel per primer (Na), *Polymorphic Information content* (PIC), heterozigositas yang diamati (Ho) dan heterozigositas harapan (He) yang dihasilkan dari 12 lokus SSR

Table 2. Characteristics of some mTcCIR primers based on number of alleles per primer (Na), *Polymorphic Information content* (PIC), observed heterozygosity (Ho) and expected heterozygosity (He) generated from 12 SSR loci

Nama primer	Na	PIC	Ho	He
mTcCIR 69	4	0.68	0.66	0.74
mTcCIR 76	3	0.37	0.51	0.41
mTcCIR 82	3	0.45	0.81	0.54
mTcCIR 145	4	0.51	0.83	0.58
mTcCIR 155	4	0.55	0.83	0.60
mTcCIR 190	3	0.59	0.83	0.67
mTcCIR 209	4	0.65	0.65	0.71
mTcCIR 213	4	0.67	0.78	0.73
mTcCIR 251	4	0.65	1.00	0.71
mTcCIR 255	3	0.44	0.28	0.55
mTcCIR 268	3	0.50	0.83	0.57
mTcCIR 291	3	0.59	0.35	0.67
Rata-rata	3.5	0.55	0.62	0.62

Keterangan : Na = Jumlah alel per primer, PIC = *Polymorphic Information content*, Ho = heterozigositas yang diamati He = heterozigositas harapan yang dihasilkan dari 12 lokus SSR

Note : Na = The number of primer alleles, PIC = *Polymorphic Information content*, Ho = observed heterozygosity, He = promising heterozygosity generated from 12 loci

Tabel 3. Karakteristik enam klon kakao berdasarkan marka SSR

Table 3. Characteristics of six cacao clones based on SSR markers

Nama Klon	Jumlah alel (Na)	alel efektif (Ne)	alel spesifik	Ho	He
TSH 858	2.00	1.80	0.00	0.418	0.398
TSH 908	1.58	1.58	0.00	0.307	0.291
ICS 13	1.92	1.92	0.00	0.482	0.458
PA 300	1.33	1.33	0.25	0.175	0.167
UIT	2.17	2.02	0.17	0.501	0.476
GC 7	1.75	1.75	0.00	0.395	0.375

Keterangan : Na = jumlah alel, Ne = rata-rata jumlah alel spesifik, Ho = nilai heterozigositas harapan, He = heterozigositas teramat pada masing-masing klon kakao berdasarkan 12 marka SSR

Note : Na = The number of alleles, Ne = average of specific alleles, Ho = promising heterozygosity, He = observed heterozygosity of each cacao clones based on 12 SSR markers

Kedua alel spesifik ini dapat digunakan untuk membedakan kedua klon tersebut dari klon kakao yang lain. Dengan demikian, alel spesifik ini dapat dimanfaatkan untuk program perlindungan tanaman dan pengujian *Distinctness, uniformity, and stability* (DUS) (Izzah *et al.*, 2013).

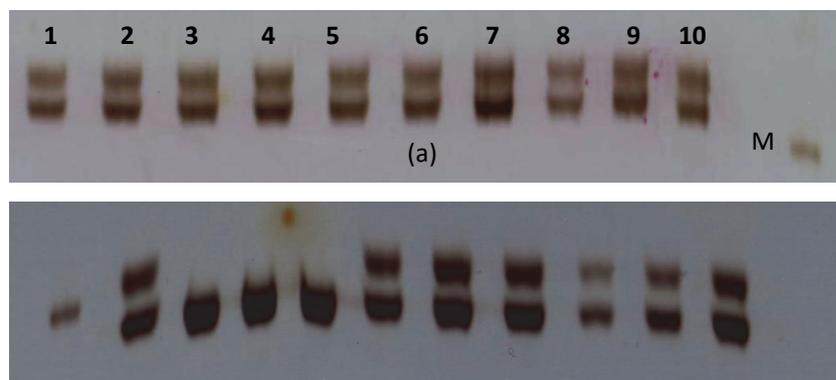
Analisis Keseragaman Genetik Klon Kakao

Keseragaman di dalam klon kakao secara molekuler dapat dilihat berdasarkan pola pita yang dihasilkan pada masing-masing marka SSR. Pola pita yang dihasilkan marka SSR tersebut menunjukkan posisi alel dari keenam sampel DNA kakao yang digunakan. Analisis keseragaman genetik pada tanaman yang diperbanyak secara vegetatif perlu dilakukan untuk menjamin tersedianya benih yang seragam dan bermutu. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan Bandupriya *et al.* (2017) yang mendapatkan planlet kelapa hasil somatik embriogenesis dengan pola pita seragam berdasarkan marka SSR, dan mengindikasikan bahwa plantlet tersebut merupakan *true-to type*. Pada penelitian ini, 12 marka SSR yang digunakan berhasil mendeteksi keseragaman pola pita semua sampel tanaman pada empat klon kakao, yaitu klon GC 7, ICS 13, PA 300, dan TSH 908. Sementara pada dua klon yang lain (TSH 858 dan UIT) hanya enam marka SSR yang menghasilkan pola pita seragam pada semua sampel tanaman, sedangkan enam marka yang lain (primer mTcCIR 76, mTcCIR 82, mTcCIR 291, mTcCIR 145, mTcCIR 213, dan mTcCIR 255) menghasilkan pola pita tidak seragam. Marka SSR yang menghasilkan pola pita seragam dan tidak seragam pada enam klon kakao dapat dilihat pada Gambar 1.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa primer mTcCIR 76 dan mTcCIR 82 menghasilkan pola pita

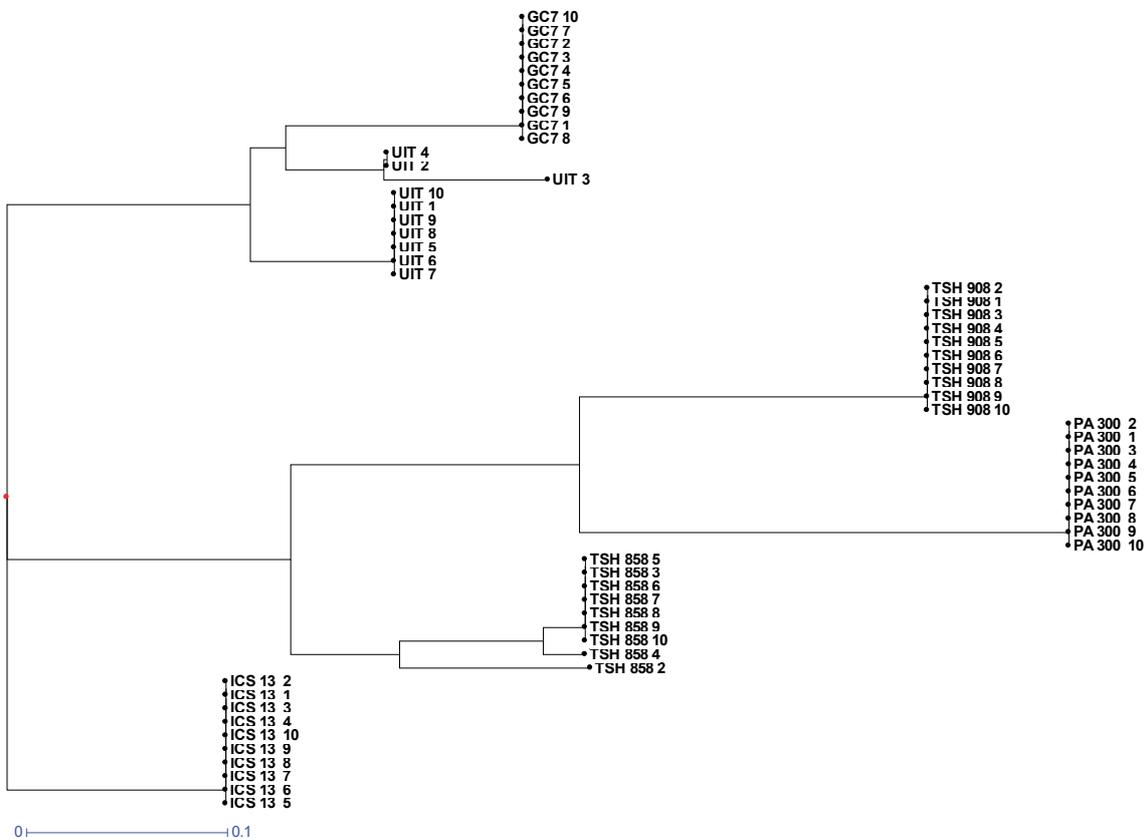
tidak seragam pada sampel tanaman nomor 2 dari klon TSH 858. Primer mTcCIR 291 menghasilkan pola pita berbeda pada sampel tanaman nomor 3. Sedangkan primer mTcCIR 255 dan mTcCIR 213 menghasilkan pola pita berbeda pada sampel tanaman nomor 2, 3, 4 dari klon UIT, dan primer mTcCIR 145 menghasilkan pola pita berbeda pada sampel tanaman nomor 3. Dengan demikian, jumlah sampel tanaman kakao yang teridentifikasi menghasilkan pola pita tidak seragam adalah 8,33% dari 60 sampel yang digunakan. Hasil penelitian ini membuktikan kemampuan marka SSR dalam mendeteksi ketidakseragaman di dalam klon TSH 858 dan UIT.

Klon merupakan bagian dari suatu tanaman tunggal yang melakukan diferensiasi secara mitosis sehingga tidak terjadi perubahan susunan genetik. Perbedaan yang muncul dalam suatu klon kemungkinan disebabkan oleh pengaruh faktor lingkungan, namun pengaruhnya tidak diwariskan pada generasi selanjutnya (Syukur *et al.*, 2015). Hasil analisis keseragaman genetik dengan menggunakan program DARwin v.6 menunjukkan adanya perbedaan keseragaman genetik pada beberapa klon kakao yang diuji (Gambar 2). Sepuluh sampel tanaman dari masing-masing klon GC 7, ICS 13, PA 300, dan TSH 908 terlihat mengelompok pada satu garis, yang menunjukkan sampel tanaman tersebut mempunyai tingkat kemiripan genetik 100%. Namun demikian, dua sampel daun tanaman dari klon TSH 858 terlihat tidak mempunyai kemiripan genetik 100% dengan 8 tanaman lain, hal yang sama juga terjadi pada tiga sampel daun tanaman klon UIT. Berdasarkan hasil analisis keseragaman genetik menunjukkan pada klon TSH 858 dan UIT terdapat tanaman *off-type*.



Gambar 1. Contoh alel hasil amplifikasi menggunakan primer mTcCIR 291 yang menghasilkan pita seragam (a) dan primer mTcCIR 255 yang menghasilkan pita tidak seragam pada sampel no. 2, 3, 4 dari klon UIT (b); no. 1-10: sampel DNA tanaman kakao; M: DNA ladder 200 bp.

Figure 1. Alleles profile generated from amplification of mTcCIR 291 primer that produced uniform bands (a) and mTcCIR 255 primer that showed variant allele on samples no. 2, 3, and 4 of UIT clone (b); number 1-10: DNA samples of cacao plant; M: 200 bp DNA ladder



Gambar 2. Dendrogram 60 tanaman kakao klonal yang berasal dari enam klon kakao berbeda (GC 7, UIT, TSH 858, PA 300, TSH 908, dan ICS 13) berdasarkan 12 marka SSR. Dendrogram dihasilkan dengan menggunakan metode *clustering* UPGMA.

Figure 2. Dendrogram of 60 clonal cacao plants derived from six cacao clones (GC 7, UIT, TSH 858, PA 300, TSH 908 dan ICS 13) based on 12 SSR markers. The dendrogram was generated using UPGMA clustering method.

Tanaman *off type* (tipe simpang/klon lain) adalah tanaman atau benih yang menyimpang dari sifat-sifat suatu varietas di luar batas kisaran yang telah ditetapkan (Permentan, 2013). Kehadiran tanaman *off-type* ini merupakan sumber yang sangat berperan dalam kontaminasi genetik karena kehadiran mereka yang secara terus menerus akan menurunkan kemurnian genetik dari varietas atau klon tersebut. Kehadiran tanaman *off-type* dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya adanya perubahan sifat genetik atau mutasi genetik, terjadinya penyerbukan yang tidak dikehendaki saat produksi benih, tercampur dengan benih lain, kesalahan dalam pengambilan entres, atau kesalahan pelabelan. Tanaman *off type* yang terdapat pada klon TSH 858 dan UIT diduga karena adanya kesalahan dalam pengambilan entres pada proses okulasi atau pemberian label yang salah pada sumber entres. Johnsiul

& Awang (2016) menyebutkan dalam kebun koleksi plasma nutfah kakao kemungkinan dapat terjadi kesalahan pelabelan atau memberikan label yang salah karena penilaian fenotipik yang tidak pasti. Ketidakseragaman genetik pada tanaman yang diperbanyak secara vegetatif juga dapat disebabkan oleh variasi somaklonal terutama pada tanaman yang diperbanyak melalui kultur jaringan. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Cahyaningsih, Wiendi, & Toruan-Mathius (2016) yang menyebutkan 5%–55% ramet berbeda dengan ortetnya karena proses kultur jaringan kelapa sawit melalui fase kalus, yang merupakan salah satu faktor penyebab terjadinya variasi antara ramet dan ortet.

Adanya tanaman *off-type* yang ditemukan pada 60 sampel tanaman kakao dalam penelitian ini memberikan informasi penting untuk melakukan

pemurnian kebun koleksi yang digunakan sebagai tempat pengambilan sampel penelitian. Informasi dari hasil penelitian ini juga mengindikasikan kemungkinan adanya tanaman *off-type* lainnya pada populasi tanaman kakao yang terdapat pada kebun koleksi. Oleh karena itu, penggunaan marka molekuler sangat direkomendasikan untuk menunjang pemurnian kebun induk ataupun kebun entres agar dapat mendeteksi adanya ketidakseragaman dalam masing-masing klon yang mirip secara fenotip.

KESIMPULAN

Dua belas marka SSR yang digunakan dalam penelitian ini berhasil mendeteksi keseragaman genetik dari klon GC 7, ICS 13, PA 300, dan TSH 908 sedangkan pada klon TSH 858 dan UIT ditemukan pola pita tidak seragam, yang ditunjukkan oleh primer mTcCIR 76, mTcCIR 82, mTcCIR 291, mTcCIR 255, mTcCIR 213, dan mTcCIR 145. Marka SSR yang menghasilkan pola pita tidak seragam terbukti sangat efektif untuk mengidentifikasi adanya tanaman *off-type* (sebanyak 8,33%) pada kedua klon tersebut.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Zikril Illahi, M.Si, Januar Firmansyah, SP, dan Tribuana Dewi yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian di Laboratorium. Terimakasih juga kami sampaikan kepada Nur Kholilatul Izzah SP., MP.,Ph.D yang telah memberikan masukan dan saran dalam melaksanakan penelitian dan penulisan KTI. Ucapan terima kasih kepada Badan Litbang Pertanian atas program beasiswa tugas belajar tahun anggaran 2014.

DAFTAR PUSTAKA

- Allen, G., Flores-Vergara, M., Krasynanski, S., Kumar, S., & Thompson, W. (2006). A modified protocol for rapid DNA isolation from plant tissues using cetyltrimethylammonium bromide. *Nat. Prot.*, 1(5), 2320–2325.
<https://doi.org/doi:10.1038/nprot.2006.384>
- Ardiyani, F., & Yuliasmara, F. (2015). Perbanyak tanaman kakao. In T. Wahyudi, Pujiyanto, & Misnawi (Eds.), *Kakao :Sejarah, Botani, Proses Produksi, Pengolahan, dan Perdagangan* (p. Hal 727). Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Bandupriya, H. D. D., Iroshini, W. W. M. A., Perera, S. A. C. N., Vidhanaarachchi, V. R. M., Fernando, S. C., Santha, E. S., & Gunathilake, T. R. (2017). Genetic fidelity testing using ssr marker assay confirms trueness to type of micropropagated *Coconut* (L.) plantlets derived from unfertilized ovaries. *The Open Plant Science Journal*, 10(1), 46–54.
<https://doi.org/10.2174/1874294701710010046>
- Cahyaningsih, Y. F., Wiendi, N. M. A., & Toruan-Mathius, N. (2016). Deteksi kestabilan genetik ramet kelapa sawit hasil kultur in vitro menggunakan ssr detection of genetic stability in ramet of oil palm derived from in vitro culture by SSR. *J.Agron. Indonesia*, 44(1), 83–90.
- Creste, S., Neto, A. T., & Figueira, A. (2001). Detection of single sequence repeat polymorphisms in denaturing polyacrylamide sequencing gels by silver staining. *Plant Molecular Biology Reporter*, 19(4), 299–306.
<https://doi.org/10.1007/BF02772828>
- Cruz-Martínez, V., Castellanos-Hernández, O. A., Acevedo-Hernández, G. J., Torres-Morán, M. I., Gutiérrez-Lomelí, M., Ruvalcaba-Ruiz, D., ... Rodríguez-Sahagún, A. (2017). Genetic fidelity assessment in plants of *Sechium edule* regenerated via organogenesis. *South African Journal of Botany*, 112, 118–122.
<https://doi.org/10.1016/j.sajb.2017.05.020>
- Govindaraj, M., Vetriventhan, M., & Srinivasan, M. (2015). Importance of genetic diversity assessment in crop plants and its recent advances : An overview of its analytical perspectives. *Genetics Research International*, 2015, 1–15.
- Izzah, N. K., Lee, J., Perumal, S., Park, J. Y., Ahn, K., Fu, D., ... Yang, T.-J. (2013). Microsatellite-based analysis of genetic diversity in 91 commercial *Brassica oleracea* L. cultivars belonging to six varietal groups. *Genet Resour Crop Evol*, 60, 1967–1986.
<https://doi.org/10.1007/s10722-013-9966-3>
- Johnsiul, L., & Awang, A. (2016). Utilization of molecular markers to detect the authenticity of cocoa clones. *International Journal of Agriculture, Forestry and Plantation*, 3(June), 101–104.
- Kalia, R. K., Rai, M. K., Kalia, S., Singh, R., & Dhawan, A. K. (2011). Microsatellite markers: An overview of the recent progress in plants. *Euphytica*, 177(3), 309–334.
<https://doi.org/10.1007/s10681-010-0286-9>
- Kurniasih, S., Rubiyono, Setiawan, A., Purwantara, A., & Sudarsono. (2011). Analisis keragaman genetik plasma nutfah kakao (*Theobroma cacao* L.) berdasarkan marka SSR. *Jurnal Litri*, 17(4), 156–162.

- Lanaud, C., Risterucci, A. M., Pieretti, I., Falque, M., Bouet, A., & Lagoda, P. (1999). Isolation and characterization of microsatellites in *Theobroma cacao* L. *Molecular Ecology*, 8, 2141–2152.
- Mahdi, A., Hare, K., Maliheh, E., Mohsen, M., & Mahdieh, M. (2015). Assessment of clonal fidelity in micropropagated horticultural plants. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 7(12), 977–990.
- Marshall TC, Slate, J., Kruuk, L. E. B., & Pemberton, J. M. (1998). Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural population. *Mol. Ecol.*, 7(5), 639–655.
- Mateescu, R. G., Zhang, Z., Tsai, K., Phavaphutanon, J., Burton-Wurster, N. I., Lust, G., ... Todhunter, R. J. (2005). Analysis of allele fidelity, polymorphic information content, and density of microsatellites in a genome-wide screening for hip dysplasia in a crossbreed pedigree. *Journal of Heredity*, 96(7), 847–853. <https://doi.org/10.1093/jhered/esi109>
- Nagy, S., Poczai, P., Cernák, I., Gorji, A. M., Hegedus, G., & Taller, J. (2012). PICcalc: An online program to calculate polymorphic information content for molecular genetic studies. *Biochemical Genetics*, 50(9–10), 670–672. <https://doi.org/10.1007/s10528-012-9509-1>
- Nookaraju, A., & Agrawal, D. C. (2012). Genetic homogeneity of in vitro raised plants of grapevine cv. Crimson Seedless revealed by ISSR and microsatellite markers. *South African Journal of Botany*, 78, 302–306. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2011.08.009>
- Pandey, R. N., Singh, S. P., Rastogi, J., Sharma, M. L., & Singh, R. K. (2012). Early assessment of genetic fidelity in sugarcane (*Saccharum officinarum*) plantlets regenerated through direct organogenesis with RAPD and SSR markers. *Australian Journal of Crop Science*, 6(4), 618–624.
- Permentan. (2013). *Standar Operasional Prosedur Penetapan Kebun Sumber Benih, Sertifikasi Benih, dan Evaluasi Kebun Sumber Benih Tanaman Kakao ((Theobroma cacao L.))*.
- Perrier, X., & J.P., J.-C. (2010). DARwin software. <http://darwin.cirad.fr/darwin>.
- Powell, W., Machray, G. C., & Provar, J. (1996). Polymorphism revealed by simple sequence repeats. *Trends in Plant Science*, 1(7), 215–221.
- Pugh, T., Fouet, O., Risterucci, A. M., Brottier, P., Abouladze, M., Deletrez, C., ... Lanaud, C. (2004). A new cacao linkage map based on codominant marker: development and integration of 201 new microsatellite markers. *Theor. Appl. Genet.*, 108, 1151–1161. https://doi.org/DOI_10.1007/s00122-003-1533-4
- Rogrio, M. F. S., Uilson, V. L., Didier, C., Jose, L. P., Eline, M. L., Tamiles, B. M., & Karina, P. G. (2014). A protocol for large scale genomic DNA isolation for cacao genetics analysis. *African Journal of Biotechnology*, 13(7), 814–820. <https://doi.org/10.5897/AJB2013.13181>
- Rubiyo, Izzah, N. K., Sulistiyorini, I., & Tresniawati, C. (2015). Evaluation of genetic diversity in cacao collected from Kolaka, Southeast Sulawesi, using SSR markers. *Indonesian Journal of Agricultural Science*, 16(2), 71–78.
- Saunders, J. A., Mischke, A. S., & Leamy, E. E. A. (2004). Selection of international molecular standards for DNA fingerprinting of *Theobroma cacao*. *Theoretical and Applied Genetics*, 110(1), 41–47. <https://doi.org/10.1007/s00122-004-1762-1>
- Singh, R., Nagappan, J., Tan, S., Panandam, J. M., & Cheah, S. (2007). Development of simple sequence repeat (SSR) markers for oil palm and their application in genetic mapping and fingerprinting of tissue culture clones. *Asia Pacific Journal of Molecular Biology & Biotechnology*, 15(3), 121–131.
- Syukur, M., Sujiprihati, S., & Yuniarti, R. (2015). *Teknik Pemuliaan Tanaman*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Wicaksono, I. N., Rubiyo, Sukma, D., & Sudarsono. (2017). Analisis Keragaman genetik 28 nomor koleksi kakao (*Theobroma cacao* L.) berdasarkan marka SSR. *Jurnal Tanaman Industri dan Penyegar*, 4(1), 13–22.

MITRA BESTARI
JURNAL TANAMAN INDUSTRI DAN PENYEGAR
VOLUME 5 NOMOR 3 2018

Dr. Ika Roostika Tambunan, S.P.,b M.Si

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik
Kultur Jaringan Tanaman

Prof. Dr. Ir. Jajang Sauman Hamdani, MS

Universitas Padjadjaran - Budidaya Pertanian

Prof (R). Dr. Supriadi, M.Sc.

Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat - Fitopatologi

Reflinur, SP., MSi., Ph.D

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik
Bioteknologi

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: upublikasi@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/publi_kasi/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 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 penayang terhadap persentase tanaman berbuah tanaman kopi Arabika umur 9 bulan

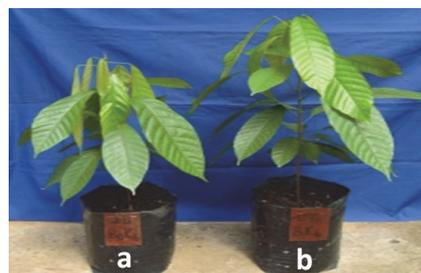
Table 1. Effect of various shading trees on percentage of fruit set of coffee at 9 months old

Jenis tanaman penayang	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

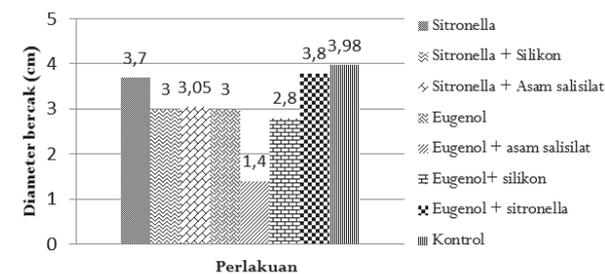
Contoh penampilan gambar/foto:



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

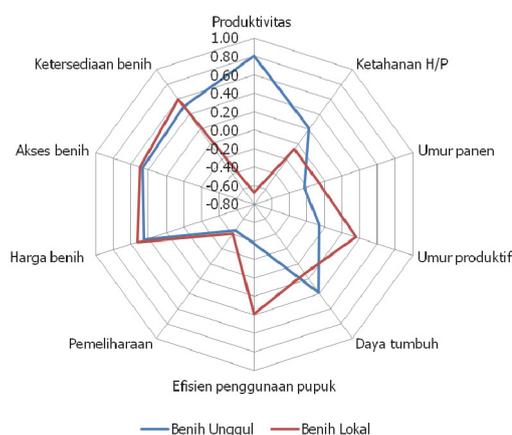
Figure 1. Growth of hybrid cacao seedlings: (a) without treatment and (b) with seed treatment and planting medium

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