

Jurnal
**TANAMAN INDUSTRI
DAN PENYEGAR**
Journal of Industrial and Beverage Crops
Volume 8, Nomor 1, Maret 2021

PATOGEN PENYAKIT BUSUK BUAH KAKAO: KARAKTER DAN PATOGENISITAS
Phytophthora palmivora ISOLAT ASAL PAKUWON, SUKABUMI

PATHOGEN OF COCOA POD ROT DISEASE: CHARACTERS AND PATOGENICITY OF
***Phytophthora palmivora* ISOLATES ORIGINATED FROM PAKUWON, SUKABUMI**

* Wartono¹, Efi Taufiq²

¹⁾ **Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian**
Jalan Tentara Pelajar No. 3A, Cimanggu, Bogor 16111 Indonesia

²⁾ **Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar**
Jalan Raya Pakuwon Km 2, Parungkuda, Sukabumi 43357 Indonesia

* war.tono@yahoo.com

(Tanggal diterima: 6 Februari 2021, direvisi: 24 Maret 2021, disetujui terbit: 30 Maret 2021)

ABSTRAK

Phytophthora palmivora (Butl.) merupakan kendala utama dalam budidaya kakao di seluruh dunia. Penelitian bertujuan untuk mengetahui karakter morfologi dan patogenisitas *P. palmivora* isolat Pakuwon, patogen busuk buah kakao. Penelitian dilakukan pada November 2020 sampai Januari 2021, terdiri dari 3 kegiatan: (1) Isolasi patogen, uji daya tumbuh, dan stimulasi pembentukan sporangia, zoospora, serta klamidospore, masing-masing dilakukan pada media CMA, PDA dan ekstrak kacang hijau. Parameter yang diamati adalah bentuk koloni, daya tumbuh, bentuk dan ukuran sporangia, papila, dan sporangiofor, serta diameter klamidospore dan hifa; (2) Tipe kawin, dengan menumbuhkan dua isolat pada media CMA dalam satu cawan petri; dan (3) Uji patogenisitas menggunakan *detached fruit assay*, dengan menginokulasi buah kakao menggunakan potongan miselium dan zoospora. Pengujian dilakukan dalam rancangan acak lengkap dengan 4 ulangan, parameter yang diamati adalah luas bercak. Hasil isolasi diperoleh 3 isolat dengan miselia berwarna putih, berkapas, dengan bentuk tidak berpola. Diameter hifa dan klamidospore masing-masing 5,6 – 6,3 μm dan 39,0 – 43,2 μm . Bentuk sporangia *ovoid*, *ellipsoid*, *subspic*, *obpyriform*, dan *irregular*. Sporangium berukuran panjang 5,6 – 60,1 μm dan lebar 30,4 – 32,9 μm . Papila terlihat jelas dengan panjang rata-rata 6,8 μm . Hasil penelitian tipe kawin dengan menumbuhkan dua isolat pada media CMA, oospora tidak terbentuk. Isolat PPkw1 menunjukkan laju pertumbuhan dan patogenisitas lebih tinggi dibanding PPkw2 dan PPkw3. Perbedaan patogenisitas isolat *P. palmivora* yang berasal Pakuwon dapat digunakan untuk seleksi ketahanan tanaman kakao di masa mendatang.

Kata kunci: Koloni; morfologi; miselium; sporangia; zoospora

ABSTRACT

Phytophthora palmivora (Butl.) is a major obstacle in cocoa cultivation worldwide. The study aimed to determine the morphological character and pathogenicity of *P. palmivora* Pakuwon isolate. The study was carried out from November 2020 to January 2021, which consisted of 3 activities e.g. (1) pathogen isolation, tests on growth rate and colony formation, and stimulation of sporangia, zoospore, and clamydospore formation, which was performed in CMA, PDA, and mung bean media. The parameters observed were colony shape, growth rate, shape and size of sporangia, papillae,

and sporangiophores, also chlamydospore and hyphal diameters; (2) To determine the possibility of different mating types, two isolates were grown on CMA medium in one petri dish; (3) The pathogenicity test, using a detached fruit assay by inoculating the cocoa pods with mycelium plug and zoospores. The pathogenicity test was conducted in a completely randomized design with 4 replications, and the parameter observed was the area of the spot. The isolation obtained 3 isolates, the mycelium of all three isolates showed white in color, cottony, and no pattern in shape. The diameters of hyphae and chlamydospores were 5.6 - 6.3 μm and 39.0 - 43.2 μm , respectively. The sporangia were ovoid, ellipsoid, subspheric, obpyriform, and irregular. Sporangia measured 5.6 - 60.1 μm in length and 30.4 - 32.9 μm in width. Papillae were obviously visible with an average length of 6.8 μm . Test on mating types showed no oospores formed. PPkw1 isolates showed higher growth rates and more pathogenic than PPkw2 and PPkw3. The difference of pathogenicity of each *P. palmivora* isolates originated from Pakuwon can be used for selection of cocoa resistance in the future.

Keywords: Colony; morphology; mycelium; sporangia; zoospores

PENDAHULUAN

Kakao merupakan salah satu komoditas perkebunan yang memiliki nilai ekonomi yang cukup tinggi dan menjadi salah satu penyumbang devisa terbesar ketiga dari sektor non migas bidang perkebunan (Kementerian Perindustrian, 2013). Di Indonesia, sebanyak 85% produksi kakao berasal dari masyarakat, sedangkan 15% lainnya dikelola oleh negara dan swasta (Sumanto, Efendi, & Prastowo, 2015). Produktivitas kakao di Indonesia tergolong rendah yaitu 217 kg/ha/tahun jauh di bawah potensinya yang bisa mencapai 2000 kg/ha/tahun (Hortus, 2020). Salah satu penyebab rendahnya produksi kakao adalah serangan penyakit busuk buah kakao yang disebabkan oleh *Phytophthora palmivora* (Butl.).

P. palmivora merupakan patogen utama yang menyebabkan produksi kakao menurun hingga mencapai 73.4% (Fauzan, Lubis, & Pinem, 2013). Perkembangan, penyebaran, dan infeksi patogen ini sangat dipengaruhi oleh faktor lingkungan seperti suhu, kelembapan udara, dan intensitas cahaya (Fauzan, *et al.*, 2013). Penyakit busuk buah terutama terjadi pada musim hujan, karena pada musim hujan kelembapan akan menjadi tinggi, selain itu percikan air hujan akan mempermudah penyebaran *P. palmivora* dari tanah ke jaringan aerial tanaman (Baharudin & Asad, 2017; Purwantara, 2008). Epidemi penyakit busuk buah juga dipengaruhi oleh faktor lain seperti keberadaan populasi semut *Iridomirmex cordatus* yang membantu penyebaran inokulum *P. palmivora* pada jaringan tanaman (Rosmana, Waniada, Junaid, & Gassa, 2010). *P. palmivora* dapat menyerang pangkal batang, batang, ranting, daun, dan buah kakao (Bowers, Bailey, Hebbar, Sanogo, & Lumsden, 2001; Rubiyo & Amaria, 2013). Namun demikian, serangan yang paling merugikan pada buah, menyebabkan buah menjadi busuk (Rubiyo & Amaria, 2013).

Phytophthora pada umumnya heterotalik, dimana oomycetes mempunyai kemampuan bereproduksi secara seksual dan aseksual sehingga memungkinkan adanya keragaman morfologi pada

patogen tersebut. *P. capsici* dilaporkan memproduksi sporangia dengan bentuk dan ukuran yang beragam (Wahyuno, Manohara, & Susilowati, 2007). Selain itu, *Phytophthora* pada umumnya juga mempunyai patogenisitas yang beragam sehingga akan mempengaruhi keparahan penyakit dengan intensitas yang berbeda (de Oliveira, Blum, Duarte, Moreira, & Luz, 2016; Wahyuno, *et al.*, 2007).

Pengendalian penyakit busuk buah umumnya dilakukan melalui sanitasi lingkungan dan fisik, yaitu dengan cara memetik dan membuang buah yang sakit (Ratnada, 2019). Jamur endofit sebagai agens hayati, aplikasi biofungisida dari bahan minyak cengkeh dan seraiwangi, fungisida sintetik, serta tanaman tahan juga sudah digunakan untuk mengendalikan penyakit busuk buah kakao (Chan & Kwee, 1986; Harni, Khaerati, Noveriza, & Yuliani, 2020; Harni, Amaria, Khaerati, & Taufiq, 2016; Rubiyo, Purwantara, & Sudarsono, 2010). Namun demikian, hingga kini penyakit busuk buah kakao masih tetap menjadi kendala utama dalam budidaya kakao dan belum bisa dikendalikan secara tuntas.

Patogen penyebab busuk buah kakao (*P. palmivora*) mempunyai kemampuan untuk menghasilkan oospora sebagai hasil perpaduan antara tipe kawin A1 dan A2 (Perrine-Walker, 2020), yang memungkinkan terbentuknya individu yang lebih virulen, tahan fungisida dengan karakter morfologi yang beragam. Untuk dapat mengendalikan penyakit tanaman secara tepat, maka perlu diketahui karakter patogen yang menjadi penyebabnya. Identifikasi patogen penyebab busuk buah melalui karakterisasi mikro dan makro morfologi, uji daya tumbuh, penentuan tipe kawin, serta uji patogenisitas merupakan langkah penting yang perlu dilakukan untuk menentukan manajemen pengendaliannya.

Kebun percobaan Pakuwon, Sukabumi merupakan salah satu lokasi penyimpanan koleksi plasma nutfah kakao milik Kementerian Pertanian. Koleksi plasma nutfah yang dikoleksi merupakan klon dan varietas kakao yang berasal dari sentra kakao seluruh Indonesia dan juga koleksi yang berasal dari

Brazil dan Meksiko. Penyakit busuk buah di lokasi ini sering dijumpai menyerang pada pertanaman kakao baik pada buah yang berukuran kecil maupun yang besar. Untuk mengetahui karakter *P. palmivora* yang menyerang tanaman kakao di Kebun Percobaan Pakuwon maka perlu dilakukan identifikasi terhadap karakter makro dan mikro morfologi, tipe kawin, dan patogenisitasnya, sehingga pengendaliannya lebih terarah.

Penelitian bertujuan untuk mengkarakterisasi makro dan mikro morfologi serta menentukan patogenisitas, tipe kawin isolat *P. palmivora* patogen penyebab busuk buah kakao asal Pakuwon, Sukabumi.

BAHAN DAN METODE

Sampel buah kakao bergejala busuk diperoleh dari Kebun Percobaan Pakuwon, Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar, Sukabumi. Isolasi, karakterisasi dan uji patogenisitas patogen dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, Bogor. Penelitian dilakukan mulai bulan November 2020 sampai dengan Januari 2021.

Isolasi Sporangium *Phytophthora palmivora*

Isolasi *P. palmivora* dilakukan pada buah kakao tipe Trinitario hybrida Edel F1 yang menunjukkan gejala penyakit busuk buah dengan mengikuti metode (Plancarte, Alvarado, Pavia, Santos, Pérez, & Celaya, 2017) yang dimodifikasi. Buah didesinfeksi permukaannya dengan cara dicuci menggunakan sabun cair dan dibilas dengan air mengalir. Selanjutnya, buah dikeringanginkan dan dimasukkan ke dalam kantung plastik steril ukuran 2 kg dan diinkubasi pada ruangan dengan suhu 22 – 25 °C. Pada 3 hari setelah inkubasi (hsi) buah yang telah ditumbuhi oleh masa miselium diamati di bawah mikroskop untuk memastikan ada tidaknya sporangium atau klamidospore sebagai ciri *P. palmivora*.

Media yang digunakan untuk isolasi *P. palmivora* adalah media *corn meal agar* (CMA) rendah nutrisi (Kellam & Zentmyer, 1986). Sporangium diambil dengan cara menempelkan ujung ose yang sudah diberi media CMA ke ujung hifa aerial *Phytophthora* pada buah bergejala, kemudian ditumbuhkan ke media CMA dalam cawan petri. Propagul yang baru dipindahkan diamati di bawah mikroskop untuk memastikan sporangium sudah berhasil dipindahkan. Selanjutnya, biakan diinkubasi pada kondisi gelap dengan suhu 25 °C. Pada 2 hsi, biakan diamati pertumbuhan miseliumnya di bawah mikroskop. Miselium yang terbentuk kemudian dipindahkan pada media CMA untuk dimurnikan. Biakan diinkubasi pada kondisi gelap

selama 4 hari dan terang selama 3 hari di bawah lampu pendar yang bertujuan untuk menstimulasi perkembangan miselium dan produksi sporangium.

Karakterisasi Makro dan Mikro Morfologi dan Uji Daya Tumbuh

Pengujian dilakukan dengan metode yang dikembangkan oleh Komalasari, *et al.* (2018), yaitu dengan menumbuhkan potongan biakan isolat koleksi dengan diameter 0,5 cm di tengah-tengah media *potato dextrose agar* (PDA) dalam cawan petri berdiameter 9 cm. Pengamatan pertumbuhan isolat dilakukan mulai 2 hsi sampai miselium memenuhi cawan petri. Bentuk koloni miselia diamati pada biakan umur 8 hsi. Pengujian dilakukan dalam rancangan acak lengkap 3 perlakuan dengan 3 ulangan.

Untuk mengetahui karakter mikro morfologi, sebanyak 5 potong biakan isolat berdiameter 0,5 cm ditumbuhkan dalam 20 ml media cair ekstrak kacang hijau 30% dalam cawan petri berdiameter 9 cm (Wartono & Kirana, 2020). Biakan diinkubasi dalam kondisi gelap dengan suhu 25 °C selama 4 hari. Selanjutnya, biakan dibilas dengan air steril sebanyak 3 kali untuk menghilangkan sisa media dalam cawan petri. Pada kondisi tanpa media, miselia yang telah bersih diinkubasi kembali pada suhu 25 °C dalam kondisi terang di bawah lampu pendar. Pengamatan dilakukan di bawah mikroskop (Olympus BX51) terhadap hifa, bentuk dan ukuran sporangia, papila, klamidospore, serta sporangiosfor. Jumlah sporangia yang diamati tiap isolat adalah 30 sporangia.

Pengujian untuk mengetahui kemungkinan adanya perbedaan tipe kawin antar isolat dilakukan dengan metode yang dikembangkan oleh Manohara, Mulya, & Wahyuno (2004) yang dimodifikasi. Pengujian dilakukan dengan menumbuhkan dua isolat koleksi dalam satu petri yang berisi media CMA. Potongan biakan dengan diameter 0,5 cm diletakan berhadapan dengan jarak 2 cm, selanjutnya diinkubasi pada kondisi gelap dengan suhu 25 °C selama 7 hari. Pengamatan dilakukan di bawah mikroskop untuk memastikan terbentuk atau tidaknya oospore.

Uji Patogenisitas

Pengujian dilakukan dengan menggunakan dua bentuk sumber inokulum yaitu potongan miselium dan suspensi zoospore. Inokulum berupa miselium dibuat dengan mengikuti metode yang dilakukan oleh Rubiyo, *et al.*, (2010) dengan sedikit modifikasi yaitu menggunakan media CMA sebagai media tumbuh. Biakan diinkubasi pada kondisi gelap sampai biakan berumur 8 hari. Sementara untuk inokulum zoospore dibuat dengan metode yang dikembangkan oleh Wartono & Kirana (2020), yaitu dengan menumbuhkan

isolat *Phytophthora* dalam media cair ekstrak kacang hijau 30%. Untuk menstimulasi keluarnya zoospora dari sporangium, biakan direndam dalam air steril dan dibiarkan selama 1 jam kemudian dihitung menggunakan haemositometer untuk menentukan kerapatan zoospora. Kerapatan zoospora yang diuji adalah 10^3 zoospora/ml.

Bahan tanaman yang digunakan adalah buah kakao tipe Trinitario. Potongan buah berukuran sekitar 6 cm x 8 cm didesinfeksi dalam alkohol 70% dan direndam air steril, kemudian dikeringanginkan dan diletakkan pada kotak plastik yang diberi alas kertas tissue basah steril untuk menjaga kelembapan. Permukaan buah kakao dilukai dengan ditusuk jarum steril, kemudian diinokulasi dengan sepotong biakan miselium sebesar 0,5 cm² dan 100 µl suspensi zoospora dengan kerapatan 10^3 zoospora/ml. Perlakuan kontrol buah hanya diinokulasi dengan potongan media CMA dan air. Pengamatan dilakukan tiap hari dengan mengukur luas gejala. Pengujian dilakukan dengan rancangan acak lengkap dengan 4 ulangan.

Analisis Data

Data hasil pengamatan diuji statistik untuk mengetahui analisis keragaman dan dilanjutkan dengan uji beda nyata Duncan untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan dengan menggunakan program SAS version 9.1.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Isolasi *Phytophthora* dari Buah Kakao

Perlakuan pra-isolasi melalui pencucian buah kakao yang dilanjutkan dengan inkubasi selama 3 hari menyebabkan tumbuhnya koloni miselia berwarna putih seperti beludru di sekitar gejala (Gambar 1). Hasil pengamatan di bawah mikroskop menunjukkan bahwa pada masa miselia putih tersebut banyak ditumbuhi oleh sporangia dan klamidospora. Hasil pengamatan juga tidak ditemukan adanya propagul cendawan pengkontam seperti *Fusarium* sp. dan yang lainnya.

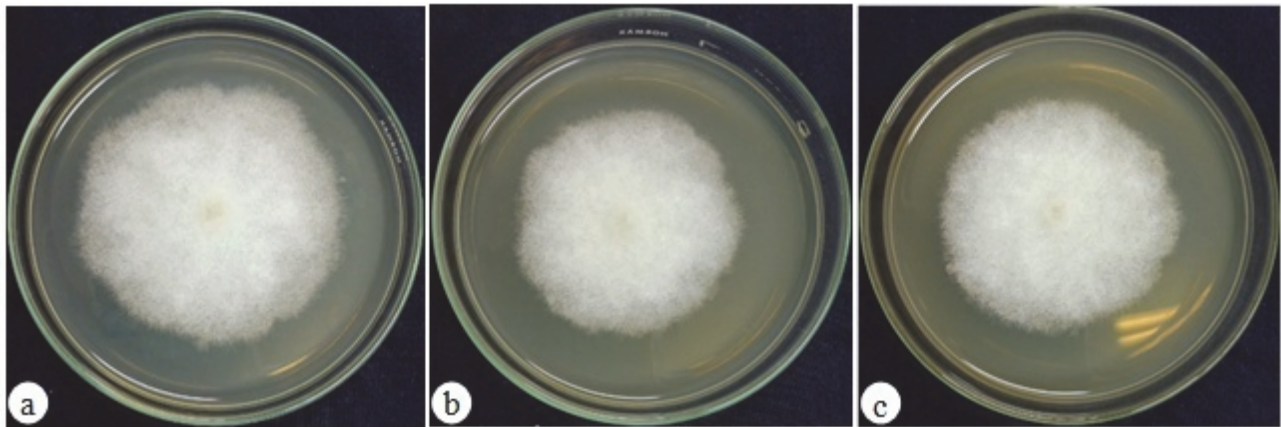
Hasil isolasi menunjukkan bahwa miselia tumbuh pada media CMA dengan bentuk koloni yang tipis. Pengamatan di bawah mikroskop menunjukkan bahwa hifa tiap isolat mempunyai pola bercabang dan tidak bersekat. Hifa tidak bersekat merupakan salah satu ciri morfologi yang membedakan *Phytophthora* dengan cendawan pada umumnya (Meng, Qiang, Ding, & Shan, 2014). Hasil isolasi diperoleh 3 isolat *Phytophthora* yang selanjutnya diberi kode PPkw1, (b) PPkw2, dan (c) PPkw3.

Makromorfologi dan Kecepatan Tumbuh Isolat *P. palmivora*

Semua isolat yang dikoleksi tumbuh baik pada media PDA membentuk miselium aerial dengan bentuk koloni yang tidak berpola, berwarna putih, dan berkapas tebal (Gambar 2). Pada penelitian lain dilaporkan bahwa *P. palmivora* menunjukkan bentuk koloni yang berbeda yaitu ada yang berbentuk *stelate* dan tidak beraturan (Hung, Wattanachai, Kaysem, & Poaim, 2015; Komalasari, Suryanti, & Hadisutrisno, 2018).



Gambar 1. Buah kakao yang menunjukkan gejala busuk dengan masa miselium
Figure 1. Rot symptom of cocoa pod, which was grown by the mycelium



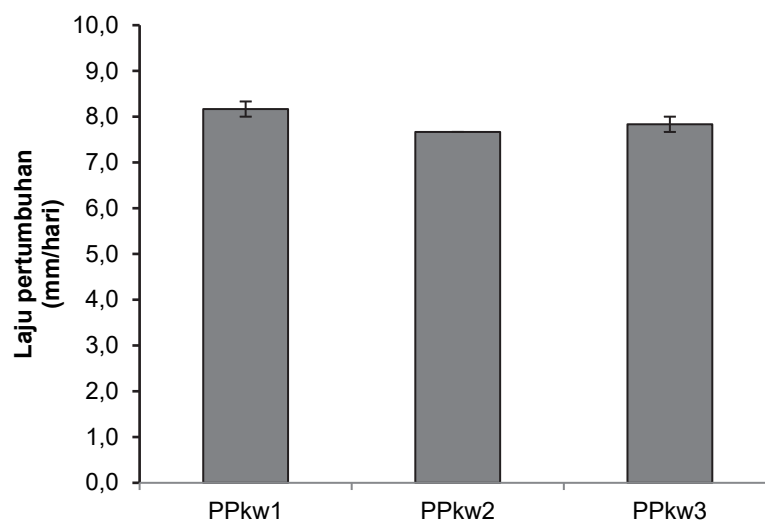
Gambar 2. Koloni miselium isolat *P. palmivora* asal Pakuwon pada media PDA: (a) PPkw1, (b) PPkw2, dan (c) PPkw3

Figure 2. Mycelium colony of *P. palmivora* isolates originated from Pakuwonon PDA medium: (a) PPkw1, (b) PPkw2, and (c) PPkw3

Hasil uji kecepatan tumbuh menunjukkan bahwa ke 3 isolat mempunyai kemampuan tumbuh yang hampir sama pada media PDA. Laju pertumbuhan tertinggi terjadi pada isolat PPkw1, yaitu 8,2 mm/hari, sementara laju pertumbuhan untuk isolat PPkw2 dan PPkw3 masing-masing 7,7 dan 7,8 mm/hari (Gambar 3). Laju pertumbuhan antar isolat kemungkinan berhubungan dengan patogenisitas dan kecepatan patogen dalam mengkolonisasi jaringan.

P. palmivora merupakan salah satu spesies dari kelompok oomycetes yang memiliki dua tipe kawin yang berbeda, yaitu A1 dan A2. *P. palmivora* bersifat

heterotalik yaitu akan menghasilkan oospora bila tipe kawin A1 dan A2 ditumbuhkan bersama dalam satu cawan petri atau berada pada jaringan tanaman yang sama (Perrine-Walker, 2020). Menurut Surujdeo-Maharaj, Sreenivasan, Motilal, & Umaharan (2016), tipe kawin A2 merupakan tipe kawin yang paling banyak ditemukan di dunia. Isolat yang diisolasi dari Pakuwon ini kemungkinan berasal dari tipe kawin yang sama, hal ini terbukti dari hasil pengujian dengan menumbuhkan dua isolat dalam satu petri yang sama tidak menunjukkan adanya pembentukan oospora (Tabel 1).



Gambar 3. Laju pertumbuhan isolat *P. palmivora* asal Pakuwon pada media PDA

Figure 3. Growth rate of collected isolates grown in PDA medium

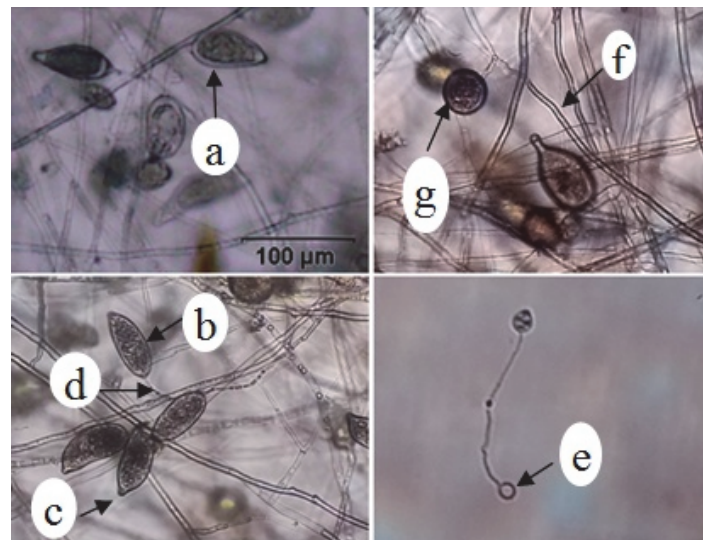
Tabel 1. Hasil uji reproduksi seksual antar isolat *P. palmivora* asal Pakuwon

Table 1. The results of sexual reproduction test among *P. palmivora* isolates originated from Pakuwon

Perkawinan antar isolat*	Pembentukan oospora
PPkw1 x PPkw2	Tidak terbentuk
PPkw1 x PPkw3	Tidak terbentuk
PPkw2 x PPkw3	Tidak terbentuk

Keterangan: *dalam media CMA

Notes: * in CMA medium



Gambar 4. Karakter morfologi *P. palmivora* isolat asal Pakuwon: (a) sporangium bentuk *ovoid*, (b) sporangium bentuk *ellipsoid*, (c) papila, (d) sporangiofor, (e) zoospora berkecambah, (f) hifa hialin, dan (g) klamidospora (mikroskop pembesaran 200x)

Figure 4. Morphological characters of *P. palmivora* collected isolates: (a) ovoid form, (b) ellipsoid form, (c) papilla, (d) sporangiophore, (e) germinating zoospores, (f) hyaline hyphae, and (g) chlamydospores (microscope magnified 200x)

Tabel 2. Karakter hifa dan klamidospora *P. palmivora* isolat asal Pakuwon

Table 2. Hyphae and chlamydospore characters of *P. palmivora* originated from Pakuwon

Isolat	Diameter hifa (µm)	Diameter Klamidospor (µm)
PPkw1	6,3 (5,0-7,3)	42,5 (35,5-53,8)
PPkw2	6,2 (5,0-7,3)	39,0 (27,0-49,0)
PPkw3	5,6 (5,0-6,3)	43,2 (30,9-49,2)

Keterangan: Nilai dalam kurung menunjukkan nilai minimum – maksimum

Notes: Numbers in parentheses indicate the minimum – maximum value

Mikromorfologi Isolat *P. palmivora*

Hasil pengamatan di bawah mikroskop diketahui bahwa ke tiga isolat memiliki hifa yang tidak bersekat, memproduksi sporangia dengan papila di ujungnya, dan klamidospora berdinding tebal dengan bentuk bulat tumbuh di ujung (*terminal*) atau di tengah hifa (*intercalar*) (Gambar 4).

Hifa ke tiga isolat berbentuk tabung memanjang dan bercabang dengan warna hialin.

Diameter hifa rata-rata 5,6 – 6,3 µm dengan diameter minimum 5,0 µm dan maksimum 7,3 µm (Tabel 2). Klamidospora berbentuk bulat berdiameter 39,0 – 43,2 µm dengan diameter minimum 27,0 µm dan maksimum 53,8 µm. Ukuran klamidospora *P. palmivora* isolat Pakuwon tidak jauh berbeda dengan yang dilaporkan oleh Komalasari *et al.* (2018).

Tabel 3. Panjang, lebar, dan rasio p/l sporangia *P. palmivora* isolat asal Pakuwon
Table 3. Length, breadth, and ratio p/l of sporangia isolates of *P. palmivora* originated from Pakuwon

Isolat	Panjang (p) (maks-min) (μm)	Lebar (l) (maks-min) (μm)	Rasio p/l	Panjang sporangiofor (μm)	Panjang Papila (maks-min) (μm)	Bentuk sporangia
PPkw1	60,1* (37,8-79,0)	32,9 (27,5-40,1)	1,8 (1,1-2,5)	57,2 (12,0-165,0)	8,2 (5,0-17,4)	Ovoid, obpyriform, ellipsoid, subsperic
PPkw2	58,7 (49,8-72,2)	30,9 (26,4-37,3)	1,9 (1,4-2,4)	28,8 (10,0-63,0)	6,1 (3,5-9,0)	Ovoid, obpyriform, ellipsoid, irregular
PPkw3	56,6 (39,1-72,7)	30,4 (24,4-39,1)	1,9 (1,3-2,6)	39,3 (22,0-88,0)	6,2 (3,9-10,6)	Ovoid, ellipsoid, irregular

Keterangan: *Angka rata-rata dari 30 sporangia. Nilai dalam kurung adalah nilai minimum – maksimum

Note: *Average numbers of 30 sporangia. Numbers in parentheses indicate the minimum – maximum value

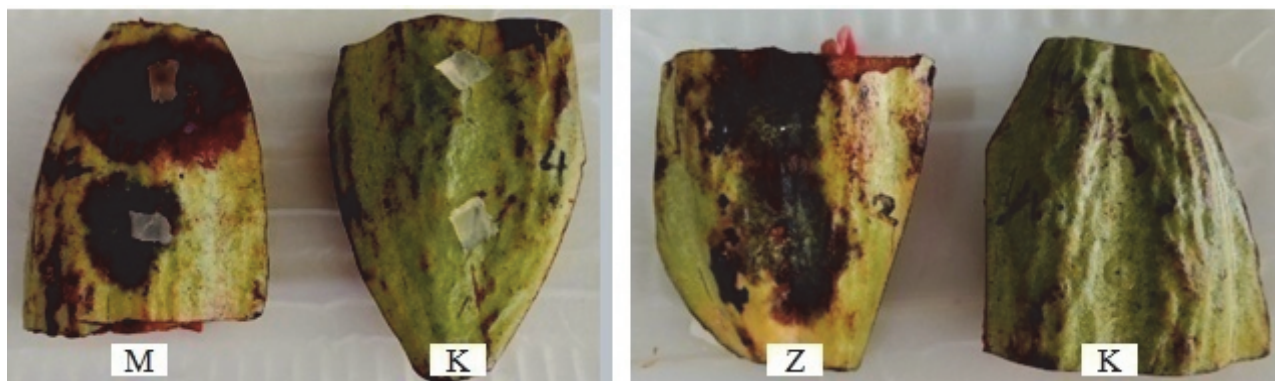
P. palmivora isolat Pakuwon menghasilkan sporangia dengan bentuk yang beragam yaitu ada yang ovoid, ellipsoid, subsperic, obpyriform, dan irregular (Tabel 3). Papila terlihat jelas pada ujung sporangia dengan panjang rata-rata 6,8 μm . Ukuran sporangium bervariasi baik panjang dan lebarnya. Isolat PPkw1 mempunyai panjang sporangia 37,8– 79,0 μm , lebar 27,5 – 40,1 μm , dengan rasio p/l 1,1 – 2,5. Isolat PPkw2 memiliki panjang sporangia 49,8 – 72,2 μm , lebar 26,4 – 37,3 μm , dengan rasio p/l 1,4 – 2,4. Pada isolat PPkw3, panjang sporangia 39,1 – 72,7 μm , lebar 24,4 – 39,1 μm , dengan rasio p/l 1,3 – 2,6. Ketiga isolat memiliki sporangiofor dengan panjang rata-rata 41,8 μm . Penelitian lain melaporkan bahwa *P. palmivora* memiliki sporangia dengan bentuk yang beragam yaitu obpyriform, globose, ellipsoid, ovoid dan terdistorsi dengan ukuran panjang 30,8 – 65,5 μm , lebar 21,9 – 46,5 μm , rasio p/l 1,3 – 1,8, dan panjang papila 3,3 – 12,6 μm (Maora, 2008; Komalasari *et al.*, 2018). Hasil identifikasi secara morfologi terhadap isolat asal Pakuwon juga tidak berbeda jauh dengan karakter morfologi *P. palmivora* isolat asal Colombia (Rodríguez-Polanco, Morales, Muñoz-Agudelo, Segura, & Carrero, 2020).

Patogenisitas *P. palmivora*

Potongan miselia dan suspensi zoospora merupakan propagul *P. palmivora* yang dapat digunakan sebagai sumber inokulum untuk uji patogenisitas. Kedua propagul tersebut mampu menyebabkan gejala busuk pada buah kakao. Gejala busuk buah mulai terlihat pada 2 hsi berupa bercak kecil kehitaman yang semakin membesar seiring bertambahnya waktu (Gambar 5). Hasil pengamatan gejala busuk buah pada 3 hsi menunjukkan bahwa isolat PPkw1 menimbulkan luas gejala terbesar yaitu 30,0 mm^2 , kemudian diikuti oleh

isolat PPkw3 dan PPkw2 masing-masing dengan luas gejala 21,8 dan 21,3 mm^2 (Tabel 4). Pada buah yang diinokulasi dengan zoospora, gejala busuk buah terbesar terjadi pada buah yang diinokulasi dengan isolat PPkw2 dengan luas gejala 20,1 mm^2 , diikuti oleh isolat PPkw1 dan PPkw3 dengan luas gejala masing-masing 12,5 dan 9,3 mm^2 . Hasil pengujian ini menunjukkan bahwa gejala busuk pada buah yang diinokulasi dengan potongan miselia lebih luas dibandingkan dengan yang diinokulasi dengan zoospora. Luas gejala yang lebih kecil pada buah yang diinokulasi zoospora kemungkinan karena konsentrasi yang digunakan pada penelitian ini terlalu rendah (10^3 zoospora/ml). Adapun pada penelitian lain inokulasi dengan menggunakan konsentrasi 10^7 zoospora/ml yang dilarutkan pada agar air 0.4% lebih efektif dalam menimbulkan gejala dibandingkan dengan inokulasi menggunakan potongan agar miselia (Duran, Suarez, Polanco, Gutierrez, Rojas, & Yockteng, 2020). Bila mempertimbangkan karakter dan proses infeksi inokulum, suspensi zoospora lebih mendekati kondisi alami, karena infeksi pada buah diinisiasi oleh zoospora dan sporangia.

Proses terjadinya penyakit busuk buah diawali dengan menempelnya sporangia pada buah, kemudian berkecambah secara langsung atau pada saat terdapat lapisan air sporangia akan mengeluarkan zoospora. Zoospora kemudian berkembang membentuk cyst yang selanjutnya berkecambah membentuk tabung kecambah dan melakukan penetrasi ke dalam jaringan buah. *P. palmivora* bersifat heterotrop, dimana pada awal infeksi bersifat biotrof yaitu membutuhkan sel/jaringan hidup sebagai sumber nutrisi. Selanjutnya bersifat nekrotrof ditandai dengan terbentuknya nekrosis, pertumbuhan hifa, sporangia, dan kladidospor pada jaringan tanaman (Le Fevre, O'Boyle, Moscou, Schornack, & Le Fevre, 2016; Carella, Gogleva, Tomaselli, Alfs, & Schornack, 2018).



Gambar 5. Gejala busuk pada buah kakao 3 hari setelah inoculasi (hsi). (M) diinokulasi dengan miselium, (Z) diinokulasi dengan zoospora, dan (K) kontrol

Figure 5. Rot symptoms at 3 days after inoculation (dai). (M) inoculated by mycelium, (Z) inoculated by zoospores, and (K) control

Tabel 4. Patogenisitas *P. palmivora* isolat asal Pakuwon
Table 4. Pathogenicity of *P. palmivora* isolates originated from Pakuwon

Isolat	Luas gejala (mm ²) setelah 3 hari diinokulasi	
	Miselium	Zoospora
PPkw1	30,0 ± 2,6 a	12,5 ± 3,0 b
PPkw2	21,3 ± 2,6 b	20,1 ± 1,4 a
PPkw3	21,8 ± 1,8 b	9,3 ± 2,4 b

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT pada taraf 5%
Notes: Numbers followed by the same letter in the same colomn are not significantly different according to DMRT test at 5% levels

Hasil penelitian ini perlu dikembangkan lebih lanjut untuk mengetahui virulensi isolat asal Pakuwon terhadap klon atau varietas kakao yang berbeda. Informasi tipe kawin *P. palmivora* asal Pakuwon masih perlu dikaji lebih lanjut dengan membandingkan dengan isolat standar yang sudah diketahui tipe kawinnya.

KESIMPULAN

Isolat *P. palmivora* asal Pakuwon memproduksi sporangia dengan bentuk yang beragam, berukuran panjang 5,6 – 60,1 µm dan lebar 30,4 – 32,9 µm, serta papila terlihat jelas pada ujungnya. Hifa dan klamidospora isolat *P. palmivora* asal Pakuwon masing-masing memiliki diameter 5,6 – 6,3 µm dan 39,0 – 43,2 µm. Ketiga isolat *P. palmivora* yang diisolasi dari Kebun Percobaan Pakuwon, Sukabumi diduga berasal dari satu tipe kawin yang sama, namun masih belum jelas dari tipe kawin A1 atau A2. Perbedaan patogenisitas kemungkinan berhubungan dengan kecepatan tumbuh dan kemampuan isolat dalam mengkolonisasi jaringan tanaman. Inokulasi menggunakan potongan miselium menghasilkan bercak lebih besar.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih diucapkan pada Dr. Alina Akhdia, Ketua Kelompok Peneliti Biokimia, BB Biogen atas izin penggunaan sarana laboratorium, serta Ade Akhmad yang membantu selama kegiatan berlangsung.

KONTRIBUSI PENULIS

1. Wartono (Kontributor Utama)
2. Efi Taufik (Kontributor Anggota).

DAFTAR PUSTAKA

- Bowers, J. H., Bailey, B. A., Hebbar, P. K., Sanogo, S., & Lumsden, R. D. (2001). The impact of plant diseases on world chocolate production. *Plant Health Progress*, 1650–1653.
- Carella, P., Gogleva, A., Tomaselli, M., Alfs, C., & Schornack, S. (2018). *Phytophthora palmivora* establishes tissue-specific intracellular infection structures in the earliest divergent land plant lineage. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 115, E3846–E3855.

- Chan, L.G. & Kwee, L. T. (1986). Comparative invitro sensitivity of selected chemicals on *Phytophthora palmivora* from cocoa and durian. *Pertanika*, 9(2), 183 – 191.
- de Oliveira, T.A.S., Blum, L.E.B., Duarte, E.A.A., Moreira, Z.P.M., & Luz, E. D. M. N. (2016). Variability of aggressiveness and virulence of *Phytophthora palmivora* influencing the severity of papaya fruit rot in postharvest in Bahia, Brazil. *Cientifica, Jaboticabal*, 44(2), 185–195.
- Duran, P.D., Suarez, M.S., Polanco, L.R., Gutierrez, M.C., Rojas, E.T., & Yockteng, R. (2020). A new method for the inoculation of *Phytophthora palmivora* (Butler) into cacao seedlings under greenhouse conditions. *Plant Methods*, 16(114), 7 p.
- Fauzan, A., Lubis, L., & Pinem, M. I. (2013). Keparahan penyakit busuk buah kakao (*Phytophthora palmivora* (Butl.) pada beberapa perkebunan kakao rakyat yang berbeda naungan di Kabupaten Langkat. *Jurnal Online Agroekoteknologi*, 1(3), 374–384. <https://doi.org/10.32734/jaet.v1i3.2558>
- Harni, R., Amaria, W., Khaerati, K., Taufiq, E. (2016). Isolasi dan seleksi jamur endofit asal tanaman kakao sebagai agens hayati *Phytophthora palmivora* Butl.. *J.TIDP*, 3(3), 141–150. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.21082/jtidp.v3n3.2016.p141-150>
- Harni, R., Khaerati, K., Noveriza, R., Yuliani, S. (2020). Efektivitas nanoemulsi minyak serai wangi terhadap *Phytophthora palmivora* Butl. patogen busuk buah kakao. *J.TIDP*, 7(3), 127–136. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.21082/jtidp.v7n3.2020.p127-136>
- Hortus. (2020). Produksi kakao nasional terus merosot. Retrieved from <https://news.majalahhortus.com/produksi-kakao-nasional-terus-merosot/>.
- Hung, P.M., Wattanachai, P., Kaysem, S., & Poaim, S. (2015). Biological control of *Phytophthora palmivora* causing root rot of Pomelo using *Chaetomium* spp. *Mycobiology*, 43(1), 63–70. <https://doi.org/10.5941/MYCO.2015.43.1.63>
- Kellam, M.K. & Zentmyer, G. A. (1986). Morphological, physiological, ecological, and pathological comparison of *Phytophthora* species isolated from Theobroma cacao. *Phytopathology*, 76(2), 159–164.
- Kementerian Perindustrian. (2013). Industri kakao mampu meningkatkan devisa negara. Retrieved from <https://kemenperin.go.id/artikel/7454/Industri-Kakao-Mampu-Meningkatkan-Devisa-Negara>. April 2014.
- Komalasari, I., Suryanti, & Hadisutrisno, B. (2018). Identification of the causal agent of cocoa pod rot disease from various locations. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia*, 22(1), 13–19. <https://doi.org/10.22146/jpti.24728>
- Le Fevre, R., O'Boyle, B., Moscou, M., Schornack, S., & Le Fevre, R. (2016). Colonization of barley by the broad-host hemibiotrophic pathogen *Phytophthora palmivora* uncovers a leaf development-dependent involvement of Mlo. *MPMI*, 29, 385–395.
- Manohara, D., Mulya, K., Wahyuno, D. (2004). *Phytophthora* disease on black pepper and the control measures. *Focus on Pepper*, 1, 37–49.
- Maora, S. J. (2008). *Diversity of Phytophthora palmivora on Cocoa in Papua New Guinea*. University of Sydney, Sydney, Australia.
- Meng, Y., Qiang, Z., Ding, W., Shan, W. (2014). *Phytophthora parasitica*: a model oomycete plant pathogen. *Mycology*, 5(2), 43–51. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1080/21501203.2014.917734>
- Perrine-Walker, F. (2020). *Phytophthora palmivora* – cocoa interaction. *J. Fungi*, 6, 167. <https://doi.org/10.3390/jof6030167>.
- Purwantara, A. (2008). Infection of *Phytophthora palmivora* from soil in cocoa Plantation. *Pelita Perkebunan*, 24(3), 205–218.
- Ratnada, M. (2019). *Pengendalian Penyakit Busuk Buah Kakao*. Retrieved from <http://ntt.litbang.pertanian.go.id/index.php/program-litbang/program-2019/702-peng-endalian-penyakit-busuk-buah-kakao>.
- Rodríguez-Polanco, E., Morales, J.G., Muñoz-Agudelo, M., Segura, J.D., & Carrero, M. L. (2020). Morphological, molecular and pathogenic characterization of *Phytophthora palmivora* isolates causing black pod rot of cacao in Colombia. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 18(2), 15p. <https://doi.org/10.5424/sjar/2020182-15147>.

- Rosmana, A., Sahrani, E., Saharuddin, W., & Junaid, M. (2010). Komparasi penggunaan *Trichoderma* dengan fungisida sintetis untuk mengendalikan penyakit busuk buah *Phytophthora* kakao. *Fitomedika*, 6, 22–25.
- Rubiyo, Purwantara, A., & Sudarsono. (2010). Ketahanan 35 klon kakao terhadap infeksi *Phytophthora palmivora* butl. berdasarkan uji detached pod. *Jurnal Littri*, 16(4), 172–178.
<https://doi.org/http://dx.doi.org/10.21082/jlittri.v16n4.2010.172-178>
- Rubiyo, & Amaria, W. (2013). Ketahanan tanaman kakao terhadap penyakit busuk buah (*Phytophthora palmivora* Butl.). *Perspektif*, 12(1), 23–36.
<https://doi.org/http://dx.doi.org/10.21082/p.v12n1.2013.%25p>
- Surujdeo-Maharaj, S., Sreenivasan, T.N., Motilal, L.A., & Umaharan, P. (2016). Black pod and other *Phytophthora* induced diseases of cacao: History, biology, and control. In L. Bailey, B., Meinhardt (Ed.), *In Cacao Diseases. A History of Old Enemies and New Encounters*, (1st ed, pp. 213–266). Cham, Switzerland: Springer International Publishing.
- Wahyuno, D., Manohara, D., & Susilowati, D. N. (2007). Variasi morfologi dan virulensi *Phytophthora capsici* asal lada. *Buletin Plasma Nutfah*, 13, 70–81.
- Wartono, & Kirana, R. (2020). Karakterisasi morfologi *Phytophthora* asal cabai dan seleksi ketahanan enam genotipe Cabai Rawit (*Capsicum frutescens*) terhadap penyakit busuk akar. *J. Berkala Penelitian Agronomi*, 8(2), 25–32.
<https://doi.org/dx.doi.org/10.33772/agronomi>.