

PENDUGAAN PARAMETER GENETIK KETAHANAN TANAMAN KAKAO TERHADAP PENYAKIT BUSUK BUAH

Rubiyo¹⁾ dan Sudarsono²⁾

¹⁾**Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan**

Jalan Tentara Pelajar No 1 Bogor 16111

criec@gmail.com

²⁾**Institut Pertanian Bogor**

Jalan Kamper Kampus IPB Darmaga, Bogor

(Diajukan tanggal 22 Agustus 2011, diterima tanggal 18 Oktober 2011)

ABSTRAK

Metode cepat untuk pemuliaan ketahanan sebagai upaya mendapatkan klon kakao unggul berdaya hasil dan bermutu hasil yang tinggi serta resisten terhadap penyakit utama seperti busuk buah akibat infeksi *Phytophthora palmivora* perlu dicari. Untuk itu, tersedianya informasi tentang berbagai parameter genetik akan sangat membantu dalam program pemuliaan kakao di Indonesia. Salah satu metode pendugaan parameter genetik yang dapat digunakan adalah analisis silang dialel. Penelitian bertujuan untuk menduga parameter genetik ketahanan tanaman kakao terhadap penyakit *P. palmivora*, menggunakan silangan setengah dialel. Persilangan menggunakan lima klon kakao sebagai tetua (ICCRI 3, TSH 858, DR 1, ICS 13 dan Sca 6). Klon kakao tersebut merupakan klon terpilih hasil pengujian ketahanan dari penelitian sebelumnya, dengan tingkat ketahanan rentan sampai tahan. Jumlah genotipe dalam penelitian ini ada 15, terdiri dari 10 F1, dan 5 tetua. Penelitian berlangsung di kebun percobaan Kaliwining Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia Jember Jawa Timur berlangsung pada tahun 2007-2008. Bibit hasil persilangan yang digunakan untuk penelitian tiap kombinasi terdiri dari 20 bibit diulang 3 kali. Jenis inokulum yang digunakan miselia, dari inokulum yang terpilih pada penelitian I. Inokulasi dilakukan pada daun dan untuk menjaga kelembaban (90%) disungkup dengan plastik. Pengamatan dilakukan 3 hari setelah inokulasi terhadap luas bercak yang diakibatkan infeksi *P. palmivora*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak ada interaksi gen yang terjadi dalam menentukan ketahanan terhadap penyakit *P. Palmivora* yang banyak dipengaruhi oleh aksi gen aditif. Nilai Kd/Kr adalah 1,3594 yang menunjukkan bahwa gen-gen dominan lebih banyak didalam tetua. Nilai heritabilitas dalam arti luas maupun heritabilitas dalam arti sempit masuk kelompok tinggi.

Kata Kunci : Tanaman kakao, parameter genetik, ketahanan, *P. palmivora*.

ABSTRACT

Estimation of genetic parameters for resistance against black pod disease due to infection of in cocoa. Rapid method for cocoa breeding as an effort to produce high productivity and quality cocoa clones which are resistant to main disease infected by Phytophthora palmivora, pathogen causing black pod disease, needs to be investigated. For that reason, providing the information about various genetic parameters will really assist to solve the problems in cocoa cultivation and farming in Indonesia. One of the estimation methods of some genetic parameters which is eligible to be used is diallel crossing analysis. The research aimed at estimating genetic parameter of cocoa resistance to the disease caused by P. palmivora, using half diallel crossing. The cross used five cocoa clones as parental clones (ICCRI 3, TSH 858, DR 1, ICS 13 and Sca 6). The clones represented selected clones resulted from resistance evaluation of previous research, with the resistance level from vulnerable to resistant. The number of genotypes in this research were 15, consisting of 10 F1, and 5 parental clones. Research took place from 2007 to 2008 in Experimental Plot of Kaliwining, Indonesian Coffee and Cocoa Research Center, Jember East Java. Seedlings from the crossing used for the research of every combination consisted of 20 seedlings replicated 3 times. Inoculum type used was mycellia, from selected inoculum in research I. Inoculation was done in leaf and to maintain the moisture (90%) it was covered by plastic. Observation was conducted 3 days after inoculation on the spot area caused by P. palmivora infection. The research indicated that there was no gene interaction in determining resistance to the disease caused by P. palmivora which mostly influenced by additive gene actions. Kd / kr was 1,3594 indicated that there were more dominant gene in parental. Heritability values in a broad and narrow sense belong to high group.

Keywords : Cocoa, genetic parameters, resistance, *P. palmivora*.

PENDAHULUAN

Peningkatan daya hasil dan perbaikan mutu kakao Indonesia, dapat dilakukan melalui program intensifikasi dan ekstensifikasi penanaman kakao. Penerapan kedua program tersebut di Indonesia memerlukan tersedianya bahan tanam (bibit dan benih) kakao unggul. Kakao yang merupakan tanaman perkebunan penting di Indonesia, bahan tanamnya dikembangkan secara vegetatif (kakao mulia/*edel cocoa*) atau dengan menggunakan benih hibrida F1 (kakao lindak/*bulk cocoa*) (Suhendi *et al.*, 2004).

Program pemuliaan tanaman kakao yang dilakukan bertujuan untuk menghasilkan klon kakao unggul baru yang lebih baik dibandingkan dengan klon kakao yang sudah ada. Selain mampu berproduksi tinggi, pemuliaan kakao di Indonesia ditujukan untuk mengembangkan klon unggul yang resisten terhadap penyakit utama yang menyerang kakao, seperti busuk buah akibat infeksi *Phytophthora palmivora* dan *vascular-streak dieback* (VSD) akibat infeksi *Oncobasidium theobromae* (Iswanto & Junianto, 1987; Suhendi *et al.*, 2005).

Pengembangan kakao mulia (*edel cocoa*) di Indonesia relatif terbatas karena kendala dalam budidayanya (Sunaryo & Sudarsono, 1980). Sebaliknya, pengembangan kakao lindak (*bulk cocoa*) saat ini dilakukan dengan menggunakan bahan tanam yang berasal dari benih hibrida F1 (Iswanto *et al.*, 1994). Benih hibrida F1 dihasilkan dari kebun benih kakao yang dirancang secara khusus dengan menggunakan induk betina dan induk jantan, berdaya hasil dan bermutu hasil tinggi, mempunyai sifat-sifat penting seperti ketahanan terhadap penyakit utama yang menyerang kakao, serta ditanam dengan pola tanam tertentu (Iswanto *et al.*, 1999). Benih hibrida diproduksi secara *open pollination* (OP) dengan memanfaatkan sifat inkompatibilitas yang dimiliki oleh tanaman kakao pada umumnya (Suhendi *et al.*, 2000). Penggunaan kombinasi klon tetua yang tepat dalam produksi benih hibrida F1 berpotensi untuk mendapatkan heterosis diantara populasi bibit asal benih F1 yang didapat (Rubiyo *et al.*, 2000).

Penyakit busuk buah kakao yang disebabkan oleh *P. palmivora* merupakan salah satu penyakit utama yang menyerang kakao di Indonesia (Sri-Sukamto & Mawardi, 1986; Purwantara, 1990; Sudarmadji & Pawirosoemardjo, 1990).

Pengembangan kakao di berbagai sentra produksi kakao menghadapi kendala penyakit busuk buah karena merupakan daerah endemik penyakit ini (McMahon & Purwantara, 2004). Penggunaan isolat *P. palmivora* indigenus Indonesia untuk mengembangkan klon yang resisten melalui pemuliaan merupakan langkah penting yang harus dilakukan. Isolasi dan karakterisasi isolat indigenus *P. palmivora* telah dilakukan dalam penelitian sebelumnya (Rubiyo *et al.*, 2008a; 2008b).

Informasi tentang kendali genetik dan heritabilitas sifat ketahanan terhadap penyakit busuk buah pada kakao sangat diperlukan dalam rangka mendukung program pemuliaan kakao di Indonesia. Perilaku genetik dari gen pengendali sifat ketahanan terhadap infeksi *P. palmivora* dapat diduga melalui pendugaan parameter genetik dengan metode analisis silang dialel (Falconer, 1981). Metode silang dialel merupakan evaluasi genetik menyeluruh serta merupakan pendekatan secara sistematis dan analitis yang berguna untuk mengidentifikasi persilangan dan seleksi awal pasangan tetua yang terbaik (Allard, 1966). Selain itu, pendugaan daya waris terhadap klon-klon yang ada dengan persilangan dialel juga dapat digunakan untuk mengidentifikasi pasangan tetua yang dapat menghasilkan hibrida F1 dengan sifat-sifat unggul yang diinginkan (Bahihaki, 1989). Persilangan dialel juga akan menghasilkan informasi tentang daya gabung umum (DGU), daya gabung khusus (DGK), daya waris (heritabilitas) dan heterosis sangat penting untuk pemuliaan kakao yang gentipenya mayoritas heterosigot (Falconer, 1989; Welsh, 1981; Phoelman & Slepser, 1995).

Penelitian yang dilakukan bertujuan untuk mendapatkan informasi dasar untuk pemuliaan kakao ke arah pengembangan klon yang tahan terhadap penyakit busuk buah akibat infeksi *P. palmivora*, serta mengidentifikasi klon dengan daya gabung dan heterosis yang baik. Secara spesifik, tujuan penelitian yang dilakukan untuk menduga berbagai parameter genetik yang mengontrol sifat ketahanan tanaman kakao terhadap infeksi *P. palmivora*. Hasil penelitian yang dilakukan diharapkan dapat memberikan sejumlah informasi dasar yang dapat membantu usaha perbaikan genetik tanaman kakao, terutama dalam hubungannya dengan sifat ketahanan terhadap penyakit busuk buah akibat infeksi *P. palmivora* di Indonesia.

BAHAN DAN METODE

Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan meliputi penelitian lapangan dan laboratorium. Pembentukan populasi hibrida kakao dilakukan di Kebun Percobaan Kaliwining Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia Jember (50 m dpl) dengan tipe iklim C menurut Schmit dan Ferguson. Kegiatan perbanyakan dan pemeliharaan isolat *P. palmivora* dilakukan di Laboratorium Penyakit Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia. Penelitian dilaksanakan pada bulan Januari 2008 sampai dengan bulan Maret 2009.

Isolat *P. palmivora* yang digunakan merupakan biakan murni isolat LBSUMBAR yang berasal dari daerah Lubuk Basung Sumatera Barat. Inokulum miselia yang digunakan berasal dari biakan murni yang diperbanyak dengan menggunakan media agar V8 juice. Kultur patogen diinkubasikan di ruang gelap dengan suhu 26°C dan miselia yang aktif tumbuh siap digunakan setelah 12 hari sesudah isolasi. Sedangkan untuk menghasilkan inokulum zoospora, kultur dibiakkan pada media agar V8 juice dan zoospora dipanen 12 hari sesudah inokulasi. Zoospora dipisahkan dari miselia dengan cara dimasukkan ke dalam kulkas suhu $\pm 4^{\circ}\text{C}$ selama 5 menit agar zoospora berkecambah, kemudian ditambahkan air steril sebanyak 10 ml ke dalam media sambil dikocok agar zoospora terikut air tersebut, dan diencerkan hingga mencapai kerapatan 10^4 - 10^5 zoospora/ml.

Bahan Tanaman yang Digunakan

Lima klon kakao yang digunakan sebagai tetua telah ditanam di kebun koleksi plasma nutfah Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia, Jember sejak tahun 1994 dengan menggunakan bibit klonal hasil okulasi. Setiap klon terpilih yang digunakan sebagai tetua masing-masing terdiri atas lima tanaman dan dipilih yang memiliki tingkat pertumbuhan dan habitus tanaman yang seragam.

Persilangan antar tetua dilakukan secara terkontrol (*hand pollination*). Sehari sebelum persilangan, bunga dari tetua betina terpilih diisolasi dengan cara dikerodong menggunakan tabung obat (diameter 3 cm dan panjang 5 cm) yang

ujungnya telah dilobangi dan ditutup dengan kain strimin. Tabung obat diikat ke batang dan untuk mencegah masuknya serangga penyerbuk yang tidak diinginkan, pinggir tabung obat yang berbatasan dengan batang tanaman kakao ditutup dengan parafin. Persilangan dilakukan dengan cara menghilangkan staminodia (lima benang sari palsu) yang mengelilingi kepala putik dengan menggunakan pinset agar tidak mengganggu saat mengoleskan pollen ke kepala putik dan melakukan proses persilangan. Bunga jantan sebagai sumber pollen diambil dari klon kakao terpilih yang sesuai dengan kombinasi persilangan yang diinginkan. Bunga jantan dipilih yang masih segar, disimpan dalam petridis setelah dipetik, dan diberi label sesuai dengan nomer klonnya. Bunga jantan dipilih yang mempunyai serbuk sari viabel, yaitu berwarna putih transparan dan tidak berwarna kuning atau kecoklatan (pollen sudah rusak).

Dalam proses penyerbukan, tangkai sari dipotong dari bunga jantan dengan menggunakan pinset dan serbuk sarinya dioleskan ke kepala putik dari bunga betina yang sudah siap untuk diserbuki. Pengolesan serbuk sari ke kepala putik dilakukan 2-3 kali secara pelan-pelan agar putik tidak rusak. Indikasi serbuk sari sudah menempel pada kepala putik jika kepala putiknya kelihatan membesar dan membuka. Bunga yang telah diserbuki ditutup kembali dengan tabung obat sebagaimana dijelaskan sebelumnya.

Keberhasilan penyerbukan diamati dua hari setelah persilangan yang ditandai dengan bunga yang disilang tidak rontok. Hasil persilangan yang didapat diberi label sesuai dengan kombinasi klon tetua dan tanggal persilangannya. Buah yang berkembang sebagai hasil persilangan dipelihara hingga masak atau sekitar lima bulan sesudah polinasi. Buah kakao yang telah masak antara lain ditandai dengan perubahan warna pada kulit buahnya, yaitu yang ketika muda berwarna hijau menjadi kuning bila masak dan yang ketika muda berwarna merah menjadi oranye bila masak. Kombinasi persilangan antar tetua disusun dalam kombinasi *half dialel* dengan jumlah kombinasi persilangan sebanyak 10 (10 famili F1 hasil persilangan antar tetua, Tabel 2).

Tabel 1. Karakteristik klon kakao sebagai tetua untuk pembentukan populasi hibrida F1
 Table 1. Characteristics of cocoa clones as parental for the formation of F1 hybrid population

Klon	Daya hasil klon *		Ketahanan terhadap infeksi <i>P. palmivora</i> **
	Produksi buah	Ukuran biji	
ICCRI 3	Tinggi	Besar	Tahan/Agak tahan
TSH 858	Tinggi	Besar	Agak rentan
DR 1	Tinggi	Besar	Rentan
ICS 13	Tinggi	Sedang	Agak tahan
Sca 6	Sedang	Kecil	Tahan/Agak tahan

Keterangan/Notes:

* (Iswanto & Winarno, 1984; Iswanto & Sunaryo, 1985; Sunaryo & Sudarsono, 1980.; Suhendi *et al.*, 2005).

** Berdasarkan pengujian yang dilakukan dengan menggunakan metode inokulasi buah

Based on the research carried out by the application of fruit inoculation method

(Sri-Sukamto & Mawardi, 1986; Winarno & Sri-Sukamto, 1986 ; Rubiyono *et al.*, 2008b:).

Tabel 2. Persilangan setengah dialel dengan lima tetua untuk menghasilkan hibrida F1.

Table 2. Half diallel crossing by five parental to produce F1 hybrid

♀ \ ♂	ICRI 3	TSH 858	DR1	ICS 13	SCA 126
ICRI3	-	x	x	x	x
TSH858		-	x	x	x
DR1			-	x	x
ICS 13				-	x
SCA 126					-

Keterangan/Note: (x) hibrida F1 turunan hasil persilangan antar tetua.

(-) F1 hybrid of parental intercrossing

Sebelum ditanam, benih F1 hasil persilangan terkontrol yang dipanen selanjutnya diekstrak dari buah kakao, dikecambahkan dalam bak pengecambahan dan diseleksi keseragaman serta kesehatannya. Hanya kecambah yang seragam pertumbuhannya, bebas dari serangan hama dan penyakit yang dipilih dan ditanam dalam media pembibitan.

Kecambah hasil persilangan yang terpilih ditanam di kantong plastik hitam (*polybag*) berukuran 20 x 15 cm, berisi media campuran tanah : pasir : pupuk kandang (2:1:1). Pembibitan dilakukan di rumah kaca, diberi naungan dari paranet hitam yang dipasang dengan ketinggian 1,5 m (bagian timur) dan 1 m (bagian barat) di atas bedengan untuk menghindari panas matahari langsung. Bedengan pembibitan dibuat dengan arah utara ke selatan. Bibit dipelihara dengan melakukan penyiraman setiap pagi dan sore hari hingga bibit berumur satu bulan.

Uji Ketahanan Populasi Hibrida Hasil Persilangan Dialel

Penelitian disusun dengan rancangan lingkungan acak kelompok faktor tunggal (10 hibrida dan 5 klon tetua) dengan 3 ulangan. Setiap unit percobaan terdiri atas 20 bibit kakao sehingga secara keseluruhan terdapat 900 (15 x 3 x 20) bibit kakao. Jumlah 20 bibit per ulangan dari setiap genotipnya dipilih untuk memenuhi asumsi homosigositas karena populasi bibit kakao yang digunakan dalam penelitian sebetulnya ada dalam kondisi heterosigot. Jumlah populasi sebagaimana yang digunakan dalam penelitian ini biasa digunakan pada pengujian yang dilakukan pada tanaman perkebunan seperti kelapa sawit yang juga dalam kondisi heterosigot.

Populasi bibit yang diuji dipelihara di rumah plastik hingga berumur satu bulan. Dalam salah satu penelitian, masing-masing bibit yang diuji diinokulasi dengan potongan agar (0.5 cm²) bermiselia yang telah disiapkan sebelumnya. Bibit

yang telah diinokulasi disungkup plastik transparan dan dijaga kelembabannya agar mencapai 90%. Pengamatan dilakukan mulai enam hari setelah inokulasi dengan cara mengukur panjang dan lebar bercak pada permukaan daun kakao yang diuji. Pengamatan dilakukan setiap hari dan diakhiri bila terdapat tanaman kakao yang mati akibat inokulasi. Pengamatan luas bercak dilakukan dengan cara mengukur lebar dan panjang bercak yang ditimbulkan dari hasil inokulasi pada daun kakao. Panjang dan lebar bercak diukur dengan menggunakan kertas millimeter yang telah dibungkus dengan selotip transparan.

Penelitian intensitas penyakit. Dalam penelitian ini bibit yang digunakan mempunyai umur yang sama seperti penelitian di atas. Bibit diinokulasi dengan menyemprotkan zoospora *P. palmivora* (10^4 - 10^5 zoospora/ml) ke permukaan daun menggunakan sprayer. Bibit yang telah diinokulasi disungkup plastik transparan dan dijaga kelembabannya agar mencapai 90%. Penelitian Intensitas penyakit ini terdiri dari 10 hibrida F1 dan lima tetua. Setiap perlakuan dengan menggunakan 20 bibit kakao umur 1 bulan diulang tiga kali. Pengamatan dilakukan mulai enam hari setelah inokulasi dengan menghitung persentase gejala pada permukaan daun kakao yang diuji dan menentukan indek intensitas penyakitnya (IIP). Pengamatan dilakukan setiap hari dan diakhiri bila terdapat tanaman kakao yang mati akibat inokulasi. Gejala bercak diamati dengan parameter skoring gejala penyakit mengacu pada metode Fee (1983) yang dimodifikasi seperti tertera dalam Tabel 3. Hasil nilai intensitas penyakit digunakan untuk mengelompokkan tanaman menjadi lima kategori seperti pada Tabel 3.

Dari data skor yang diperoleh dihitung indek penyakit ditentukan dengan rumus:

$$IP = \frac{\sum_{i=1}^n n.v}{Z.N} \times 100\% \dots\dots\dots (8)$$

- IP : intensitas penyakit
- N : jumlah tanaman berskor
- V : skor ke-i
- Z : nilai skor tertinggi

Tabel 3 Skor gejala bercak infeksi *P. palmivora*
Table 3. Symptom scores infected spots of *P. palmivora*

Skor	Serangan	Gejala
0	Sehat	0% terinfeksi
1	Sangat ringan	< 5% daun terinfeksi
2	Ringan	5-10% daun terinfeksi, klorosis/nekrotis belum ada daun gugur sudah ada pembengkakan lentisel
3	Sedang	10-25% daun terinfeksi, klorosis, nekrotis sudah ada daun gugur, sudah ada pembengkakan lentisel
4	Agak berat	25-50% daun terinfeksi, klorosis, nekrotis, daun gugur lentisel membengkak
5	Berat	50-75% daun terinfeksi, klorosis, nekrotis, daun gugur lentisel membengkak
6	Sangat berat	>75% daun terinfeksi, klorosis, nekrotis, daun gugur lentisel membengkak bibit mati

Tabel 4. Pengelompokan ketahanan kakao terhadap *P. Palmivora*

Table 4. Grouping of cocoa resistance to *P. palmivora*

Kategori	Intensitas Penyakit (%)
Tahan	0-30
Agak Tahan	31-50
Sedang	51-65
Agak Rentan	66-80
Rentan	81-100

Analisis Data

Pendugaan parameter genetik sifat ketahanan kakao terhadap infeksi *P. palmivora* dilakukan dengan analisis dialel menggunakan pendekatan Hayman (Singh dan Chaudhary, 1979) sebagai berikut:

- a. **Analisis ragam.** Populasi dialel dianalisis menggunakan rancangan lingkungan acak kelompok dengan tiga ulangan. Model statistik yang digunakan

$$Y_{ijkl} = m + T_{ij} + b_k + (bT)_{jk} + e_{ijkl} \dots\dots\dots (9)$$

- Y_{ijkl} : nilai pengamatan pada genotipe $i \times j$ dalam k ulangan
- m : nilai tengah umum
- T_{ij} : pengaruh genotipe $i \times j$
- b_k : pengaruh ulangan ke- k
- $(bT)_{jk}$: pengaruh interaksi
- e_{ijkl} : pengaruh galat

Komponen analisis ragam untuk pendekatan Hayman yang dimodifikasi untuk tetua heterosigot (model 1 menurut Becker, 1953) disajikan pada Tabel 5. Jika dari hasil analisis Anova diperoleh perbedaan yang nyata diantara genotipe, maka analisis dapat dilanjutkan ke tahapan berikutnya, yaitu pendugaan nilai ragam dan peragam untuk masing-masing peubah yang diamati sebagai indikasi respon ketahanan terhadap infeksi *P. palmivora*.

Tabel 5. Komponen Analisis Ragam untuk populasi dialel
Table 5. Component Analysis Variety for Dialel Population

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Kuadrat Tengah	KT Harapan
Ulangan	b-1	KT _b	$s_e^2 + ns_b^2$
Genotipe	n-1	KT _g	$s_e^2 + bs_g^2$
Galat	(n-1)(b-1)	KT _e	s_e^2
Total	Bn-1		

b. **Pendugaan ragam dan peragam.** Untuk menduga nilai ragam dan peragam, data dirata-ratakan berdasarkan ulangan membentuk tabel setengah dialel (Tabel 6).

$$\text{Rata-rata tetua } (M_{10}) = \frac{\sum_{i=j} x_{ij}}{n};$$

$$\text{Ragam tetua } (V_{OLO}) = \frac{1}{n-1} \sum_{i=j} (x_{ij})^2 - \frac{\sum_{i=j} x_{ij}^2}{n};$$

$$\text{Ragam array } (V_{ri}) = \frac{1}{n-1} \sum_{j=1}^n (x_{ij})^2 - \frac{\sum_{j=1}^n x_{ij}^2}{n};$$

$$\text{Rata-rata ragam array } (V_{LLi}) = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n V_{ri};$$

Ragam rata-rata array

$$(V_{OLi}) = \frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (\bar{x}_i)^2 - \frac{\sum_{j=1}^n x_{ij} \cdot x_{i'j}}{n};$$

Peragam antara tetua dan keturunan (W_{ri})

$$= \frac{1}{n-1} \sum_{j=1}^n (\bar{x}_{ij} \cdot x_{i'j}) - \frac{\sum_{j=1}^n x_{ij} \cdot x_{i'j}}{n};$$

$$\text{Rata-rata peragam tetua dan array } (W_{OLO}) = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n W_{ri};$$

dan Perbedaan rata-rata tetua dan rata-rata semua keturunan

$$(M_{L1} - M_{LO}) = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \bar{x}_i - \frac{\sum_{i=1}^n \bar{x}_i}{n};$$

Tabel 6. Persilangan dialel ketahanan kakao terhadap *P. Palmivora*
Table 6. Dialel crossing of cocoa resistance to *P. Palmivora*

Tetua	ICCRI 3	TSH 858	DR 1	GC 7	Sca 6	X _i	Rata-rata
ICCRI 3	X ₁₁	X ₁₂	X ₁₃	X ₁₄	X ₁₅	X _{1.}	X _{1.} / 5
TSH 858	-	X ₂₂	X ₂₃	X ₂₄	X ₂₅	X _{2.}	X _{2.} / 5
DR 1	-	-	X ₃₃	X ₃₄	X ₃₅	X _{3.}	X _{3.} / 5
ICS 13	-	-	-	X ₄₄	X ₄₅	X _{4.}	X _{4.} / 5
Sca 6	-	-	-	-	X ₅₅	X _{5.}	X _{5.} / 5

c. **Grafik W_r - V_r .** Parabola diperoleh dengan menghubungkan titik-titik dari persamaan: $W_{ri} = (V_{ri} \times V_{OLO})^{1/2}$, regresi diperoleh dengan menghubungkan titik-titik dari persamaan: $W_{rei} = W_r - bV_r + bV_{ri}$. dan intersep regresi diperoleh dari: $a = W_r - bV_r$. Semakin dekat letak tetua dengan pangkal persilangan sumbu x-y maka kandungan gen dominannya secara relatif semakin tinggi, sebaliknya semakin jauh letak tetua dengan pangkal persilangan sumbu x-y maka kandungan gen dominannya semakin kecil.

d. **Pendugaan komponen ragam.** Pendugaan komponen ragam yang dilakukan adalah:

$$D = V_{OLO} - E$$

$$F = 2 V_{OLO} - 4 W_{OLO} - 2(n-2)E/n$$

$$H_1 = V_{OLO} - W_{OLI} + 4 V_{ILI} - (3n-2)E/n$$

$$H_2 = 4 V_{ILI} - 4 V_{OLI} - 2E$$

$$h^2 = 4(M_{II} - M_{LO})^2 - 4(n-1)E/n^2$$

$$S^2 = 1/2[Var(Wr - Vr)]$$

$$SE(D) = [(n^5 + n^4)/n^5] * (S^2)$$

$$SE(F) = [(4n^5 + 20n^4 - 16n^3 + 16n^2)/n^5] * (S^2)$$

$$SE(H_1) = [(n^5 + 41n^4 - 12n^3 + 4n^2)/n^5] * (S^2)$$

$$SE(H_2) = [(36n^4)/n^5] * (S^2)$$

$$SE(h^2) = [(16n^4 + 16n^2 - 32n + 16)/n^5] * (S^2)$$

$$SE(E) = [(n^4)/n^5] * (S^2)$$

Keterangan:

D : komponen ragam karena pengaruh aditif;

F : nilai tengah \bar{F}_r untuk semua array; F_r adalah peragam pengaruh aditif dan non aditif pada array ke-r;

H_1 : komponen ragam karena pengaruh dominasi;

H_2 : perhitungan untuk menduga proporsi gen negatif dan positif pada tetua;

h^2 : pengaruh dominasi (sebagai jumlah aljabar dari semua persilangan saat heterozigous);

E : komponen ragam karena pengaruh lingkungan.

Jika intersep bernilai positif atau $D > H_1$, interaksi yang terjadi adalah dominan sebagian, jika bernilai negatif atau $D < H_1$ berarti overdominan. Dominan lengkap jika $D = H_1$, serta tidak terdapat dominan jika garis regresi menyentuh batas parabola.

e. **Pendugaan parameter lain.** Parameter lain yang diduga adalah: rataan tingkat dominasi =

$(H_1/D)^{1/2}$; Proporsi gen-gen dengan pengaruh positif dan negatif dalam tetua = $H_2/4H_1$; Proporsi gen-gen dominan dan resesif dalam tetua = $(4DH_1)^{1/2} + F/(4DH_1)^{1/2} - F$.

Selain itu juga ditentukan jumlah kelompok gen yang mengendalikan sifat dan menimbulkan dominansi = h^2 / H_2 ; Heritabilitas arti luas (h^2_{BS}) dan Heritabilitas arti sempit (h^2_{NS}).

$$h^2_{BS} = \frac{(1/2D + 1/2H_1 - 1/4H_2 - 1/2F)}{1/2D + 1/2H_1 - 1/4H_2 - 1/2F + E};$$

dan

$$h^2_{NS} = \frac{(1/2D + 1/2H_1 - 1/2H_2 - 1/2F)}{(1/2D + 1/2H_1 - 1/2H_2 - 1/2F + E)}$$

Jika korelasi negatif, nilai $W_{ri} + V_{ri}$ -nya paling rendah, berarti mengandung gen dominan paling banyak.

f. **Pendugaan tetua paling dominan dan paling resesif.**

$V_D = (V_{OLO}) x_1^2$; $V_R = (V_{OLO}) x_2^2$; $W_D = (V_{OLO}) x_1$ dan $W_R = (V_{OLO}) x_2$; x_1 dan x_2 diperoleh dari akar persamaan: $(V_{OLO}) x^2 - (V_{OLO})x + (W_{OLO} - V_{ILI})$; Nilai tetua dominan penuh (YD) = $\bar{Y}_r + b[(W_D + V_D) - (W_{OLO} + V_{ILI})]$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penggunaan analisis silang dialel memiliki beberapa keuntungan dibandingkan dengan metode analisis lainnya. Diantaranya adalah: (1) secara ekperimental merupakan pendekatan sistematis, (2) secara analitik merupakan evaluasi genetik menyeluruh yang berguna dalam mengidentifikasi persilangan bagi potensi seleksi yang terbaik pada awal generasi (Johnson 1963). Di dalam analisis silang dialel, pendugaan parameter genetik sudah dapat dilakukan pada F1, tanpa harus membentuk populasi F2, BCP1 maupun BCP2, seperti pada teknik pendugaan parameter genetik lainnya.

Dalam pelaksanaan, analisis silang dialel harus memenuhi beberapa asumsi berikut: (1) segregasi diploid, (2) tidak ada perbedaan antara

persilangan resiprokal, (3) tidak ada interaksi antara gen-gen yang tidak satu alel, (4) tidak ada multialelisme, (5) tetua homosigot, (6) gen-gen menyebar secara bebas diantara tetua (Hayman, 1954).

Asumsi-asumsi ini harus dipenuhi dan dibuktikan sebelum analisis dialel dapat dilakukan. Pada penelitian ini digunakan populasi yang berasal dari tetua yang tidak homozigot. Untuk itu semua asumsi dapat dipenuhi, dan model analisis yang digunakan mengikuti Metode Griffing (1956) untuk menghitung daya gabung pada tanaman singkong yang tetuanya heterosigot (bukan galur murni) yaitu untuk sifat ketahanan terhadap penyakit (Owolade *et al.*, 2006). Sebagian besar tanaman yang dibudidayakan mempunyai dua set kromosom atau disebut diploid. Pasangan kromosom pada individu yang mempunyai tingkat ploidi demikian, pada waktu meiosis berjalan dengan normal, sehingga akan menghasilkan gamet yang sempurna. Tanaman kakao mempunyai tingkat ploidi diploid (Chesmen, 1956), dengan demikian segregasi gen-gen yang terjadi merupakan segregasi diploid.

Adanya interaksi antara gen-gen yang tidak satu alel di dalam analisis silang dialel dapat diuji dengan nilai koefisien regresi b dari garis regresi antara W_r (peragam antara tetua dan keturunan dari *array* ke r terhadap V_r (ragam di dalam *array* ke r). Apabila nilai $b = 1$ maka tidak ada interaksi antara gen-gen tidak sealel (Singh & Chaudhary, 1979). Adanya beberapa alel yang mengendalikan suatu karakter akan menyulitkan analisis silang dialel.

Dalam penelitian ini, genotipe-genotipe kakao yang digunakan diklonkan sehingga homogen, karena tanaman kakao adalah heterosigot dan asumsi homosigot sulit terpenuhi. Gen-gen yang mengendalikan suatu karakter harus menyebar diantara tetua-tetua persilangan. Untuk memenuhi asumsi ini maka dipilih tetua yang mewakili tetua tahan, moderat dan rentan. Dengan terpenuhinya asumsi tersebut maka keluaran yang dapat diperoleh dari suatu analisis silang dialel Metode Hayman adalah (Singh & Chaudhary 1979): (1) keragaman karena pengaruh aditif (D), (2) nilai tengah F_r genotipe (rata-rata F_r untuk semua *array* (F); peragam pengaruh aditif dan non aditif pada *array* ke- r), (3) keragaman karena pengaruh dominansi (H_1), (4) perhitungan untuk menduga

proporsi gen negatif dan positif pada tetua (H_2), (5) pengaruh dominansi /sebagai jumlah aljabar dari semua persilangan saat heterosigot (h^2), (6) keragaman karena pengaruh lingkungan (E), (7) rata-rata tingkat dominansi $(H_1/D)^{1/2}$, (8) proporsi gen-gen dengan pengaruh positif dan negatif di dalam tetua ($H_2/4H_1$), (9) proporsi gen-gen dominan dan resesif di dalam tetua (Kd/Kr), (10) jumlah kelompok gen yang mengendalikan sifat dan menimbulkan dominansi (h^2/H_2), (11) heritabilitas dalam arti luas (h^2_{bs}), (12) heritabilitas dalam arti sempit (h^2_{ns}).

A. Pendugaan Parameter Genetik

Pendugaan parameter genetik menggunakan analisis silang dialel dapat dilakukan apabila terdapat perbedaan yang nyata antar genotipe berdasarkan uji F terhadap karakter luas bercak ketahanan penyakit busuk buah *P. palmivora* (Singh & Chaudhary, 1979). Berdasarkan Anova diperoleh hasil analisis yang sangat nyata antar genotipe berdasarkan parameter luas bercak akibat inokulasi terhadap *P. palmivora*. Hal ini menunjukkan bahwa pendugaan parameter genetik dapat dilakukan pada genotipe kakao yang diuji

Interaksi Gen

Interaksi gen dapat dilihat berdasarkan nilai $b(W_r, V_r)$, jika nilai b berbeda nyata dengan satu maka terdapat interaksi antar gen, tetapi jika nilai b tidak berbeda nyata dengan satu maka tidak terdapat interaksi antar gen (Roy 2000; Sousa dan Maluf 2003). Berdasarkan hasil uji koefisien regresi $b(W_r, V_r)$ tidak berbeda nyata dengan satu (Tabel 7), dengan demikian tidak terdapat interaksi gen dalam menentukan ketahanan terhadap karakter luas bercak pada penyakit busuk buah *P. palmivora*. Hal ini membuktikan bahwa salah satu asumsi analisis silang dialel dapat dipenuhi.

Pengaruh Aditif (D) dan Dominansi (H1)

Pengaruh aditif (D) berperan sangat nyata terhadap ketahanan kakao untuk penyakit busuk buah dari semua klon yang digunakan. Besarnya pengaruh aditif 0,0386, sedangkan pengaruh dominan (H_1) juga sangat nyata (0,0989) (Tabel 8). Hal ini menunjukkan bahwa sifat ketahanan terhadap penyakit busuk buah yang disebabkan *P. palmivora* pada persilangan tanaman kakao banyak dipengaruhi oleh aksi gen aditif. Ragam genetik

aditif merupakan penyebab utama kesamaan diantara kerabat (antara tetua dengan keturunannya). Ragam genetik dominan merupakan penyebab utama ketidaksamaan diantara kerabat. Ragam ini merupakan basis utama bagi heterosis dan kemampuan daya gabung. Dengan demikian hanya aksi gen aditif dan dominan yang menentukan keragaman ketahanan terhadap penyakit *P. palmivora*. aksi gen aditif lebih kecil dibandingkan gen dominan hal ini menunjukkan bahwa ragam genetik lebih ditentukan oleh aksi gen dominan.

Distribusi Gen di Dalam Tetua

Distribusi gen tetua (Tabel 8) menunjukkan bahwa dari nilai H_2 gen-gen yang menentukan pewarisan sifat tahan terhadap penyakit busuk buah, tidak menyebar merata di dalam tetua. Hal ini terlihat dari nilai H_2 (proporsi gen-gen positif/negatif dalam tetua) yang sangat nyata. Proporsi gen-gen positif akan terlihat dari besarnya nilai H_1 terhadap H_2 . Jika $H_1 > H_2$ maka gen-gen yang banyak adalah gen-gen positif, sebaliknya apa bila $H_1 < H_2$ maka gen-gen negatif akan lebih banyak dari pada gen-gen positif. Ketahanan tanaman kakao terhadap penyakit busuk buah yang disebabkan oleh *P. palmivora* ini ditentukan oleh gen-gen positif. Hal ini terlihat dari nilai $H_1 > H_2$, ini mengindikasikan bahwa tetua yang membawa gen yang berbeda memberikan respon

yang berbeda terhadap ketahanan penyakit busuk buah kakao.

Tingkat Dominansi

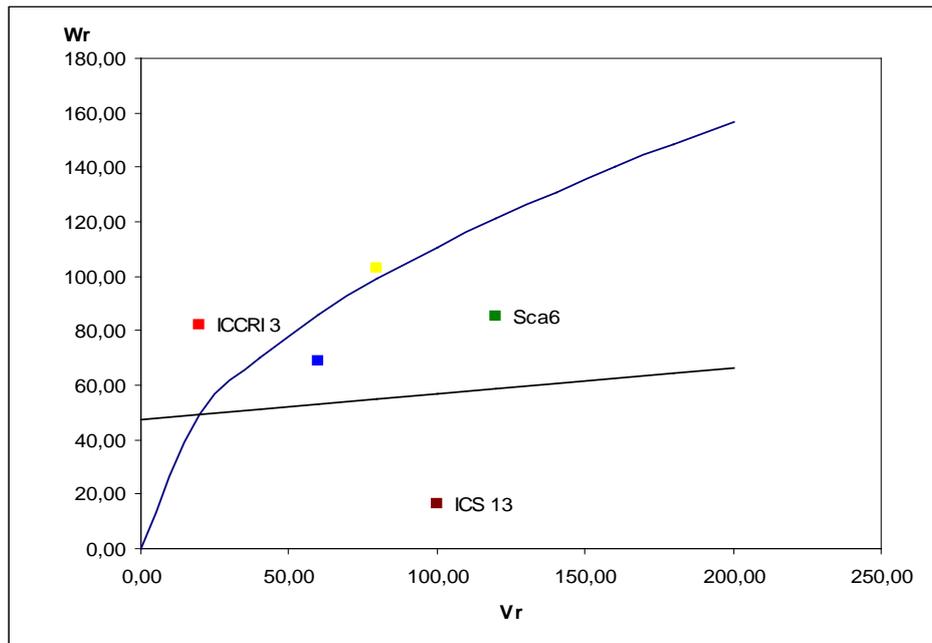
Besarnya pengaruh dominansi dari nilai $(H_1/D)^{1/2}$. Nilai $(H_1/D)^{1/2}$ (Tabel 8) menunjukkan adanya over dominan dengan nilai 1,6003. Menurut Hayman (1954), nilai $(H_1/D)^{1/2}$ lebih dari satu menunjukkan adanya over dominansi, sedangkan nilai $(H_1/D)^{1/2}$ antara nol dan satu menunjukkan dominansi parsial (dominansi parsial atau resesif parsial)

Proporsi Gen Dominan terhadap Gen Resesif.

Banyaknya gen – gen dominan di dalam tetua tercermin dari nilai Kd/Kr . Apabila $Kd/Kr > 1$ maka gen-gen dominan lebih banyak di dalam tetua. Sebaliknya apabila $Kd/Kr < 1$ maka gen-gen resesif lebih banyak didalam tetua. Pada Tabel 8, terlihat bahwa nilai Kd/Kr adalah 1,3594 menunjukkan bahwa gen-gen dominan lebih banyak di dalam tetua. Hal ini mengindikasikan bahwa apabila gen dominan dari genotipe kakao yang digunakan sebagai tetua untuk menghasilkan keturunan yang lebih baik kemungkinan sulit dicapai. Oleh karena itu diharapkan dalam perakitan hibrida dikombinasikan antara tetua yang dominan dan resesif.

Tabel 8 Pendugaan parameter genetik ketahanan genotip kakao terhadap *P. Palmivora*
 Table 8. Estimation of genetic parameters of resistance of cocoa genotypes to *P. palmivora*

Parameter Genetik	Nilai	Keterangan
Koefisien regresi (b)	0,4493	tn
Komponen ragam karena pengaruh aditif (D)	0,0386	**
Rerata Fr untuk semua array (F)	0,0188	tn
Komponen ragam karena pengaruh dominansi (H_1)	0,0989	**
Proporsi gen-gen positif/negative dalam tetua (H_2)	0,0700	**
Pengaruh dominansi (h^2)	0,1497	**
Rata-rata tingkat dominansi $(H_1/D)^{1/2}$	1,6003	Over dominant
Komponen ragam karena pengaruh lingkungan (E)	0,0017	
Proporsi gen-gen positif/negatif dalam tetua	0,1768	
Proporsi gen-gen dominan dan resesif dalam tetua (Kd/Kr)	1,3594	Gen dominant
Jumlah gen pengendali (h^2/H_2)	2,1396	
Heritabilitas arti sempit (h^2ns)	0,5589	Tinggi
Heritabilitas arti luas (h^2bs)	0,9600	Tinggi



Gambar 1. Hubungan peragam (W_r) dan Ragam (V_r) 5 klon kakao sifat ketahanannya terhadap penyakit busuk buah *P. palmivora*.

Figure 1. Relationship of varian (W_r) and variety (V_r) of 5 cocoa clones resistant properties of black pod disease *P. palmivora*

Arah dan urutan dominansi

Urutan dominansi tetua (berdasarkan $w_r + v_r$) untuk sifat ketahanan terhadap penyakit busuk buah *P. palmivora*. (Gambar 1). Klon ICS 13 merupakan tetua paling banyak mengandung gen dominan (16,68), diikuti DR1 (68,65) sedangkan tiga klon yang lainnya TSH 858 paling banyak mengandung gen resesif bersama dengan Sca 6 dan ICCRI 3. Urutan dominansi makin dekat dengan letak pada titik nol maka tetua tersebut paling banyak mengandung gen dominan, sebaliknya semakin jauh dengan titik nol maka tetua tersebut paling banyak mengandung gen resesif (Sudjindro *et al.*, 1991; Sousa & Maluf, 2003).

Berdasarkan arah dan urutan dominansi terhadap tetua-tetua tersebut dimungkinkan tetua yang resesif akan berpeluang menghasilkan hibrida yang baik dalam hal aspek heterosisnya. Jika hal tersebut terbukti maka, diduga peluang untuk menghasilkan hibrida pada tanaman kakao dimiliki oleh ICCRI 3 dan Sca 6.

Jumlah Gen Pengendali karakter

Ketahanan tanaman kakao terhadap penyakit busuk buah yang disebabkan oleh *P. palmivora* dikendalikan oleh gen resesif. Jumlah gen pengendali tercermin dari nilai (h^2/H_2) . Jumlah

gen yang mengendalikan ketahanan kakao terhadap penyakit busuk buah *P. palmivora* 2,1396 (dua).

Heritabilitas

Berdasarkan hasil analisis menggunakan ragam fenotipe dan ragam genetik aditif, diketahui bahwa hasil pendugaan nilai daya waris (heritabilitas) berdasarkan luas bercak hasil inokulasi terhadap *P. palmivora* dengan pendekatan persilangan dialel besarnya heritabilitas dalam arti luas (h^2_{bs}) adalah 0,9600, sedangkan heritabilitas dalam arti sempit (h^2_{ns}) sebesar 0,5589 (Tabel 9). Sedangkan berdasarkan intensitas penyakit heritabilitas dalam arti luas dan sempit adalah tinggi dan sedang. Mangoendidjojo (2003) mengelompokkan heritabilitas sebagai berikut: $h^2 > 50\%$ = tinggi, $20\% \leq h^2 \leq 50\%$ = sedang dan $h^2 < 20\%$ = rendah. Menurut klasifikasi tersebut heritabilitas terduga berdasarkan komponen luas bercak tersebut tinggi. Heritabilitas dalam arti sempit yang tinggi menggambarkan besarnya peranan penampilan gen aditif. Hanson (1963) menyatakan bahwa heritabilitas dalam arti sempit hanya menggambarkan besarnya peran penampilan gen-gen aditif dalam menentukan besarnya keragaman genetik dalam hubungannya dengan keragaman fenotipik.

Tabel 9. Heritabilitas dalam arti luas (h^2_{bs}) dan heritabilitas dalam arti sempit (h^2_{ns}) komponen ketahanan berdasarkan luas bercak dan Intensitas Penyakit terhadap *P. Palmivora*

Table 9. The broad and narrow sense heritability of resistant components based on extensive patches and disease intensity of *P. palmivora*

Karakter	Heritabilitas (h^2)	
	h^2_{bs} (%)	h^2_{ns} (%)
Luas bercak	96,00	55,89
Kriteria	Tinggi	Tinggi
Intensitas penyakit	50,46	20,95
Kriteria	Tinggi	Sedang

Berdasarkan nilai duga heritabilitas di atas dapat diartikan bahwa karakter ketahanan dapat digunakan sebagai alat yang efisien sebagai salah satu alat seleksi untuk klon kakao dalam rangka mendapatkan bahan tanam yang unggul dan tahan terhadap *P. palmivora*.

Berdasarkan nilai heritabilitas arti luas dari luas bercak maupun intensitas penyakit *P. Palmivora* menunjukkan nilai yang tinggi. Heritabilitas arti sempit untuk luas bercak tinggi sedangkan untuk intensitas penyakit masuk kelompok sedang. Nilai heritabilitas adalah merupakan pernyataan kuantitatif peran faktor genetik yang mengukur kemampuan suatu genotip dalam populasi tanaman untuk mewariskan karakter-karakter yang dimiliki. Pengertian lain menjelaskan bahwa heritabilitas adalah suatu pendugaan yang mengukur sampai sejauh mana variabilitas penampilan suatu genotip dalam populasi terutama disebabkan oleh peranan faktor genetik. Pemahaman tersebut diperoleh dari pengertian bahwa pendugaan heritabilitas adalah merupakan perbandingan varian genetik dengan varian fenotip suatu karakter dalam populasi (Poehlman dan Sleper, 1995; Allard, 1960).

Melalui heritabilitas dapat diketahui apakah keragaman yang timbul pada suatu karakter terutama disebabkan oleh faktor genetik atau oleh faktor lingkungan. Dengan demikian para pemulia tanaman dapat memperlihatkan dari karakter mana yang dapat memberikan respon terhadap suatu usaha perbaikan yang akan dilakukan. Walaupun Heritabilitas merupakan parameter genetik yang memberikan arti besar dalam pemuliaan tanaman, tetapi bukan merupakan suatu konstanta yang bernilai tetap.

Menurut Falconer dan Mackay (1996), dan Fehr (1987) bahwa nilai heritabilitas

menunjukkan besarnya peran faktor genetik dalam fenotipe suatu karakter. Sehingga nilai duga heritabilitas dapat digunakan untuk menduga peran gen-gen pengendali suatu karakter ketahanan tanaman kakao. Nilai duga heritabilitas yang rendah mengindikasikan karakter tersebut merupakan karakter kuantitatif yang dikendalikan banyak gen, hal ini peran lingkungan terhadap fenotip sangat dominan. Oleh karena itu, bila nilai duga heritabilitas yang tinggi mengindikasikan bahwa karakter tersebut dikendalikan oleh gen-gen mayor.

Nilai duga daya waris (heritabilitas) arti luas peubah luas bercak hari ke 6 dan ke 7 setelah inokulasi tergolong sedang dan tinggi. Nilai duga heritabilitas ini merupakan parameter genetik yang mengungkap proporsi ragam genetik terhadap ekspresi sifat-sifat tersebut. Kontribusi ragam genetik terhadap ekspresi luas bercak masing-masing adalah (36,9%) dan (53,2%). Hal ini menunjukkan bahwa peran faktor genetik terhadap ekspresi kerentanan tanaman terjadi secara berimbang dengan pengaruh faktor non genetik.

Nilai daya waris tersebut merupakan tolak ukur pendugaan keefektifan seleksi (Johnson *et al.*, 1995). Berdasarkan hasil ini, seleksi akan kurang efektif bila dilakukan saat kondisi faktor-faktor non genetik kurang mendukung. Terdapat 2 faktor yang diidentifikasi berpengaruh terhadap ekspresi kerentanan tanaman kakao terhadap *P. palmivora* yaitu tingkat kelebatan buah (Kebe *et al.*, 1996; Nyasse *et al.*, 1996) dan kemampuan tanaman menghindari (*escape*) infeksi *P. palmivora* (Kebe *et al.*, 1996).

KESIMPULAN

1. Tidak terdapat interaksi antar gen dalam menentukan ketahanan terhadap penyakit busuk buah kakao, banyak dipengaruhi oleh aksi gen aditif.
2. Nilai heritabilitas dalam arti luas maupun sempit tergolong tinggi untuk luas bercak, sedangkan berdasarkan intensitas penyakit tinggi hingga sedang.
6. Heterosis tertinggi diperoleh dari persilangan dari DR1 x ICS 13, DR1 x Sca 6 dan ICS 13 x Sca 6.

DAFTAR PUSTAKA

- Ambreen A, Chowdhry MA, Khaliq I, Ahmad R. 2002. Genetic determination for some drought related leaf traits in bread wheat. *Asian Journal of Plant Science* 3:232-234.
- Allard RW. 1960. Principles of Plant Breeding. New York: J Weley & Sons. 485 p.
- Falconer DS. 1985. Introduction to quantitative Genetics. 2nd. London, New York. Longman Group Limited.
- Falconer DS, Mackay TFC. 1996. Introduction to Quantitative Genetics. 4th ed. Longman: Essex.
- Fehr WR. 1987. Principles of Cultivar Development. Theory and Techniques. Vol 2. London: Macmillan Publ.
- Griffing B. 1956. Concepts of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems. *Aust. J. Biol. Sci.* 9,463-493.
- Hayman, BI. 1954. The theory and analysis of diallel cross. *Genetics* 39, 789-809.
- Hanson WD. 1963. Heritability. In WD. Hanson and NF. Robinson (Eds) *Statistical genetics and plant breeding*. NAS-NRC Pbl. No 982, National Academy of Science, National Research Council, Wasington DC., 125-139.
- Iswanto, A. dan H. Winarno, (1992). Cocoa breeding at RIEC Jember and the role of planting material resistant to VSD and black pod. Dalam P.J. Keane & C.A.J. Putter (Eds). *Cocoa Pest and Disease Management in Southeast Asia and Australasia*: 163-169. FAO Plant Production and Protection Paper No. 112.
- Iswanto A & Yuniarto D. 1987. Pengaruh ukuran bakal biji dan serbuk sari terhadap bentuk dan berat biji kakao. *Pelita Perkebunan* 3: 185-188.
- _____, Winarno & D. Suhendi, 1999. Kajian Stabilitas hasil dan komponen buah beberapa hibrida kakao. *Pelita Perkebunan* 15(2): 81-90.
- _____, Winarno & P. Astutiningsih 1994. Seleksi Pendahuluan Ketahanan terhadap penyakit kanker batang *P. palmivora* pada beberapa kakao hibrida F1 setelah terjadinya banjir. *Prosiding Simposium Pemuliaan Tanaman II: 128-131*.
- Iwaro DA, Sreenivasan TN & Umaharan. 1993. Relationship between leaf and pod resistance in cocoa to *Phytophthora palmivora* infection. CRU, Univ. West Indies, Trinidad: 33-39.
- Iwaro DA, Sreenivasan TN & Umaharan. 1995. Differential reaction of cocoa clones to *Phytophthora palmivora* infection. CRU, Univ. West Indies, Trinidad: 79-85.
- Iwaro DA, Sreenivasan TN & Umaharan. 1997. *Phytophthora palmivora* resistance in cocoa (*Theobroma cacao*): influence of pod morphological characteristics. *Plant Pathology* 46: 557-565.
- Iwaro AD, Sreenivasan TN & Umaharan. 1998. Cocoa resistance to *Phytophthora*: effect of pathogen species, inoculation depths, and pod maturity. *Eropean J. Plant Pathol.* 104:11-15.
- Iwaro, D.A., T.N.Sreenivasan., Umaharan & J.A. Spence. 1999. Studies on Black Pod Disease in Trinidad. Proc. Int. Workshop on the Contribution of Desiase Resistance to Cocoa Vareity Improvement. P: 67-74. Salvador, Bahia, Brasil. 24-26th November.

- Johnson R. 1978. Pratical breeding for durable resistance to rust diseases in self-pollinating cereal. *Euphytica* 27, 529-540.
- Kushalappa CA and AB Eskes. 1989. Advances in coffee rust Research. *Ann.Rev.Phytopathol.* 27, 503-531.
- McWhirter KS. 1979. Breeding of cross pollinated crops. In R. Knight (Ed.) , *Plant breeding.* Australian Vice Consellers Committee, Brisbane.
- Mawardi S. 1996. Kajian Genetika Ketahanan Tak Lengkap Kopi Arabika Terhadap Penyakit Karat Daun (*Hemeleia vastatrix* B.et Br) di Indonesia. [Disertasi]. Yogyakarta. Universitas Gajah Mada. 219 hal.
- Mangoendidjojo W. 2003. Dasar-dasar Pemuliaan Tanaman. Yogyakarta. Kanisius.
- Mahmood T, Shabbir G, Sarfraz M, Sadiq M, Bhati MK, Mehdi SM Jamil M, Hassan G. 2002. Combining ability studies in rice (*Oryza sativa* L) under salinized soil conditions. *Asian Journal of Plant Science* 1:88-90.
- Noshin, Iqbal MM, Din R, Khan SJ, Khan SU, Khan IU & Khan MU. 2003. Genetic analysis of yield its components in F1 generation of brown mustard (*Brassica juncea* L.Czem and Coss). *Asian Journal of Plant Science.* 2: 1027-1033.
- Purwantara, A. 1990. Pengaruh beberapa unsur cuaca terhadap infeksi *Phytophthora palmivora* pada buah kakao. *Menara Perkebunan* 58: 78-83.
- Purwantara A & Prawirosoemardjo S. 1990. Fluktuasi intensitas serangan terhadap *Phytophthora palmivora* pada buah kakao di daerah beriklim basah. *Menara Perkebunan* 58: 44-50
- Poelhman JM, Sleper AD. 1996. Breeding Field Crops. Iowa State University Press. Ames
- Prawirosoemardjo, S. & Purwantara A. 1992. Laju infeksi dan intensitas serangan *Phytophthora palmivora* (Butl) Butl. Pada buah dan batang pada beberapa varietas kakao. *Menara Perkebunan* 60: 67-72
- Rubiyo, Purwantara A, Sri-Sukamto & Sudarsono. 2008a. Isolation of indigenous *Phytophthora palmivora* from Indonesia, their morphological and pathogenicity characterizations.. *Pelita Perkebunan* 24 : 37- 49.
- Roy D. 2000. *Plant breeding analysis and exploitation of variation.* New Delhi:Narosa Publishing House. 701 hal.
- Rocha, H.M. 1974. Breeding cacao for resistance to *Phytophthora palmivora* Dalam P.H Gregory (Ed). *Phytophthora Disease of Cocoa:* 211-218 Longman London.
- Sujiprihati S. 1996. Heterosis, combining ability and yield prediction in hybrid from local maize inbred lines [PhD]. Malaysia: University.247 hal.
- Saosa JA de, Maluf WR. 2003. Diallel analysis and estimation of genetic parameters of hot pepper. *Sci Agric* 60(1): 105-113.
- Singh RK & Chaudary BD. 1979. *Biometrical methods in quantitative genetic analysis.* Kalyani Pub. New Delhi, 304 p.
- Suhendi, D., H. Winarno. & A.W. Susilo (2005). Peningkatan produksi dan mutu hasil kakao melalui penggunaan klon baru. *Prosiding Simposium Kakao. Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia*, hlm. 98-111. Yogyakarta, 4-5 Oktober 2004.

Van der Plank JE. 1963. *Plants Diseases epidemics and control*. Academic Press, N.Y, 349p.

Wells JR.1981. *Fundamental of Plant Genetic and Breeding*. USA: John Wiley & Sons.224 pp.