

RESPON DAUN BEBERAPA GENOTIPA PALA TERHADAP *Botryodiplodia theobromae*

Supriadi¹, Agus Nurawan¹, E.A. Hadad¹, Esther M. Adhi¹
dan Nuri Karyani¹

¹Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat

²Instalasi Pengkajian Teknologi Pertanian Cicurug, Balai Pengkajian dan
Penerapan Teknologi Pertanian Lembang

ABSTRAK

Pala merupakan salah satu tanaman penting sebagai bahan baku rempah dan minyak atsiri, berasal dari Kepulauan Maluku (Pulau Banda, Ternate dan Tidore) dan Irian Jaya. Salah satu patogen yang berpotensi menyebabkan kerusakan pada tanaman pala adalah *Botryodiplodia theobromae*, yang juga menyerang jambu mente dan tanaman lainnya. Tujuan penelitian adalah mengevaluasi ketahanan daun 47 genotipa pala terhadap inokulasi *B. theobromae*. Daun pala diambil dari tanaman berumur 1,5 tahun yang ditanam di Kebun Percobaan Cimanggu dan Kebun Instalasi Cicurug, Jawa Barat. Percobaan dilakukan di laboratorium dengan menginokulasikan *B. theobromae* pada daun pala yang disimpan dalam kotak plastik yang diberi kelembab. Hasil percobaan menunjukkan *B. theobromae* dapat menginfeksi daun semua genotipa pala yang diuji. Namun, berdasarkan data persentase lebar dan panjang daun terinfeksi dapat diketahui bahwa daun pala genotipa Manado 57, Banda 5, Tidore Jaya 427 termasuk yang paling kecil persentase infeksinya. Hasil bioassay ekstrak kasar daun pala yang disuntikkan ke dalam daun melalui lapisan epidermisnya menyebabkan sel-sel jaringan daun mati berwarna kecokelatan. Dengan demikian diduga bahwa mekanisme kerusakan pada daun disebabkan oleh dihasilkan senyawa toksin oleh *B. theobromae*.

Kata kunci : Pala, *Botryodiplodia theobromae*, resistensi, toksin

Response of different genotypes of nutmeg leaves to the inoculation of Botryodiplodia theobromae

ABSTRACT

Nutmeg, one of the most important crops used for spices, is native to the Moluccan islands (Banda, Ternate and Tidore), and Irian island. One of the pathogens which potentially cause disease on nutmeg is *Botryodiplodia theobromae*. The fungus also causes disease on cashew and other crops. This study was aimed to evaluate the resistance of leaves of 47 nutmeg genotypes originally from different sources such as Manado, Moluccas and Irian Jaya, to the inoculation of *B. theobromae*. The experiment was conducted in plastic boxes by inoculating nutmeg leaves taken from 1.5 year-old plants grown in Experimental Gardens at Cimanggu and Cicurug, West Java. Results showed that all the 47 genotypes of nutmeg were susceptible to infection of the pathogen. However, based on the infection percentage on infected leaves, genotypes Manado 57, Banda 5, Tidore Jaya 427 showed smallest infection. Experiment using leaf crude filtrate injected into the epidermic layer of leaves caused browning of dying cells. This implied that *B. theobromae* produced a kind of toxins in the infected leaves.

Key words : Nutmeg, *Botryodiplodia theobromae*, resistance, toxin

PENDAHULUAN

Tanaman pala adalah salah satu komoditas penting bagi Indonesia. Menurut data statistik perkebunan tahun 1994, produksi pala Indonesia meningkat 2,44% dari tahun 1990 (16.882 ton) sampai tahun 1994 (23.792 ton). Pada tahun 1993, konsumsi dalam negeri pala adalah 13.384 ton, sedang ekspor adalah 10.408 ton, senilai US\$ 9.250.000. Daerah penghasil utama pala di Indonesia adalah DI Aceh dengan produksi 8.938 ton, Sulawesi Utara (7.312 ton), Maluku (4.800 ton) dan Irian Jaya (1.279 ton), sedang dari daerah-daerah lain seperti Sumatera Barat, Sulawesi Selatan, Jawa Barat dan Jawa Tengah produksinya kurang dari satu ton (Anon., 1994).

Pala merupakan tanaman asli Maluku (Pulau Banda, Ternate dan Tidore) dan Irian Jaya. Ada tiga tipe pala yang paling banyak dibudidayakan di Indonesia, yaitu pala Banda (*Myristica fragrans* Houtt.), pala Patani (*M. succedanea* Reinw.), dan pala Irian (*M. argentea* Warb.) (Hadad dan Hamid, 1990). Di Maluku, terdapat lima tipe pala lainnya, yaitu *M. speciosa* Warb., *M. scheffert* Warb., *M. fatva* Houtt., *M. tingens* BL. dan *M. sylvestris* (Heyne, 1927). Karena sifat tanaman pala menyerbuk silang, maka di dalam tipe-tipe pala tersebut terdapat berbagai genotipa baru hasil persilangan secara alami (*open pollination*). Berbagai genotipa pala berasal dari beberapa tempat di Maluku, Irian dan Sulawesi Utara telah dikoleksi di Balitro sejak tahun 1989/1990, dan

ditanam pada Kebun Plasma Nutfah *ex situ* di Kebun Instalasi Cicurug, Sukabumi, Jawa Barat (Hadad, 1993).

Penyakit penting pada tanaman pala saat ini antara lain busuk-buah basah yang disebabkan oleh *Colletotrichum gloeosporioides* (Mandang-Sumaraw, 1981). Kerugian akibat serangan *C. gloeosporioides* di PTP XVIII diperkirakan mencapai 62-78% setara dengan kerugian hasil 1,33 milyar rupiah/tahun bila jumlah buah sakit mencapai 30% (Tarigans dan Tombe, 1989). Penyakit-penyakit lainnya yang diketahui menyerang pala adalah penyakit busuk-buah kering *Stigmina myristicae* Stein (atau *Coryneum myristicae* Stein), busuk buah dan gugur daun (*Phytophthora palmivora* Butl.), dan penyakit fisiologis yakni pecah buah mentah (Semangun, 1988). Cendawan *Botryodiplodia* sp. juga dapat menyerang tanaman pala (Purseglove *et al.*, 1981) dan akhir-akhir ini cendawan *B. theobromae* terbukti merupakan salah satu patogen yang sangat potensial menimbulkan kerusakan pada jambu mente (Supriadi *et al.*, 1994) dan juga menyebabkan busuk pada buah dan nekrosis pada daun pala (Supriadi *et al.*, 1995).

Metoda penanggulangan penyakit busuk buah oleh *B. theobromae* sedang diteliti. Tulisan ini menguraikan tentang hasil uji resistensi beberapa genotipa pala terhadap inokulasi dan studi pendahuluan dalam skala laboratorium tentang ekstraksi toksin yang dihasilkan oleh *B. theobromae*.

BAHAN DAN METODE

Bahan tanaman

Sebanyak 47 genotipa pala diuji responnya terhadap inokulasi *B. theobromae*. Benih-benih pala yang digunakan berasal dari biji yang dikoleksi dari pohon induk pala dari beberapa daerah di Kepulauan Maluku, Irian dan Sulawesi Utara. Genotipa pala yang akan diuji (berumur 1,5 tahun) ditanam di KP Cimanggu (20 nomor) dan di kebun Instalasi Cicurug (27 nomor). Dari masing-masing genotipa diambil secara acak delapan lembar daun muda untuk uji resistensinya.

Cara inokulasi

B. theobromae, isolat nomor C031, berasal dari tanaman jambu mente di kebun Instalasi Cikampek, digunakan sebagai cendawan uji. Cendawan ditumbuhkan pada medium agar kentang dekstrosa (PDA) pada suhu 30°C selama 2 hari. Cara inokulasi mengikuti metoda seperti diuraikan oleh Supriadi *et al.* (1994) dengan menggunakan daun pala yang telah dilukai tulang daunnya, kemudian pada daerah luka ditempelkan potongan PDA (1 x 1 cm²) yang mengandung miselia cendawan. Daun yang telah diinokulasi disimpan di atas kawat ayam dalam box plastik yang berisi aquades (dengan kelembaban udara relatif 100 %). Sebagai kontrol daun pala yang diinokulasi dengan potongan PDA tanpa mengandung miselia cendawan. Pengamatan dilakukan dengan cara mengukur panjang dan lebar maksimum jaringan

daun yang bergejala penyakit, 4 hari setelah inokulasi. Setiap perlakuan/genotipa terdiri dari 4 ulangan (4 lembar daun). Data kemudian dikonversikan menjadi persentase penyakit dengan rumus :

$$\text{Persentase daun terinfeksi} = \frac{\text{Pi atau Li}}{\text{Ps atau Ls}} \times 100$$

Pi = panjang daerah infeksi;

Ps = panjang maksimum daun;

Li = lebar daerah infeksi;

Ls = lebar maksimum daun

Pembuatan ekstrak kasar toksin

Uji pendahuluan tentang kemungkinan dihasilkan sejenis toksin oleh *B. theobromae* isolat nomor C031, dilakukan dalam skala laboratorium. Tiga bahan digunakan untuk tujuan ini, yaitu filtrat ekstrak medium cair dari daun yang telah diinokulasi dengan *B. theobromae*, dan ekstrak daun buah pala yang telah diinokulasi dengan cendawan *B. theobromae*. Filtrat daun pala dibuat dengan cara menghancurkan daun pala dengan blender (10 g daun dalam 100 ml aquades) selama 3 menit, disaring, dimasukkan dalam erlenmeyer 150 ml masing-masing 50 ml, kemudian diinkubasikan pada suhu kamar dan disinari secara terus-menerus dengan lampu neon (600 lux) selama 7 hari. Miselia dipisahkan dari bagian yang cair yang mengandung ekstrak kasar ("crude extract") toksin dengan sentrifusi dan disterilkan dengan filter steril (diameter pori 0,45 µm). Daun atau buah (150 g/150 ml air) yang telah

diinokulasi dan menunjukkan gejala sakit (7 hari setelah inokulasi) diperlakukan seperti cara di atas untuk memperoleh ekstrak kasar toksinnya. Ekstrak kasar toksin disimpan dalam kulkas (suhu 4 °C).

Bioassay

Untuk pengujian ada tidaknya toksin yang dihasilkan oleh jamur *B. theobromae* dilakukan dengan cara merendam sebagian pucuk jambu mente di dalam ekstrak kasar toksin, dalam botol steril. Botol yang berisikan potongan pucuk kemudian dimasukkan dalam kotak plastik dan disimpan dalam ruangan dengan suhu 20 °C. Sebagai kontrol digunakan potongan pucuk yang direndam dalam filtrat ekstrak daun sehat. Bioassay juga dilakukan dengan cara menyuntikkan ekstrak kasar toksin ke dalam daun pala melalui epidermis daun di sekitar tulang daun. Sebagai kontrol disuntikkan filtrat yang dibuat dari ekstrak daun sehat. Indikasi adanya toksin dicirikan dengan terbentuknya jaringan mati pada pucuk atau daerah daun bekas suntikan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Respon daun pala dari 47 genotipa terhadap inokulasi *B. theobromae* ditunjukkan oleh adanya gejala sakit pada daun yang diinokulasi (Gambar 1). Gejala penyakit pada daun yang terinfeksi yaitu jaringan daun menjadi nekrotik, mati berwarna cokelat kehitaman. Perkembangan gejala penyakit pada daun pala muda lebih cepat dibandingkan dengan daun pala yang lebih tua. Beberapa hari

setelah inokulasi, tubuh buah (piknidia) cendawan banyak ditemukan pada daerah yang terinfeksi. Piknidia mengandung konidia cendawan baik bersel satu tidak berwarna dan konidia bersel dua berwarna cokelat kehitaman, yang merupakan ciri khas konidia *B. theobromae*.

Berdasarkan persentase panjang dan lebar daun yang terinfeksi, 4 hari setelah inokulasi, menunjukkan ada sedikit perbedaan respon kepekaan dari masing-masing genotipa. Empat di antara genotipa yang menunjukkan persentase terkecil (dibandingkan dengan ukuran keseluruhan) panjang dan lebar daun terinfeksi yaitu genotipa Manado 57 (dengan persentase panjang x lebar 17,3 x 21,6); Banda 5 (19,6 x 10,6), Tidore Jaya 427 (20,0 x 18,0) dan Manado 27 (27,4 x 36,6) (Tabel 1). Walaupun ada perbedaan persentase daun terinfeksi, namun terlihat bahwa piknidia cendawan ditemukan pada semua daun yang terinfeksi. Hal ini berarti bahwa semua jaringan sakit berpotensi sebagai sumber inokulum. Respon jaringan tanaman lainnya, seperti pucuk dan batang, bibit pala terhadap inokulasi *B. theobromae* perlu diteliti.

Hasil inokulasi ini memberi petunjuk bahwa cendawan *B. theobromae* sangat potensial menyebabkan kerusakan pada buah dan daun pala, oleh karena itu perlu lebih diwaspadai terhadap kemungkinan timbulnya penyakit yang disebabkan oleh cendawan tersebut pada tanaman pala di lapangan. Berdasarkan hasil uji resistensi menunjukkan tidak ada

satupun dari berbagai genotipa pala yang diuji menunjukkan sifat tahan. Padahal, genotipa-genotipa pala tersebut berasal dari daerah asal pala, yaitu Maluku, Manado, Sulawesi Utara

patogen, tanaman inang serta keadaan lingkungan yang akan mendukung terjadinya penyakit.



Gambar 1. Gejala penyakit pada daun pala yang diinokulasi dengan *B. theobromae*, setelah 4 hari (SR 274 = pada genotipa Seram Rusa 274; AMH 252 = pala genotipa Ambon Mamala Hitu 252; IRR.YM 262 = pala genotipa Irian Yan Maliaro 262; dan TYT 278 = pala genotipa Ternate Yan Ternate 278).

Figure 1. Disease symptoms on nutmeg leaves, 4 days after inoculated with *b. theobromae* (SR 274 = Seram Rusa 274 nutmeg genotype; IRYM 262 = Irian Yan Maliaro 262 nutmeg genotype; and TYT 278 = Ternate Yan Ternate 278 nutmeg genotype)

dan Irian, dimana sebetulnya diharapkan mempunyai sumber keragaman genetika yang bervariasi.

Menarik untuk diamati, bahwa sampai saat ini belum pernah dilaporkan adanya kerusakan pada pertanaman pala di lapangan yang disebabkan oleh *B. theobromae*. Oleh karena itu maka aspek-aspek penting epidemiologi penyakit yang perlu diteliti, antara lain mengapa tidak timbul penyakit, kemungkinan cara penyebaran dan cara bertahannya

Perlu diperhatikan pula, bahwa daerah pengembangan jambu mente di Kawasan Timur Indonesia termasuk Maluku dan Sulawesi adalah daerah asal dan sentra produksi pala, sedangkan jambu mente adalah salah satu inang *B. theobromae* (Supriadi *et al.*, 1994). Purseglove *et al.* (1981) melaporkan bahwa *Botryodiplodia* pernah menyerang tanaman pala di Grenada dan cendawan ini dapat ditanggulangi dengan penyemprotan

Tabel 1. Respon beberapa genotipa pala terhadap inokulasi *Botryodiplodia theobromae* pada daun
 Table 1. Response of different nutmeg genotypes against *B. theobromae* inoculated on leaves.

Genotipa/Genotypes	Asal benih/ Seedling origin	Persentase daun terinfeksi*/ Percentage of infected leaves*	
		Panjang/Length	Lebar/Width
Manado 57	Manado	17,3	21,6
Banda 5	P. Banda Neira	19,6	10,6
Tidore Jaya 427	P. Tidore	20,0	18,0
Manado 27	Manado	27,4	36,6
Manado 23	Manado	32,6	42,5
Manado 24	Manado	33,7	29,0
Manado 62	Manado	33,0	25,8
Bacan	P. Bacan	34,4	29,4
Siau	P. Siau	34,2	56,2
Manado 60	Manado	39,1	33,1
Manado 61	Manado	41,0	26,5
Pala Hutan 142	P. Ambon	41,4	22,2
Manado 14	Manado	45,3	37,8
Patani 37	P. Tidore	47,7	25,3
Manado 32	Manado	48,2	40,8
Manado 16	Manado	49,6	36,4
Irian 111	P. Ternate	49,6	25,4
Manado 4	Manado	51,8	45,8
Manado 21	Manado	52,7	46,3
Banda Saparua 145	P. Saparua	53,6	17,9
Manado 18	Manado	55,5	60,5
Kupal 139	P. Bacan	56,2	29,0
Irian Yan Maliaro 262	P. Ternate	61,0	45,5
Ternate Yan Ternate 278	P. Ternate	61,3	48,9
Ternate 117	P. Ternate	64,4	37,7
Manado 25	Manado	64,5	56,5
Irian Yan Ternate 282	P. Ternate	70,9	37,5
Botol 124	P. Ternate	70,6	40,1
Irian Rum Tidore 429	P. Tidore	70,1	39,1
Manado 58	Manado	70,0	40,1
Manado 44	Manado	71,3	32,4
Manado 26	Manado	75,6	39,0
Seram Rusa 274	P. Seram	79,8	51,5
Bagea Yan Maliaro 176	P. Ternate	75,8	78,7
Gaji 76	P. Ternate	76,0	33,9
Banda Neira Rajawali 326	P. Banda Neira	79,4	47,4
Rica 161	P. Ternate	77,1	50,4
Manado 20	Manado	78,5	53,5
Bulat Panjang 147	P. Ternate	80,0	15,9
Petani Jati Ternate 303	P. Ternate	86,2	55,8
Tidore Jaya Tidore 328	P. Tidore	85,0	38,0
Ambon Mamala Hitu 252	P. Ambon	87,3	61,9
Ternate Marikurubu 354	P. Ternate	88,5	38,0
Banda Rum Tidore 431	P. Tidore	96,1	28,3
Irian Jati Ternate 424	P. Ternate	98,7	46,8
Bagea Yan Maliaro 421	P. Ternate	100,0	41,1

Nilai rata-rata dari 4 ulangan/Average number of 4 replicates

fungisida yang mengandung bahan aktif tembaga.

Hasil uji pendahuluan tentang ekstraksi toksin menunjukkan bahwa cendawan *B. theobromae* dapat menghasilkan senyawa kimia, yang diduga sejenis toksin, dengan sifat mematikan jaringan tanaman. Filtrat kasar yang mengandung toksin itu dapat dihasilkan baik dalam medium cair ekstrak daun ataupun jaringan daun dan buah yang telah diinokulasi dengan cendawan *B. theobromae*. Respon daun pala yang disuntik dengan filtrat kasar toksin mengakibatkan jaringan daun menjadi coklat, samaseperti jaringan daun yang diinokulasi dengan cendawan (Tabel 2). Hasil ini menunjukkan bahwa filtrat kasar tersebut mengandung senyawa toksin cendawan tersebut. Aktivitas filtrat kasar toksin tidak stabil dalam kondisi penyimpanan pada suhu 6 °C atau dengan perlakuan pemanasan (otoklaf). Penelitian lebih lanjut perlu dilakukan untuk mengidentifikasi jenis toksin yang dihasilkan oleh *B. theobromae* dan kemungkinan penggunaannya dalam skrining ketahanan tanaman.

Tabel 2. Perbandingan respon daun pala yang diinokulasi isolat *B. theobromae* dan daun yang disuntik dengan filtrat toksin

Table 2. Comparison of response between nutmeg leaves inoculated with *B. theobromae* isolate and leaves injected with toxin filtrate

Genotipa/Genotype	Diinokulasi/Inoculated	Disuntik/Injected
Banda Rum Tidore 431	I*	+**
Bagea Yan Maliaro 421	I	+
Ternate Marikurubu 354	I	+
Tidore Jaya Tidore 328	I	+
Irian Rum Tidore 429	I	+

* I = Timbul gejala penyakit/Appearance of disease symptoms

** + = Jaringan daun berwarna kecoklatan atau hitam/Brownish or blackish leaf tissues

- = Tidak ada gejala sakit/No disease symptoms

KESIMPULAN

Daun-daun pala berasal dari 47 genotipa yang diinokulasi dengan isolat *B. theobromae* tidak ada yang menunjukkan ketahanan. Mekanisme kerusakan yang terjadi pada daun yang diinokulasi diduga sebagai akibat dari toksin yang dihasilkan oleh patogen tersebut.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada Debby Febriyanti, SSi. yang telah membantu pelaksanaan penelitian, dan kepada Dr. Nurliani Bermawie serta Dr. D. Sitepu atas komentarnya terhadap naskah tulisan ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonymous. 1994. Data Statistik Perkebunan Indonesia 1992-1994 : Pala. Direktorat Jenderal Perkebunan. p. 2-3.
- Hadad, E. A. 1993. Laporan hasil eksplorasi pala di Kepulauan Maluku dan Irian. Kerjasama Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat dan Proyek ARMP 1992/

1993. Balittro Bogor. Internal Report.
- Hadad, E.A. dan O. Hamid. 1990. Mengenal berbagai plasma nutfah pala di daerah Maluku Utara. Prosiding Simposium I Hasil Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri. Caringin 25-27 Juli 1989. p. 1213-1222.
- Heyne, K. 1927. De Nuttige Planten var Nederlandesh India. Ruygrok and Co Batavia. 196 pp.
- Mandang-Sumaraw, S. 1981. Penyakit-penyakit jamur pada buah pala di Kabupaten Minahasa. Makalah Kongres Nasional VI PFI, Bukit Tinggi.
- Purseglove, J.W., E.G. Brwon, C.L. Green dan S.R.J. Robbins. 1981. Spices Vol I. Longman. London and New York. p. 174-227.
- Semangun, H. 1988. Penyakit-Penyakit Tanaman Perkebunan di Indonesia. Gadjah Mada University Press. p. 475-489.
- Supriadi, E. M. Adhi, D. Sitepu, D. Febriyanti dan N. Karyani. 1994. Identifikasi penyebab penyakit gumosis pada jambu mente (*Anacardium occidentale* L.). Buletin Penelitian Tanaman Rempah dan Obat IX (1): 1-4.
- Supriadi, D. Sitepu, E.M. Adhi dan D. Febriyanti. 1995. Perkembangan penelitian patogen *Botryodiplodia theobromae* pada jambu mente. Kongres Nasional XIII Perhimpunan Fitopatologi Indonesia, Mataram 25-27 September 1995.
- Tarigans, D.D. dan M. Tombe. 1989. Penelitian penyakit gugur buah muda pada tanaman pala di PTP XVIII. Tanaman Industri Lainnya (Buku VIII). Prosiding Simposium I Hasil Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri. p. 1223-1230.