
PENGUNAAN MARKA MOLEKULER DALAM SELEKSI GENOTIPE KAKAO DENGAN SIFAT KADAR LEMAK TINGGI

UTILIZATION OF MOLECULAR MARKERS FOR SELECTION OF COCOA GENOTYPES WITH HIGH BUTTER CONTENT

Cici Tresniawati, Nurya Yuniyati, dan Enny Randriani

BALAI PENELITIAN TANAMAN INDUSTRI DAN PENYEGAR

Jalan Raya Pakuwon Km 2 Parungkuda, Sukabumi 43357

cici_tresniawati@yahoo.com

ABSTRAK

Indonesia adalah negara penghasil biji kakao dan terkenal sebagai penghasil *Java 'A' light cacao*. Biji kakao tidak hanya digunakan untuk kebutuhan industri makanan dan minuman, namun juga dapat digunakan sebagai bahan baku kosmetik dan obat-obatan. Kadar lemak pada biji kakao diketahui cukup tinggi, sehingga tanaman kakao juga dikenal sebagai tanaman penghasil minyak. Banyak industri yang menggunakan lemak kakao sebagai bahan bakunya, selain kakao massa dan pasta kakao. Semakin banyak permintaan lemak kakao maka diperlukan perakitan varietas unggul yang memiliki kadar lemak tinggi. Perakitan varietas dapat dilakukan dengan pendekatan konvensional, yaitu melalui persilangan buatan (*hand pollination*) maupun secara inkonvensional melalui penggunaan marka molekuler. Seleksi terhadap klon-klon kakao dilakukan untuk mendapatkan calon-calon tetua yang memiliki kadar lemak tinggi. Informasi ini sangat diperlukan sebagai dasar dari proses kegiatan pemuliaan tanaman. Beberapa klon kakao penghasil kadar lemak tinggi adalah AP 70 (57,5%), AP 71 (58,1%), AP 72 (55,4%), AP 73 (56,2%), Scavina 6 (49,6-58,17%), TSH 858 (56%), ICCRI 01 (59%), ICCRI 02 (56%), ICCRI 03 (55,01%), ICCRI 04 (55,07%), ICCRI 06H (50,6-54,3%), GC 7 (52,25%), dan NA 312 (60,3%). Pendekatan molekuler dapat dimanfaatkan sebagai alat seleksi tidak langsung terhadap klon-klon kakao tersebut. Dalam pemetaan genetik genom kakao diketahui terdapat satu QTL yang berasosiasi dengan karakter kadar lemak yang terdapat di *linkage group* (LG) 9. QTL yang telah teridentifikasi tersebut dapat digunakan dalam proses seleksi dengan bantuan marka (*marker assisted selection* = MAS) pada program pemuliaan yang bertujuan untuk menyeleksi genotipe dengan karakter kadar lemak tinggi.

Kata kunci: Lemak kakao, persilangan, MAS, QTL

ABSTRACT

Indonesia is known as producer of cocoa bean, especially for Java 'A' light breaking cacao. Cocoa beans are not only used for food and beverage but also can be utilized as cosmetic and pharmaceutical raw material. Cocoa nibs have high butter content, therefore cacao plant also known as a producer of oil. Many industries use cocoa butter as a raw material, in addition to cocoa mass and cocoa liquor. Hence, demand for cocoa butter is always increase every year. Assembly of new variety in cacao with high butter content is needed in order to increase the yield of cocoa butter. Variety assembly can be done by conventional approach through hand pollination and in conventional approach by using molecular marker technology. The purpose of selection in cacao genotypes is to gain promising parent with high butter content. This information is important as the basis of plant breeding program. Some cacao plants are known to have high butter content including AP 70 (57.5%), AP 71 (58.1%), AP 72 (55.4%), AP 73 (56.2%), Scavina 6 (49.6-58.17%), TSH 858 (56%), ICCRI 01 (59%), ICCRI 02 (56%), ICCRI 03 (55.01%), ICCRI 04 (55.07%), ICCRI 06H (50.6-54.3%), GC 7 (52.25%), dan NA 312 (60.3%). Molecular approaches can be use as indirect tools to select cacao genotypes with high butter content. QTL mapping analysis identified one QTL that associated with butter content character, which mapped on linkage group 9 (LG 9). These QTL can be useful for further process such as marker assisted selection (MAS) in breeding program that aim to select cacao genotype with high butter content.

Keywords: Cocoa butter, crossing, MAS, QTL

PENDAHULUAN

Indonesia dikenal sebagai negara penghasil biji kakao lindak dan mulia. Kualitas biji kakao mulia yang baik menjadikan Indonesia terkenal sebagai negara penghasil *Java 'A' light breaking cacao* (Anita-Sari, Susilo & Yusianto, 2012). Berdasarkan data International Cocoa Organization [ICCO] (2010) Indonesia merupakan negara produsen biji kakao terbesar ketiga di dunia. Biji kakao (*nibs*) mengandung lemak, asam lemak, theobromin, kafein, protein, dan karbohidrat. Kadar lemak pada biji kakao diketahui cukup tinggi sehingga kakao juga

dikenal sebagai tanaman penghasil minyak (Pires, Cascardo, Lambert, & Figueira, 1998). Biji kakao mempunyai banyak manfaat, di antaranya sebagai bahan baku industri makanan dan minuman, serta dapat juga digunakan sebagai bahan kosmetik dan obat-obatan (Araujo *et al.*, 2009). Di samping itu, biji kakao mengandung zat antioksidan, yaitu theobromin yang dapat memberikan efek segar bagi orang yang mengkonsumsinya.

Biji kakao yang telah melalui proses sangrai (*roasting*) diolah menjadi berbagai macam produk setengah jadi, antara lain lemak kakao (*cocoa butter*), masa kakao (*cocoa mass*), pasta kakao (*cocoa liquor*),

dan pada proses yang lebih lanjut dapat dihasilkan kakao bubuk (*cocoa powder*) (Tanuhadi, 2012; ADM Cocoa, 2013). Banyak industri yang memanfaatkan lemak kakao sebagai bahan dasar pada produk makanan dan minuman.

Selama ini kegiatan pemuliaan tanaman kakao lebih banyak difokuskan pada peningkatan hasil dan ketahanan terhadap hama dan penyakit (Kennedy *et al. cited in* Pires *et al.*, 1998). Namun demikian, seleksi pada karakter kadar lemak memungkinkan untuk dilakukan mengingat tingkat keragaman klon-klon dengan karakter tersebut cukup luas serta dapat diketahui melalui seleksi pada karakter lain yang berasosiasi dengan karakter kadar lemak. Program pemuliaan untuk mendapatkan varietas dengan kadar lemak tinggi harus terus dilakukan. Selain itu, teknologi marka molekuler juga dapat digunakan untuk mendukung perakitan varietas dengan kadar lemak tinggi.

Penyediaan bahan tanaman kakao dapat dilakukan secara konvensional dan inkonvensional. Secara konvensional bahan tanaman kakao diperoleh melalui persilangan, namun demikian siklus reproduksi kakao yang panjang menyebabkan proses pemuliaan tanaman menjadi lama. Melalui pemuliaan inkonvensional gen-gen yang berpengaruh pada karakter kadar lemak kakao dapat diidentifikasi. Dengan teridentifikasinya gen tersebut, maka marka yang spesifik untuk sifat kadar lemak dapat didesain sehingga siklus perakitan varietas menjadi lebih singkat.

Tujuan dari tulisan ini adalah membahas mengenai pemuliaan tanaman kakao untuk sifat kadar lemak tinggi baik secara konvensional maupun inkonvensional. Oleh karena itu, diharapkan akan diperoleh varietas unggul baru dengan sifat kadar lemak tinggi yang dapat dimanfaatkan secara luas oleh para stakeholder kakao di Indonesia.

MUTU BIJI KAKAO

Penggunaan lemak kakao semakin meningkat setiap tahunnya, yang secara otomatis meningkatkan pula permintaan akan biji kakao baik secara nasional maupun internasional. Mutu biji kakao merupakan hal yang sangat penting dalam produksi kakao dan olahannya, diperlukan partisipasi seluruh sumberdaya manusia yang terlibat dalam usaha perkaokaoan dan industri cokelat (Yusianto, Wahyudi & Sulistyowati, 2008). Mutu biji yang baik tidak hanya diperoleh dari pengolahan pascapanen yang menerapkan GMP (*good manufacturing practice*), tetapi juga dari bahan tanaman yang memiliki karakter mutu biji yang baik (kadar air biji, berat biji, kadar kulit, dan kadar lemak), berproduksi tinggi serta tahan hama dan penyakit. Untuk memenuhi permintaan pasar diperlukan ketersediaan biji kakao yang berkualitas.

Mutu biji kakao ditentukan oleh bobot kering per biji lebih dari 1 g, persentase kadar kulit ari kurang dari 12% dan kadar lemak lebih dari 55% (Winarno & Suhendi, 2010). Berdasarkan Standar Nasional Indonesia [SNI] (2002) mutu biji kakao kering terbagi menjadi beberapa kategori yang

dinyatakan dalam ukuran, sedangkan nilai mutu ditentukan berdasarkan jumlah biji kakao per 100 g, seperti tertera pada Tabel 1. Untuk sifat kadar lemak, Khan *et al.* (2008) membagi kategori kadar lemak biji kakao menjadi tiga, yaitu kadar lemak tinggi ($> 55\%$), sedang (52,3–55%) dan rendah ($\leq 52,2\%$). Sebagai contoh, biji kakao hasil panen raya di Afrika Barat umumnya mengandung lemak kakao dengan kadar 55-58% (berat nib kering) (Yusianto *et al.*, 2008). Beberapa klon nasional memiliki kadar lemak bervariasi mulai 55-59%, yaitu ICCRI 01 (59%), ICCRI 03 (56%) (Suhendi, 2005); ICCRI 03 (55%), ICCRI 04 (55%) (Suhendi, 2006); serta klon-klon hibrida hasil persilangan, yaitu AP 70 (57,5%), AP 71 (58,1%), AP 72 (55,4%), AP 73 (56,2%), Scavina 6 (49,6-58,17%), TSH 858 (56%) (Iswanto, Suhendi, & Susilo, 2004).

Tabel 1. Mutu biji kakao berdasarkan pada ukuran biji

Table 1. The quality of cocoa beans based on bean size

Ukuran	Jumlah biji tiap 100 g	Bobot biji kering (g)
AA	Maks. 85	1,17
A	86–100	1,16–1,00
B	101–110	0,99–0,90
C	111–120	0,90–0,83
S	> 120	$< 0,83$

Sumber: SNI (2002)

Source: SNI (2002)

PEMULIAAN TANAMAN KAKAO UNTUK KARAKTER KADAR LEMAK

Kegiatan pemuliaan tanaman kakao di Indonesia sudah berkembang sejak tahun 1912, yang dipelopori oleh Dr. C.J.J. van Hall dengan metode seleksi pemilihan pohon induk di perkebunan Djati Renggo dan Getas (Mawardi, 1982). Tanaman kakao secara umum bersifat menyerbuk silang namun telah dilaporkan adanya mekanisme kompatibilitas yang spesifik (Suhendi, Susilo, & Mawardi, 2000). Beberapa genotipe kakao ditemukan bersifat menyerbuk silang secara spesifik (*specific cross compatible*) dan sebagian lain bersifat menyerbuk silang secara umum (*general cross compatible*). Metode pemuliaan kakao mengacu pada metode pemuliaan tanaman yang diterapkan untuk tanaman menyerbuk silang meskipun tidak seluruh metode dapat diterapkan secara mudah. Dalam hal ini metode seleksi berulang (*recurrent selection*) dianggap lebih aplikatif digunakan untuk pemuliaan kakao karena sasaran mendapatkan bahan tanaman hibrida dan klonal dapat dicapai secara bersamaan dalam setiap daur seleksi (Susilo, 2010).

Bahan tanam kakao unggul diperoleh dari kegiatan pemuliaan tanaman yang melalui beberapa tahapan tertentu dan dalam jangka waktu yang cukup lama. Bahan tanam dengan karakteristik unggul

tertentu diperoleh dari koleksi plasma nutfah, yang dilanjutkan dengan kegiatan evaluasi, pengujian dan seleksi genotipe, persilangan antar genotipe, pengujian keturunan (*progeny test*) dan pemilihan individu pohon terpilih untuk menghasilkan klon baru (Winarno & Suhendi, 2010). Menurut Yao *et al.* (2013), seleksi tetua-tetua dalam program pemuliaan tanaman merupakan hal yang tidak mudah dilakukan karena hal ini terkait dengan ketersediaan sumber daya, serta tujuan dan sifat genetik dari suatu karakter yang ingin diteliti.

Langkah pertama dalam pemuliaan tanaman kakao adalah koleksi plasma nutfah, baik koleksi di pusat keragaman kakao (*center diversity*) yang dikenal dengan istilah *in situ* atau pertanaman di luar pusat keragaman atau *ex situ*. Tanaman kakao yang ditanam di lapang dapat berupa klon hasil eksplorasi, introduksi maupun klon elit yang dikembangkan institusi lain (Monteiro, Lopes & Clement, 2009). Koleksi plasma nutfah kakao umumnya berupa tanaman di lapang karena benih kakao bersifat rekalsitran (Farrant, Pamenter & Berjak, 1988). Klon-klon atau aksesori-aksesori yang ada di koleksi plasma nutfah kemudian dikarakterisasi dan dievaluasi secara fenotipik, kekerabatan dengan menggunakan marka molekuler, skrining ketahanan terhadap penyakit dan hama, skrining terhadap komponen hasil dan karakter-karakter yang khusus sehingga terbentuk populasi dasar yang dapat digunakan sebagai materi pada kegiatan persilangan untuk menghasilkan hibrida. Klon-klon yang terdapat di koleksi plasma nutfah tersebut juga dapat diperbanyak secara vegetatif sebagai koleksi klonal sehingga diperoleh populasi untuk kegiatan pemuliaan tanaman, selanjutnya dapat dilakukan seleksi secara konvensional maupun dengan bantuan marka (*marker assisted selection* = MAS), yaitu seleksi tanaman unggul dengan menggunakan marka molekuler yang terkait dengan sifat tertentu.

Tahapan selanjutnya adalah evaluasi materi berupa klon ataupun hibrida di tingkat lapang yang terdiri dari observasi plot untuk *screening test*, serta penanaman di satu lokasi dan multi lokasi untuk memperoleh propagul (bahan tanam) yang berupa benih atau entres yang dapat digunakan oleh petani kakao secara luas. Di samping itu, bahan tanaman yang ada di petani juga dapat digunakan kembali sebagai materi tanaman di koleksi plasma nutfah

melalui program pemuliaan partisipatif (*participatory breeding*). Hal ini berjalan berulang-ulang dalam kegiatan pemuliaan kakao (Monteiro *et al.*, 2009).

Manfaat Persilangan Antar Klon Kakao dengan Kadar Lemak Tinggi

Persilangan adalah proses penggabungan karakter unggul dari masing-masing tetua ke dalam satu individu (hibrida), diharapkan individu tersebut memiliki sifat heterosis atau vigor hibrida yang akan dievaluasi untuk memperoleh bahan tanam unggul di masa mendatang (Syukur, Sujiprihatini, & Yuniarti, 2012). Varietas kakao yang memiliki kadar lemak tinggi dapat diperoleh dengan merakit varietas yang mempunyai kadar lemak tinggi pada *nibs* atau varietas yang mempunyai jumlah *nibs* yang banyak pada buah. Beberapa hal yang harus diketahui sebelum melakukan persilangan adalah pengetahuan dasar dari setiap genotipe tentang sifat *self incompatibilitas*, daya gabung umum dan daya gabung khusus, pola penurunan karakter kadar lemak tinggi, heritabilitas, tipe gen pengendali karakter, korelasi antar karakter serta ada tidaknya pengaruh sumber polen terhadap karakter kadar lemak.

Pires *et al.* (1998) melakukan penelitian di Brasil mengenai perbaikan genetik tanaman untuk karakter kadar lemak kakao dengan mengamati keragaman kadar lemak pada biji, pola penurunan karakter dan asosiasi karakter kadar lemak dengan karakter produksi biji pada 576 genotipe kakao yang berasal dari negara-negara penghasil kakao. Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai rata-rata kadar lemak adalah 53,2%, nilai tersebut bervariasi antara 45,4% (CC 57) sampai 60,3% (NA 312). Klon NA 312 yang mempunyai kadar lemak tertinggi dapat digunakan sebagai calon tetua jantan dalam persilangan dengan genotipe kakao yang ada di Indonesia, tentunya setelah melalui proses introduksi.

Pada suatu persilangan, pengaruh sumber polen diketahui sangat signifikan. Salah satu contohnya adalah pada persilangan dengan pola dialel antara tiga genotipe kakao yang memiliki kadar lemak tinggi (CSUL 7, SPA 17, dan CAS 1) dengan tiga genotipe kakao dan kadar lemak rendah (SIC 4, CC 39, dan ICS 9) (Tabel 2). Nilai rata-rata kadar lemak pada hibrida mendekati nilai rata-rata tetua-tetuanya (Pires *et al.*, 1998).

Tabel 2. Rata-rata kadar lemak pada persilangan dialel enam klon kakao
Table 2. The average value of butter content in diallel cross of six cocoa clones

Tetua betina	Polinator						Rata-rata
	SPA 17	CAS 1	CSUL 7	CC 39	SIC 4	ICS 9	
SPA 17	56,80	75,50	58,20	55,10	55,60	52,80	56,00
CAS 1	57,10	na ^z	56,50	55,60	55,20	51,80	55,20
CSUL 7	59,70	56,30	52,40	56,10	56,20	53,90	55,80
CC 39	49,90	54,10	56,00	53,70	49,50	48,20	51,90
SIC 4	52,50	51,60	54,90	51,30	52,60	50,10	52,20
ICS 9	52,10	54,40	51,10	50,10	48,70	46,70	50,50
Rata-rata	54,70	54,80	54,84	53,70	53,00	50,60	

Keterangan: na = tidak tersedia data (Sumber: Pires *et al.*, 1998)

Notes: na = not available (Source, Pires *et al.*, 1998)

Tabel 3. Peningkatan nilai rata-rata kadar lemak pada persilangan diallel
 Table 3. The addition of average value of butter content by diallel crossing

Tetua betina	Nilai rata-rata dari persilangan		Perbedaan antara (a)-(b)	Persentase peningkatan menggunakan donor kadar lemak tinggi
	(a) Donor dengan kadar lemak tinggi	(b) Donor dengan kadar lemak rendah		
SPA 17	57,50	54,50	3,00	5,52
CAS 1	56,80	54,20	2,60	4,75
CSUL 7	56,10	54,30	1,80	3,31
CC 39	53,30	50,50	2,80	5,65
SIC 4	53,30	51,30	1,70	3,29
ICS 9	52,50	48,50	4,00	8,29
Rata-rata			2,7	5,14

Sumber: Pires *et al.* (1998)
 Source: Pires *et al.* (1998)

Nilai rata-rata kadar lemak pada hibrida yang dihasilkan dari tetua donor yang memiliki kadar lemak tinggi mengalami peningkatan sebesar 2,7% dibandingkan hibrida yang berasal dari tetua donor dengan kadar lemak rendah pada suatu persilangan diallel. Sementara persentase rata-rata peningkatan kadar lemak pada semua hibrida yang dihasilkan adalah 5,14% (Tabel 3) (Pires *et al.*, 1998).

Beberapa klon kakao di Indonesia diketahui sebagai penghasil kadar lemak tinggi, di antaranya adalah Scavina 6 (49,6-58,17%), TSH 858 (56%), ICCRI 01 (59%), ICCRI 02 (56%), ICCRI 03 (55,01%), ICCRI 04 (55,07%), sedangkan ICCRI 06H (50,6-54,3%), dan GC

7 (52,25%) termasuk dalam kategori sedang (Direktorat Jenderal Perkebunan, 2008). Asal-usul dari klon-klon penghasil lemak tinggi sangat beragam, beberapa di antaranya adalah hasil introduksi, seleksi, dan persilangan. Scavina 6 adalah klon hasil introduksi dari Kew Garden, Inggris. ICCRI 03 merupakan klon hasil persilangan antara DR 2 dengan Scavina 12. Sementara klon GC 7 merupakan hasil seleksi di Perkebunan Getas, sedangkan ICCRI 06H merupakan hibrida hasil persilangan TSH 858 x Sulawesi 1. Klon-klon tersebut dapat digunakan sebagai tetua jantan (donor polen) untuk sifat kadar lemak tinggi.



Gambar 1. Keragaan beberapa genotipe kakao penghasil kadar lemak tinggi: (a) ICCRI 06H (Sumber: Susilo, 2012); (b) Sulawesi 2; (c) Scavina 6; (d) ICCRI 03; (e) ICCRI 04; dan (f) ICCRI 01 (Sumber: Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia [PPKKI], 2010)

Figure 1. Morphology of cacao genotypes with high butter content: (a) ICCRI 06H (Source: Susilo, 2012); (b) Sulawesi 2; (c) Scavina 6; (d) ICCRI 03; (e) ICCRI 04; dan (f) ICCRI 01 (Source: Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia [PPKKI], 2010)

Keragaan beberapa genotipe kakao penghasil kadar lemak tinggi dapat dilihat pada Gambar 1. Selain memiliki karakter kadar lemak tinggi, genotipe-genotipe kakao yang berupa klon nasional tersebut juga memiliki karakter produksi dan mutu yang baik, serta ketahanan terhadap hama dan penyakit. Hubungan antara karakter kadar lemak terhadap beberapa komponen produksi, mutu, serta ketahanan terhadap hama dan penyakit dapat diketahui menggunakan analisis korelasi (Piret *et al.*, 1998).

Karakter Kadar Lemak pada Biji Kakao

Karakter kadar lemak dan kualitas biji kakao adalah karakter yang dipengaruhi secara genetik, dan hal ini mempengaruhi nilai komersial dan aplikasi dalam industri (Araujo *et al.*, 2009). Karakter kadar lemak (*butter content*) pada beberapa tanaman merupakan karakter yang dipengaruhi oleh banyak gen (*polygen*), seperti halnya karakter hasil dan kadar protein (Kaushik, Kumar, Kumar, Kaushik & Roy, 2007). Beberapa karakter seperti ukuran biji, kulit biji, dan kadar lemak sangat erat kaitannya dengan kualitas dari biji kakao (Monteiro *et al.*, 2009).

Powell (1984) mengamati bahwa iklim juga mempengaruhi kandungan kimia dan sifat fisik pada lemak kakao. Hal ini menunjukkan bahwa kadar lemak kakao sangat dipengaruhi oleh lingkungan dengan nilai heritabilitas dalam arti sempit (*heritability narrow sense*) yang rendah, yaitu 12,5% (Pardo & Enriquez, 1988). Toxopeus & Wessel (1970) mengemukakan bahwa pada saat pembentukan dan perkembangan buah apabila kondisi air tanah dalam keadaan cukup atau kondisi musim hujan maka akan dihasilkan ukuran dan berat biji, serta kandungan lemak biji lebih tinggi dibandingkan pada saat kadar air tanah kurang atau musim kemarau. Yusianto *et al.* (2008) menyatakan bahwa buah yang berkembang pada musim hujan akan menghasilkan biji kakao yang berkadar lemak lebih tinggi.

Kandungan lemak biji kakao pada umumnya cukup tinggi bahkan beberapa di antaranya di atas 55%. Prawoto dan Karneni (1994) melaporkan bahwa karakteristik lemak kakao selain dipengaruhi oleh faktor genetik juga dipengaruhi oleh lingkungan. Kadar lemak kakao berkorelasi positif dengan tinggi tempat penanaman. Korelasi antara tinggi tempat dengan kadar lemak adalah positif nyata dengan $r = 0.7915^*$. Menurut Taira *et al.* (1986) hal ini disebabkan oleh biosintesis lemak yang dipacu oleh rata-rata suhu yang sejuk (*cool*). Dengan kata lain, kandungan lemak yang rendah pada kakao lindak yang ditanam di dataran rendah belum tentu disebabkan oleh sifat genetik saja, melainkan juga karena faktor lingkungan.

PEMANFAATAN BIOTEKNOLOGI DALAM PERAKITAN VARIETAS DENGAN KADAR LEMAK TINGGI

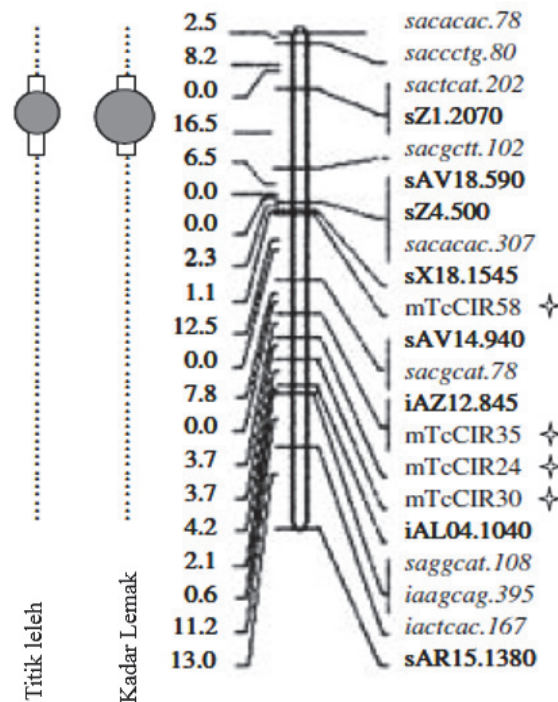
Bioteknologi dapat dimanfaatkan dalam perakitan varietas dengan kadar lemak tinggi.

Bioteknologi merupakan ilmu yang menerapkan prinsip-prinsip biologi, biokimia, dan rekayasa dalam pengolahan bahan dengan memanfaatkan agensia jasad hidup dan komponen-komponennya untuk menghasilkan barang dan jasa (Yuwono, 2008). Pemuliaan inkonvensional dapat dilakukan dengan memanfaatkan jalur bioteknologi melalui dua pendekatan, pertama secara *in vitro* dan yang kedua adalah pemuliaan berbasis marka molekuler (Priyadarshan & Clement-Demange, 2004). Pendekatan *in vitro* difokuskan pada regenerasi dan perbanyakan klon-klon elit yang dihasilkan dari proses persilangan, sedangkan pendekatan molekuler mencakup kegiatan identifikasi, karakterisasi, introduksi, dan ekspresi gen-gen yang mengatur karakter mutu khususnya kadar lemak kakao. Pada kakao perbanyakan *in vitro* difokuskan pada jalur embriogenesis somatik (ES) dengan menggunakan eksplan mahkota bunga dan staminodia dari bunga yang masih kuncup (Maximova *et al.*, 2014). Klon elit kakao hasil persilangan yang mempunyai kadar lemak tinggi dapat diproduksi secara massal melalui ES untuk lebih mempersingkat alur pemuliaan tanaman. Pendekatan molekuler dapat ditempuh melalui identifikasi gen-gen yang mengendalikan karakter kadar lemak.

Pemuliaan konvensional dapat dipercepat jika dapat disinergikan dengan pemuliaan inkonvensional, yaitu melalui penggunaan teknologi seleksi dengan bantuan marka yang dikenal dengan istilah *marker assisted selection* (MAS). Kegiatan seleksi dengan menggunakan MAS akan lebih efektif dan efisien karena hanya didasarkan pada sifat genetik tanaman dan tidak dipengaruhi oleh faktor lingkungan (Azrai, 2006).

Pembuatan peta genetik dengan menggunakan populasi F1 dan F2 hasil persilangan antar genotipe kakao yang mempunyai kadar lemak tinggi, ICS 1 (52,1%) x Scavina 6 (54,8%) telah berhasil dilakukan di Brasil. Peta keterpautan genetik pada genom kakao tersebut dibuat dengan menggunakan sebanyak 279 marka molekuler. Panjang dari peta genetik tersebut adalah 1.122 cM dengan total marka yang dapat terpetakan adalah 273 marka, yang terdiri dari 115 marka AFLP (*amplified fragment length polymorphism*), 137 marka RAPD (*random amplification of polymorphic*) dan 21 marka SSR (*simple sequence repeats*) dan terdistribusi di 14 *linkage groups* (LG). Dari peta genetik itu, satu *quantitative trait loci* (QTL) yang berasosiasi dengan karakter kadar lemak tinggi berhasil diidentifikasi pada LG 9. QTL yang telah teridentifikasi tersebut dapat digunakan dalam proses MAS untuk program pemuliaan yang bertujuan untuk menyeleksi genotipe kakao dengan karakter kadar lemak tinggi (Araujo *et al.*, 2009). Pada posisi QTL yang sama juga terdeteksi QTL yang terkait dengan sifat titik leleh, hal ini menunjukkan adanya keterpautan gen yang mengendalikan dua sifat berbeda (Gambar 2).

LG9 (96.3 cM, 21 markers)



Gambar 2. Posisi QTL untuk karakter kadar lemak tinggi yang diidentifikasi dengan marka AFLP, RAPD, dan SSR (Sumber: Araujo *et al.*, 2009)

Figure 2. QTL position for high butter content character identified by AFLP, RAPD, and SSR markers (Source: Araujo *et al.*, 2009)

PENUTUP

Perakitan varietas kakao dengan karakter kadar lemak tinggi dapat dilakukan secara konvensional, yaitu melalui persilangan antar tetua-tetua pada koleksi plasma nutfah kakao yang memiliki karakter kadar lemak tinggi. Karakter kadar lemak tinggi merupakan karakter kuantitatif yang sangat dipengaruhi oleh faktor lingkungan. Sementara itu, pendekatan inkonvensional dengan menggunakan marka molekuler dapat membantu proses perakitan varietas menjadi lebih efektif dan efisien sehingga siklus pemuliaan dapat lebih singkat. Identifikasi QTL pada genom kakao yang berasosiasi dengan karakter kadar lemak dapat digunakan dalam proses seleksi dengan bantuan marka (MAS). Dengan kedua pendekatan ini maka proses pemuliaan tanaman kakao dengan karakter kadar lemak tinggi menjadi lebih dinamis dan diharapkan dapat memenuhi permintaan pasar akan lemak cacao (*cacao butter*).

DAFTAR PUSTAKA

ADM Cocoa. (2013). *de Zaan: Cocoa and chocolate manual* (p. 168). Switzerland: ADM Cocoa International.

Anita-Sari, I., Susilo, A.W., & Yusianto. (2012). Pengkayaan materi genetik "A" java light breaking cocoa melalui kegiatan seleksi dan eksplorasi pada populasi kakao edel di Wilayah Jawa Timur. *Prosiding Insinas* (pp 140-144).

Araujo, I.S., de Souza Filho, G.A., Pereira, M.G., Faleiro, F.G., de Queiroz, V.T., Guimaraes, C.T., ... Lopes., U.V. (2009). Mapping quantitative trait loci for butter content and hardness in cacao beans (*Theobroma cacao* L.). *Plant Mol Biol. Rep.*, 27, 177-183.

Azrai, M. (2006). Sinergi teknologi marka molekuler dalam pemuliaan tanaman jagung. *Jurnal Litbang Pertanian*, 25(3), 81-89.

Direktorat Jenderal Perkebunan. (2008). *Kumpulan SK Menteri Pertanian tentang Pelepasan Varietas Tanaman Kakao*. Subdit Penilaian Varietas dan Pengawasan Mutu Benih. Jakarta: Direktorat Perbenihan dan Sarana Produksi.

Farrant, J.M., Pamentor, N.W., & Berjak, P. (1988). Recalsitrant a current assesment. *Seed Science and Technology*, 16, 155-166.

- International Cocoa Organization. (2010). *The world cocoa economy: Past and present*. Retrieved from <http://www.icco.org/>.
- Iswanto, A., Suhendi, D., & Susilo, A.W. (2004). Hasil seleksi dan persilangan genotipe penghasil biji kakao lindak dan mulia. *Warta Pusat Penelitian Kopi dan Kakao*, 14(1), 46-59.
- Kaushik, N., Kumar, K., Kumar, S., Kaushik, N., & Roy, S. (2007). Genetic variability and divergence studies in seed traits and oil content of *Jatropha* (*Jatropha curcas*) accessions. *Biomass Bioenergi*, 31, 497-502.
- Khan, N., Motilal, L.A., Sukha, D.A., Bekele, F.L., Iwaro, A.D., Bidaisee, G.G., ... Zhang, D. (2008). Variability of butterfat content in cacao (*Theobroma cacao* L.): Combination and correlation with other seed derived traits at international Cocoa Genebank, Trinidad. *Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization*, 1-12. doi:10.1017/S1479262108994132.
- Lambert, S.V., Dias, J.C., Figueira, A., Francisco, N. E., Nascimento, C.S., & Cardoso, R.D. (1999). Preliminary evaluation of cocoa quality from Brazilian Amazon genotypes. *12th International Cocoa Research Conference* (pp. 501-507). Alliance, Lagos: Cocoa Producers.
- Mawardi, S. (1982). 1942-1981: Tujuh puluh tahun pemuliaan tanaman cokelat di Indonesia. *Menara Perkebunan*, 50(1), 17-22.
- Maximova, S.N., Florez, S., Shen, X.L., Niemenak, N., Zhang, Y., Curtis, W., & Guiltinan, M.J., (2014). Genome-wide analysis reveals divergent patterns of gene expression during zygotic and somatic embryo maturation of *Theobroma cacao* L., the chocolate tree. *BMC Plant Biology*, 14, 185 Retrieved from <http://www.biomedcentral.com/14712229/14/185>.
- Monteiro, W.R., Lopez, U.V., & Clement, D. (2009). Genetic Improvement in Cocoa. In Jain, S.M. and D. Priyadarshan (Eds.) *Breeding Plantation Tree Crops: Tropical Species* (pp. 589-626). Springer Science, Business Media.
- Pardo, J., & Enriquez, G.A. (1988). Herencia de algunos componentes de la calidad industrial en almendras de cacao (*Theobroma cacao* L.). *10th International Cocoa Research Conference* (pp. 695-699). Alliance, Lagos: Cocoa Producers.
- Pires J.L., Cascardo, J.C.M., Lambert. S.V., & Figueira, A., (1998). Increasing cocoa fat yield through genetic improvement of *Theobroma cacao* L.: Seed fat content variability, inheritance, and association with seed yield. *Euphytica*, 103,115-121.
- Powell, B.D. (1984). Chocolate and cocoa manufacturers quality requirements for cocoa beans. *2nd International Conference on Cocoa and Coconuts, Kuala Lumpur* (pp. 1-14). Papers. s.n.t.v.2. Doc 37.
- Prawoto, A.A., & Karneni, I.A., (1994). Pengaruh tinggi tempat penanaman kakao terhadap kadar lemak dan komposisi asam lemak. *Pelita Perkebunan*, 10(4), 65-72.
- Priyadarshan, P.M., & Clement-Demange., A. (2004). Breeding *Hevea* Rubber: Formal and molecular genetics. *Advances in Genetics*, 52, 51-115.
- Standar Nasional Indonesia. (2002). *Biji kakao [SNI 01-2323-2002]*. Jakarta: Badan Standardisasi Nasional.
- Taira, H.I., & Chang. (1986). Lipid content and fatty acid composition of Indica and Japonica types of nonglutinous brown rice. *J. Agric. Food Chem.*, 34, 542-545.
- Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia. (2012). *100 Tahun Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia 1911-2011*. Jember: Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia.
- Winarno, H., & Suhendi, D. (2010). Bahan tanam kakao. In *Buku Pintar Budidaya Kakao*. Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia. Jakarta: Agromedia.
- Suhendi D., Susilo, A.W., & Mawardi S. (2000). Kompatibilitas persilangan beberapa klon kakao (*Theobroma cacao* L.). *Pelita Perkebunan*, 16(2), 85-91.
- Suhendi, D. (2005). Mengenal klon kakao mulia ICCRI 01 dan ICCRI 02. *Warta Pusat Penelitian Kopi dan Kakao*, 21(1), 1-7.
- Suhendi, D. (2006). Mengenal klon kakao lindak ICCRI 03 dan ICCRI 04. *Warta Pusat Penelitian Kopi dan Kakao*, 22(1), 1-8.
- Susilo, A.W. (2010). Hasil dan program pemuliaan kakao dalam mengantisipasi fenomena pemanasan global. In Sudjindro, H., Lamadji, S., Rustidja, Hakim, L., Kasno, A., & Sugiyarta, E. (Eds). *Prosiding Simposium VIII Perpi Komda Jawa Timur, Kontribusi Pemuliaan dalam Antisipasi Masalah Akibat Fenomena Pemanasan Global*. Perhimpunan Ilmu Pemuliaan Tanaman. Komisariat Jawa Timur. Malang, 3 Juni 2009.
- Susilo, A.W., (2012). ICCRI 06H, hibrida unggul kakao tahan penyakit pembuluh kayu (VSD, vascular-streak dieback). *Warta Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia*, 24-4.
- Syukur, M., Sujiprihati, S., & Yuniarti, R. (2010). *Teknik pemuliaan tanaman*. Jakarta: Penebar Swadaya.

-
-
- Tanuhadi, L. (2012). *Chocology*. Jakarta: Grasindo.
- Toxopeus, H., & Wessel, M. (1970). Studies African Amelonado with particular attention to annual rainfall distribution. *Netheri and J. Agric. Sci*, 18, 132-139.
- Yao, W.H., Zhang, Y.D., Kang, M.S., Chen, H.M., Liu, L., Yu, L.J., & Fan, X.M. (2013). Diallel analysis models: A comparison of certain genetic statistics. *Crop Sci*, 53, 1481-1490.
- Yusianto, Wahyudi, T., & Sulistyowati. (2008). Pascapanen. In Wahyudi., T., Panggabean, T.R., & Pujiyanto (Eds.) *Panduan Lengkap Kakao* (pp. 201-233). Jakarta: Penebar Swadaya.
- Yuwono, T. (2008). *Bioteknologi pertanian*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.