

INOVASI TEKNOLOGI PERBAIKAN BAHAN TANAM KAKAO DI INDONESIA

INNOVATION OF TECHNOLOGY FOR IMPROVEMENT OF CACAO PLANTING MATERIALS IN INDONESIA

Rubiyo

Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar
Jalan Raya Pakuwon km 2 Parungkuda, Sukabumi 43357 Indonesia
rubiyo_rb@yahoo.co.id

(Tanggal diterima: 2 September 2013, direvisi: 16 September 2013, disetujui terbit: 1 November 2013)

ABSTRAK

Tanaman kakao merupakan komoditas utama sub sektor perkebunan di Indonesia. Komoditas ini merupakan sumber devisa negara, penyedia lapangan kerja, sekaligus juga bermanfaat untuk konservasi tanah dan air. Sebagian besar tanaman kakao diusahakan dalam bentuk perkebunan rakyat yang mencapai 93% pada tahun 2010 dengan tingkat produktivitas 750 kg biji kering/ha/tahun. Rendahnya produktivitas kakao di Indonesia disebabkan oleh rendahnya kualitas bahan tanaman, serangan hama dan penyakit, dan penerapan teknologi budidaya yang tidak standar. Varietas dan klon kakao unggul yang tersedia saat ini meliputi varietas mulia dan lindak. Varietas-varietas dan klon unggul tersebut memiliki potensi produksi cukup tinggi, berkisar 1,5-2 ton/ha/tahun, tetapi masih rentan terhadap cekaman biotik, yaitu hama dan penyakit. Untuk meningkatkan produktivitas dan mutu hasil kakao di Indonesia, masih diperlukan varietas unggul yang tahan terhadap cekaman biotik tersebut baik yang berupa hibrida F1 maupun klonal. Perakitan varietas dan klon kakao dapat dilakukan melalui pendekatan konvensional dan inkonvensional. Secara konvensional perakitan bahan tanam kakao dapat dilakukan dengan melakukan persilangan untuk menghasilkan benih kakao hibrida secara biklonal maupun poliklonal. Pendekatan inkonvensional dengan memanfaatkan teknik molekuler dapat mempersingkat daur seleksi tanaman kakao.

Kata Kunci: Kakao, produktivitas, perbaikan klon, hibrida

ABSTRACT

Cacao is a main crops commodity in Indonesia. It is one of the source of national income, providing employment opportunities, also as land and water conservation. Most cacao cultivation are in small holders, which reached 93% in 2010 with productivity rate of 750 kg of dried beans/ha/year. The low productivity is due to low quality of plant materials, pest and disease attack, and unstandardized cultivation technology. Available superior varieties and cacao clones which commonly in use today are fine cocoa and bulk cocoa. Both have high production potentials, ranging from 1.5-2 tonnes/ha/year, but susceptible to pest and disease attack. To increase productivity and yield quality of cacao requires superior variety that is resistant to biotic stress, either F1 hybrid or clonal. The assembling of cacao varieties and clones can be done through conventional and unconventional methods. Unconventional approach using molecular technology can shorten the selection cycle of cacao plants.

Keywords: Cacao, productivity, clone improvement, hybrid

PENDAHULUAN

Kakao (*Theobroma cacao* L.) merupakan salah satu komoditas perkebunan yang mempunyai peran penting dalam perekonomian Indonesia. Sekitar tahun 1930-an Indonesia dikenal sebagai negara pengekspor biji kakao terpenting di dunia. Tahun 2010 Indonesia merupakan pengekspor biji kakao terbesar ketiga dunia dengan produksi biji kering 550.000 ton setelah Pantai Gading dan Ghana dengan produksi berturut-turut 1.242.000 ton dan 662.000 ton. Diperkirakan tahun 2010, dari 1.475.344 ha areal kakao Indonesia, sekitar 1.372.705 ha atau 93% adalah kakao rakyat (Ditjenbun, 2010). Hal ini mengindikasikan peran penting kakao baik sebagai sumber lapangan kerja maupun pendapatan bagi petani. Di samping itu, areal dan produksi kakao Indonesia meningkat pesat pada dekade terakhir, dengan laju pertumbuhan 5,99% per tahun (Ditjenbun, 2009).

Saat ini areal pengembangan kakao di Indonesia meliputi Sulawesi Selatan, Sulawesi Barat, Sulawesi Tenggara, Sulawesi Tengah, Papua Barat, Jawa Timur, Lampung, Sumatera Barat, Sumatera Utara, dan Nangroe Aceh Darussalam (NAD). Sementara itu, daerah pengembangan baru yang direncanakan untuk mendukung produktivitas dan mutu kakao nasional adalah Provinsi Papua, Kalimantan Timur, dan Nusa Tenggara Timur. Pengembangan dan intensifikasi kakao oleh pemerintah dilakukan melalui program Gerakan Peningkatan Produktivitas dan Mutu Kakao (Gernas Kakao) oleh Kementerian Pertanian, terutama keterkaitannya dengan program rehabilitasi, intensifikasi, dan peremajaan. Program ini diarahkan untuk peningkatan produksi dan mutu hasil tanaman kakao di Indonesia. Peningkatan produksi dan perbaikan mutu kakao Indonesia dapat dilakukan melalui intensifikasi dan ekstensifikasi. Penerapan kedua program tersebut di Indonesia memerlukan tersedianya benih kakao unggul.

Hingga saat ini, varietas/klon kakao unggul yang banyak digunakan meliputi varietas kakao mulia (ICCRI 1, ICCRI 2, DR 1, DR 2, DR 38, dan DRC 16) dan klon kakao lindak seperti ICCRI 3, ICCRI 4, Sulawesi 1, dan Sulawesi 2 yang memiliki potensi produksi berkisar 1,5-2 ton/ha/tahun biji kering. Varietas/klon unggul ini

memiliki ketahanan yang beragam terhadap hama utama penggerek buah kakao (PBK) dan penyakit utama *vascular streak dieback* (VSD) dan busuk buah kakao sehingga mengakibatkan penurunan produksi hingga mencapai 50%. Di samping tingkat produksi yang masih rendah, kualitas biji yang dihasilkan juga masih rendah. Untuk meningkatkan produksi dan mutu biji kakao khususnya di perkebunan rakyat diperlukan bahan tanaman berupa varietas/klon unggul yang mempunyai potensi daya hasil tinggi, kualitas biji yang bermutu tinggi, lebih tahan terhadap serangan hama PBK, dan patogen busuk buah kakao yang disebabkan oleh *Phytophthora palmivora* dan VSD (*Oncobasidium theobromae*). Bahan tanaman kakao unggul yang dihasilkan selanjutnya dapat diperbanyak dengan menggunakan benih hibrida F1 atau bibit klonal, yang diperoleh dari kebun benih. Kebun benih dirancang khusus untuk menghasilkan benih hibrida F1, dengan menggunakan tetua (sebagai induk betina dan jantan) yang telah diketahui daya dan mutu hasilnya serta sifat-sifat penting seperti ketahanan terhadap hama dan penyakit.

PERAKITAN BAHAN TANAMAN KAKAO UNGGUL DENGAN TEKNIK MOLEKULER

Untuk menjawab permasalahan tanaman kakao di lapangan, terutama tingkat produksi yang rendah sebagai akibat cekaman biotik maupun abiotik, diperlukan suatu program pemuliaan tanaman yang bertujuan merakit varietas-varietas atau klon kakao yang tidak hanya berdaya hasil tinggi, tetapi juga tahan terhadap cekaman lingkungan kakao. Program pemuliaan tersebut akan dapat berjalan dengan baik bila didukung oleh ketersediaan materi genetik, dan semakin efektif bila didukung dengan teknologi molekuler. Namun, teknologi yang digunakan tidak akan dapat memberikan hasil yang maksimal bila materi genetik yang tersedia atau keragaman genetiknya terbatas.

Analisis keragaman genetik tanaman dapat dilakukan secara morfologi dengan pengamatan langsung terhadap fenotipe maupun dengan menggunakan marka molekuler. Karakter morfologi telah lama digunakan untuk mengidentifikasi varietas, spesies, genus, maupun famili dari jenis tanaman. Akan tetapi pengamatan

langsung terhadap karakter morfologi memiliki kelemahan karena seringkali dipengaruhi oleh faktor lingkungan. Marka molekuler mempunyai kelebihan dibandingkan marka fenotipik, yaitu marka molekuler tidak diregulasi oleh faktor lingkungan sehingga tidak dipengaruhi oleh kondisi tanaman tumbuh, dan dapat dideteksi pada semua tahapan perkembangan tanaman (Mohan *et al.*, 1997).

Marka molekuler pada tingkat DNA memiliki beberapa kelebihan dibandingkan morfologi atau alozim. Keuntungan lain dari marka DNA adalah dapat mencerminkan perubahan pada tingkat DNA sehingga menunjukkan jarak genetik yang sesungguhnya antara individu, dan lebih akurat dibandingkan marka fenotipe. Teknologi di bidang molekuler telah berkembang seiring dengan kebutuhan teknologi yang diinginkan, beberapa teknik yang ada saat ini adalah *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP). RFLP merupakan salah satu analisis molekuler yang didasarkan pada pemotongan situs DNA dengan menggunakan enzim restriksi, menghasilkan fragmen DNA dengan berbagai ukuran. Hal ini menyebabkan RFLP dapat digunakan sebagai penduga variasi sekuens DNA, oleh karena itu dapat digunakan untuk menduga hubungan kekerabatan dari beberapa individu (Mum dan Dudley, 1994 dalam Surti, 2012). Teknik analisis molekuler yang lain adalah: AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*), RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*), dan *Simple Sequence Repeats* (SSR). Teknik AFLP merupakan kombinasi RAPD dan RFLP yang dapat digunakan untuk menganalisis keragaman genetik melalui penggandaan fragmen DNA dengan menggunakan primer spesifik. SSR dikenal juga sebagai mikrosatelit adalah lokus spesifik, kodominan merupakan marka molekuler yang didasarkan pada sekuens DNA repetitif. Pemanfaatan SSR untuk mengidentifikasi keragaman genetik telah banyak digunakan untuk jenis tanaman monokotil maupun dikotil seperti teh dan kedelai (Freeman *et al.*, 2004; Priolli *et al.*, 2005).

Keragaman Genetik Tanaman Kakao

Menurut Las dan Wood (1985) berdasarkan tipe populasinya, tanaman kakao dapat dibagi menjadi tiga kelompok besar, yaitu tipe

Criollo, Forastero, dan Trinitario. Criollo berasal dari penyebaran melintasi pegunungan Andes ke arah dataran rendah Venezuela, Columbia, dan Equador, dan ke arah utara ke Amerika Tengah dan Meksiko. Sifat-sifat tipe Criollo antara lain pertumbuhan tanaman kurang kuat, daya hasilnya lebih rendah dibanding Forastero, dan relatif lebih rentan terhadap gangguan hama dan penyakit. Kulit buahnya tebal tetapi lunak sehingga mudah dibelah. Criollo menghasilkan kakao mulia (*fine flavour cocoa*). Warna buah hijau atau agak merah karena adanya pigmen antosianin, perikarp agak kasar, tipis dan lunak, mesokarp mengandung lignin, biji bulat, dan kotiledon putih. Kelompok ini cenderung rentan terhadap penyakit (Soria, 1974; Opeke dan Gorenz, 1982). Kadar lemak di dalam biji lebih rendah dibandingkan Forastero tetapi ukuran bijinya lebih besar, bulat, memberikan citarasa khas yang unggul. Dalam tataniaga kakao Criollo termasuk dalam jenis kakao mulia.

Forastero dihasilkan oleh penyebaran ke lembah Amazon, ke arah Brazil bagian barat dan Guyana (Alvim, 1997). Forastero menghasilkan kakao bermutu sedang, dikenal dengan kakao lindak (*bulk cocoa*). Warna buah hijau, tidak ada pigmen antosianin, perikarp tebal dan keras, mesokarp kaya lignin. Biji lebih kecil dan pipih dibanding Criollo, kotiledon berwarna ungu. Pertumbuhan pohon gigas (Opeke, 1982). Contoh kelompok ini adalah klon-klon Sca 6, Sca 12, Catongo, IMC 67, PA 30, dan PA 46. Sebesar 95% produksi kakao dunia berasal dari kelompok Forastero, terutama dari negara-negara Afrika Barat dan Brazil.

Tipe Trinitario merupakan hibrida antara Criollo dan Forastero. Sifat morfologi dan fisiologinya sangat beragam, demikian pula sifat daya hasil dan mutu hasilnya. Dalam tataniaga kakao, Trinitario dapat dikelompokkan ke dalam kakao mulia atau kakao lindak tergantung dari mutu biji yang dihasilkannya. Trinitario mempunyai buah berwarna merah atau hijau dan bervariasi, tekstur keras; warna biji bervariasi dari ungu muda sampai ungu tua (Wood, 1985). Pertumbuhan pohon gigas. Contoh kelompok ini adalah klon-klon ICS 60, ICS 84, ICS 95, DR 1, DR 2, DR 38, dan DRC 16. Klon DR menghasilkan kakao mulia, sedangkan klon ICS banyak menghasilkan kakao lindak (Mawardi,

1982; Opeke dan Gorenz, 1982). Selanjutnya Lanaud *et al.* (2004) memisahkan kelompok Forastero, antara genotipe yang berasal dari lembah hulu sungai Amazon dan lembah hilir sungai Amazon. Trinitario lebih dekat ke genotipe Amazon hilir dari pada Amazon hulu.

Perakitan Bahan Tanam

Perakitan bahan tanaman kakao unggul dapat dilakukan melalui beberapa tahapan: (1) pengumpulan materi genetik atau plasma nutfah melalui proses eksplorasi maupun introduksi, (2) evaluasi materi genetik atau plasma nutfah, (3) pemanfaatan materi genetik atau plasma nutfah melalui proses seleksi, hibridisasi, mutasi, maupun transfer gen. Kegiatan seleksi terhadap materi genetik yang dimiliki memungkinkan diperolehnya genotipe yang berpotensi atau memiliki keunggulan yang dikehendaki sehingga dapat dipilih sebagai calon varietas/klon unggul baru. Tetapi kemungkinan lainnya karakter-karakter yang dibutuhkan masih “terserak” di antara sejumlah genotipe sehingga perlu dilakukan penggabungan karakter tersebut melalui proses persilangan. Keturunan yang dihasilkan selanjutnya diseleksi untuk memilih genotipe yang memiliki karakter yang dibutuhkan. Genotipe hasil seleksi, baik seleksi materi genetik pada koleksi plasma nutfah maupun seleksi pada F1 hasil hibridisasi selanjutnya diuji potensinya melalui uji multilokasi dan atau uji adaptasi. Genotipe yang terbaik sesuai dengan kebutuhan kemudian diusulkan untuk dilepas sebagai varietas atau klon unggul baru.

Seleksi materi genetik untuk memilih genotipe potensial baik untuk langsung dimanfaatkan sebagai bahan tanaman unggul maupun untuk digunakan sebagai tetua. Dalam program pemuliaan tanaman, keberhasilan suatu persilangan untuk menghasilkan hibrida dengan tingkat heterosis tinggi adalah jarak genetik yang tinggi di antara tetua yang digunakan. Proses persilangan pada awalnya hanya dilakukan berdasarkan karakter morfologi yang sangat dipengaruhi oleh lingkungan. Kelemahan dari metode ini adalah informasi yang diperoleh (data fenotipik) tidak dapat memberikan informasi yang tepat mengenai jarak genetik antar tetua yang akan digunakan karena pengaruh lingkungan.

Salah satu cara untuk mempercepat pemilihan tetua sebagai bahan persilangan adalah menggunakan penanda molekuler. Penggunaan karakter molekuler akan dapat mengetahui jarak genetik antar genotipe yang dievaluasi. Salah satu penanda molekuler yang banyak digunakan di antaranya adalah *Single Sequence Repeat (SSR)*. Kelebihan dari metode ini adalah dapat membedakan genotipe yang homozigot dengan genotipe heterozigot.

Marka Molekuler untuk Pemuliaan Tanaman

Perakitan bahan tanaman kakao unggul selama ini dilakukan dengan teknik konvensional melalui proses evaluasi materi genetik yang dilanjutkan dengan hibridisasi dan seleksi. Proses evaluasi dan seleksi pada tanaman kakao yang dilakukan dengan teknik konvensional membutuhkan waktu yang cukup lama karena tanaman kakao adalah tanaman tahunan. Teknik inkonvensional, yaitu memanfaatkan teknologi molekuler yang dipadukan dengan teknik konvensional dapat mempercepat proses evaluasi maupun seleksi.

Berbagai studi keragaman genetik pada tanaman kakao telah banyak dilakukan baik secara morfologi dengan pengamatan langsung terhadap fenotipe tanaman maupun pada tingkat molekuler. Penggunaan marka molekuler memiliki beberapa keuntungan dalam membantu program pemuliaan karena dapat digunakan untuk (1) analisis pautan dan pemetaan genetik, (2) identifikasi genotipe, (3) menduga keragaman genetik dan kekerabatan antar dan dalam spesies atau varietas dan juga dapat membantu menjelaskan filogenetiknya (Weising *et al.*, 1996). Melalui penggunaan marka molekuler, keragaman genetik plasma nutfah kakao sebagai calon tetua yang akan digunakan dalam program pemuliaan tanaman dapat ditentukan.

Untuk meningkatkan kemungkinan didapatkannya varietas unggul baru, perlu dilakukan persilangan antar dua tetua yang mempunyai jarak genetik tinggi. Identitas tetua yang memiliki jarak genetik tinggi dapat diketahui dengan memanfaatkan marka molekuler sehingga metode ini dapat meningkatkan efektivitas dan efisiensi program pemuliaan yang akan dilakukan. Identifikasi dan analisis keragaman genetik pada

plasma nutfah kakao telah dilakukan dengan pengamatan morfologi (Motilal and Butler, 2003; Bekele *et al.*, 2006; Crozier *et al.*; 2006), akan tetapi hasilnya masih kurang sempurna karena karakter morfologi dapat berubah dan sangat dipengaruhi musim. Analisis molekuler dapat membantu mengatasi kekurangan tersebut.

Sejak beberapa tahun lalu, sejumlah marka molekuler telah digunakan untuk mengkarakterisasi dan menganalisis keragaman, serta pemetaan genetik kakao (Lanaud *et al.*, 1999). Pengembangan marka seleksi untuk program pemuliaan tanaman kakao telah mulai dilakukan oleh Schnell *et al.* (2007), sementara keragaman genetik kakao dengan menggunakan marka SSR telah dilakukan oleh Zang *et al.* (2006). Selain itu, beberapa penelitian untuk mempelajari gen-gen ketahanan kakao terhadap *P. palmivora* juga telah dilakukan oleh Clement *et al.*, 2003; Lanaud *et al.*, 2004; Darmono *et al.*, 2006). Penggunaan marka molekuler mikrosatelit (SSR) telah dilakukan pada tanaman kakao untuk berbagai tujuan, seperti karakterisasi dan analisis keragaman genetik, karakterisasi kakao koleksi internasional dan pembuatan *linkage map* (Lanaud *et al.*, 1999; Pugh *et al.*, 2004; Zhang *et al.*, 2006; Zhang *et al.*, 2009).

Marka Molekuler untuk Pembeda Genotipe Homozigot dan Heterozigot

Pendekatan inkonvensional untuk membedakan genotipe yang homozigot dengan heterozigot telah dilakukan pada sejumlah klon kakao. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dengan menggunakan 15 primer SSR terpilih yang mengacu pada Lanaud *et al.* (1999), seluruh primer yang digunakan mampu menghasilkan produk hasil amplifikasi PCR. Contoh elektroferogram hasil *poly-acrylamidegel electrophoresis* (PAGE) untuk memvisualisasi alel-alel marker SSR yang diamplifikasi (Gambar 1). Selanjutnya, skoring alel dari marker SSR dilakukan dengan menggunakan elektroferogram yang dihasilkan.

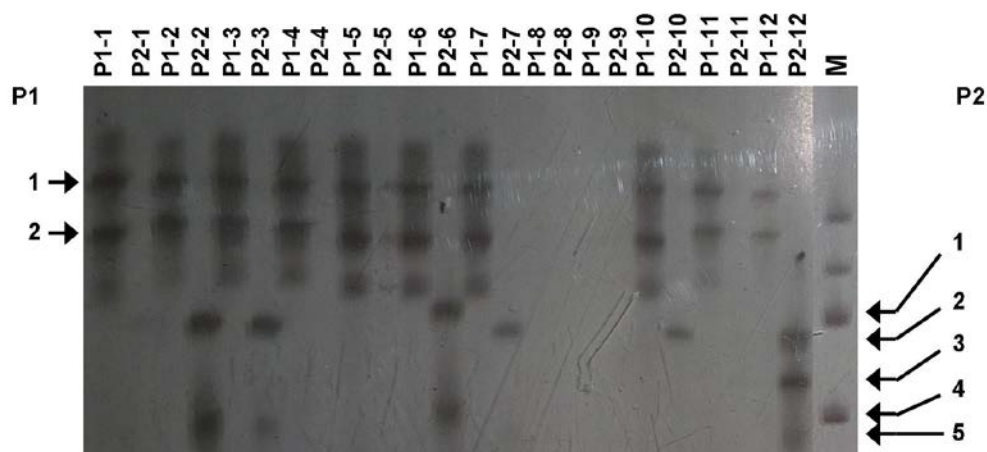
Berdasarkan hasil skoring alel-alel pada masing-masing lokus yang diamplifikasi dengan

primer SSR tertentu maka masing-masing klon kakao yang dianalisis akan dapat ditentukan apakah mempunyai genotipe dalam kondisi heterozigot atau homozigot. Pada lokus tertentu, klon yang diuji dalam kondisi heterozigot apabila mempunyai dua macam alel yang berbeda pada lokus yang dievaluasi. Sebagai contoh, pada lokus P2 untuk klon no. 6 mempunyai alel 1: "pita no. 1" dan alel 2: "pita no. 4". Hal ini mengindikasikan bahwa genotipe klon no. 6 pada lokus P2 adalah heterozigot (Ht). Sebaliknya, klon yang diuji dalam kondisi homozigot apabila mempunyai satu macam alel yang sama pada lokus yang dievaluasi. Pada lokus P2 untuk klon no. 7 sama-sama mempunyai alel 1: "pita no. 2" dan alel 2: "pita no. 2". Hal ini mengindikasikan bahwa genotipe klon no. 7 pada lokus P2 adalah homozigot (Hm) (Gambar 1).

Dengan menggunakan pendekatan yang sama pada lokus P3 untuk klon no. 9, mempunyai alel 1: "pita no. 1" dan alel 2: "pita no. 2". Hal ini mengindikasikan bahwa genotipe klon no. 9 pada lokus P3 adalah heterozigot. Sebaliknya, klon yang diuji dalam kondisi homozigot apabila mempunyai satu macam alel yang sama pada lokus yang dievaluasi. Pada lokus P4 untuk klon no. 2 dan 10, masing-masing sama-sama mempunyai alel 1: "pita no. 1" dan alel 2: "pita no. 1". Hal ini mengindikasikan bahwa genotipe klon no. 2 dan 10 pada lokus P4 adalah homozigot (Gambar 1).

Tingkat heterozigositas pada lokus-lokus yang ada di dalam genom masing-masing klon akan menentukan kedekatan genetik antar klon kakao yang dianalisis. Informasi tentang tingkat heterozigositas atau homozigositas klon kakao sangat penting dalam kaitannya dengan pembentukan galur hibrida F1 sebagai bahan tanaman kakao.

Pada penelitian tersebut di atas, berdasarkan hasil skoring yang dilakukan, primer SSR yang digunakan rata-rata mampu mengidentifikasi alel per lokus sebanyak 4,6 dan rata-rata *Polymorphic Information Content* (PIC) sebesar 0,62. Nilai PIC sebesar 0,62 tergolong tinggi dan hal ini mengindikasikan bahwa marker SSR yang dihasilkan dapat digunakan untuk mengevaluasi klon-klon kakao yang dianalisis.



Gambar 1. Contoh elektroferogram hasil PCR menggunakan dua macam primer SSR spesifik (primer P1 dan P2) dengan 12 contoh DNA klon kakao. Amplifikasi dengan primer P1 (lokus P1) menghasilkan dua macam pita yang berbeda ukuran (masing-masing menjadi alel 1 dan alel 2 pada lokus P1). Primer P2 (lokus P2) menghasilkan lima macam pita yang berbeda (masing-masing menjadi alel 1, alel 2, alel 3, alel 4, dan alel 5 pada lokus P2). (Sumber: Rubiyo *et al.*, 2008)

Figure 1. Samples of electropherogram by PCR using two primary specific SSR (Primary P1 and P2) with 12 samples of cacao clones' DNA. Amplification with primary P1 (P1 locus) generated two ribbons with different size (each became allele 1 and allele 2 in P1 locus). Primary P2 (P2 locus) generated five different ribbons (each became allele 1, allele 2, allele 3, allele 4, and allele 5 in P2 locus). (Source: Rubiyo *et al.*, 2008)

Dari 15 lokus SSR yang dianalisis, sebagian besar klon kakao yang diuji pada penelitian tersebut mempunyai pasangan alel yang berbeda. Hal ini mengindikasikan bahwa genotipe klon-klon kakao yang diuji pada sebagian besar dari 15 lokus ada dalam kondisi heterozigot (Tabel 1).

Pada umumnya, tingkat heterozigositas yang tinggi pada lokus-lokus yang dianalisis akan berkorelasi positif dengan nilai PIC yang tinggi pula. Sebagian besar lokus-lokus yang dianalisis mempunyai persentase heterozigositas yang tinggi dan sekaligus mempunyai nilai PIC untuk masing-masing lokus yang tinggi pula. Namun demikian, pada lokus MTcCIR 167, MTcCIR 209, dan MTcCIR 276 teramati mempunyai tingkat heterosigosit yang rendah. Hal ini mengindikasikan bahwa pada lokus-lokus tersebut, klon-klon kakao yang dievaluasi mempunyai genotipe homozigot lebih banyak dibandingkan dalam kondisi heterozigot.

Lebih lanjut, PIC yang ditentukan pada lokus MTcCIR 167, MTcCIR 209, dan MTcCIR 276, sebagian besar homozigot tersebut mempunyai nilai yang tinggi berkisar 0,52 untuk lokus MTcCIR 167; 0,66 untuk lokus MTcCIR 276; dan 0,73 untuk MTcCIR 209. Jumlah alel yang ditemukan di antara 16 klon yang dievaluasi

pada masing-masing lokus tersebut sebanyak 3 macam untuk lokus MTcCIR 167, 5 macam untuk lokus MTcCIR 276, dan 5 macam untuk MTcCIR 209. Hal ini mengindikasikan bahwa masing-masing klon yang diuji kemungkinan besar homozigot untuk masing-masing alel yang berbeda. Sebagai contoh: klon 1 untuk lokus no. 1—homozigot untuk alel 1 (genotipe “11”), klon 2 untuk lokus no. 1—homozigot untuk alel 2 (genotipe “22”), klon 3 untuk lokus no. 1—homozigot untuk alel 3 (genotipe “33”), dan seterusnya.

Tingginya nilai PIC, meskipun kebanyakan klon yang dievaluasi mempunyai lokus-lokus dalam kondisi homozigot, merupakan informasi penting dalam kaitannya dengan pembentukan hibrida F1. Jika persilangan dibuat dengan menggunakan klon 1 dan klon 2 sebagai tetua maka akan diperoleh populasi F1 dengan lokus No. 1 yang mempunyai genotipe heterozigot “12”. Persilangan dengan menggunakan klon 1 dan klon 3 sebagai tetua, maka akan diperoleh populasi F1 dengan lokus No. 1 yang mempunyai genotipe heterozigot “13”. Demikian juga jika persilangan dibuat dengan menggunakan klon 2 dan klon 3 sebagai tetua maka akan diperoleh populasi F1 dengan lokus No. 1 yang mempunyai genotipe heterozigot “23”, demikian seterusnya.

Tabel 1. Skoring merepresentasikan genotipe individu berdasarkan lokus SSR P1 dan lokus SSR P2
Table 1. Individual genotypes scoring based on P1 SSR locus and P2 SSR locus

Sampel kakao	Primer P1		Genotipe	Primer P2		Genotipe
	Alel 1	Alel 2		Alel 1	Alel 2	
1	1	2	Ht	0	0	-
2	1	2	Ht	2	5	Ht
3	1	2	Ht	2	5	Ht
4	1	2	Ht	0	0	-
5	1	2	Ht	0	0	-
6	1	2	Ht	1	4	Ht
7	1	2	Ht	2	2	Hm
8	0	0	-	0	0	-
9	0	0	-	0	0	-
10	1	2	Ht	2	2	Hm
11	1	2	Ht	0	0	-
12	1	2	Ht	2	3	Ht

Keterangan : Alel 0 – mengindikasikan tidak terdapat hasil amplifikasi PCR dengan pasangan primer SSR yang digunakan. Ht – heterozigot: mempunyai dua alel yang berbeda pada satu lokus yang dianalisis (contoh: pada individu No. 6, pada lokus P2, mempunyai alel 1: “1” dan alel 2: “4”)., Hm - Homozigot: mempunyai dua alel yang sama pada satu lokus yang dianalisis (contoh: pada individu No. 7 dan 10, pada lokus P2, mempunyai alel 1: “2” dan alel 2: “2”) (Sumber: Sudarsono *et al.*, 2009)

Notes : Allele 0 indicated no result of PCR amplification with primary SSR pairs used. Ht- heterozygote: has 2 different alleles in one locus analyzed (examples: individu number 6, in P2 locus, has allele 1: “1” and allele 2: “4”)., Hm-Homozygote: had 2 similar alleles in one locus (examples: individu number 7 and 10, in P2 locus, has allele 1: “2” and allele 2: “2”) (Source: Sudarsono *et al.*, 2009).

Tabel 2. Jumlah alel, genotipe pada masing-masing lokus, persentase heterozigot, dan nilai PIC yang didapat berdasarkan analisis marka SSR pada 15 klon kakao koleksi Puslittkoka

Table 2. Quantity of alleles, genotypes of each locus, percentage of heterozygote, and PIC value obtained by SSR molecular analysis on 15 cacao clones in ICCRI

Nama lokus SSR	Jumlah alel	Genotipe klon		Persentase heterozigot	Nilai PIC
		Heterozigot	Homozigot		
mTcCIR213	6	11	5	0,69	0,75
mTcCIR198	4	8	8	0,50	0,56
mTcCIR82	4	10	5	0,67	0,50
mTcCIR16	5	13	3	0,81	0,71
mTcCIR209	5	4	10	0,29	0,73
mTcCIR218	4	14	1	0,93	0,60
mTcCIR255	4	11	4	0,73	0,49
mTcCIR190	5	7	8	0,47	0,69
mTcCIR276	5	4	11	0,27	0,66
mTcCIR167	3	6	10	0,38	0,52
mTcCIR291	5	9	7	0,56	0,66
mTcCIR211	5	13	3	0,81	0,63
mTcCIR10	3	11	4	0,73	0,46
mTcCIR144	7	12	4	0,75	0,75
mTcCIR251	4	14	1	0,93	0,57

Keterangan: PIC – *polimorphic information content* (parameter untuk menentukan tingkat keragaman alel di dalam populasi tanaman yang dianalisis) (Sumber: Kurniasih, 2012)

Notes : PIC – *polimorphic information content* (parameter to determine the diversity level of allele on plant populations were analyzed) (Source: Kurniasih, 2012)

ANALISIS MARKA MOLEKULER UNTUK MENGEVALUASI JARAK GENETIK KLON- KLON KAKAO

Pendekatan inkonvensional juga dapat dilakukan untuk mengetahui kesamaan genetik antar genotipe yang dievaluasi. Seluruh set data marker SSR yang diperoleh dapat digunakan untuk menentukan jarak genetik antar klon yang dievaluasi. Besar kecilnya jarak genetik antar klon yang dievaluasi merupakan informasi penting dalam pemanfaatan klon-klon tersebut untuk pemuliaan tanaman. Dua klon yang mempunyai jarak genetik yang tinggi, apabila disilangkan akan menghasilkan turunan yang variasinya sangat tinggi sehingga berpeluang besar untuk menghasilkan varian-varian yang memiliki karakter yang dibutuhkan. Sebaliknya, dua klon yang jarak genetiknya rendah, apabila disilangkan akan menghasilkan turunan yang variasinya rendah.

Pembuatan hibrida F1 sebagai bahan perbanyak tanaman menggunakan masing-masing klon kakao sebagai tetua diharapkan mempunyai karakter agronomis yang baik dan keduanya mempunyai jarak genetik tinggi. Penilangan dua tetua didapatkan populasi hibrida F1 yang heterogen dan mempunyai keragaman tinggi. Populasi F1 yang heterogen tersebut sangat efektif untuk mengatasi berbagai permasalahan yang mungkin menjadi kendala di lapangan meliputi stres lingkungan abiotik (nutrisi, kekeringan, keracunan hara) dan stres biotik (serangan hama dan penyakit). Selain itu, karena kedua tetua yang digunakan masing-masing mempunyai karakteristik agronomis yang diinginkan, hibrida F1 yang didapat diharapkan juga mewarisi sifat-sifat baik tetuanya. Pada kondisi tertentu, heterosis juga dapat ditemukan pada individu-individu hibrida F1 yang dihasilkan.

Suatu penelitian untuk mengevaluasi kedekatan genetik di antara 15 klon kakao koleksi Pusat Penelitian Kopi dan Kakao telah dilakukan dengan menggunakan 15 lokus marker SSR. Hasil penelitian mengindikasikan tingkat kesamaan antar individu yang ditentukan berdasarkan koefisien DICE dengan menggunakan prosedur SIMQUAL yang tersedia dalam paket perangkat lunak NTSys versi 2.01. Hal ini berarti, jarak genetik antar klon kakao yang diuji menjadi semakin kecil dengan

semakin besarnya nilai kesamaan di antara keduanya. Sebaliknya, jarak genetik antar klon kakao yang diuji menjadi semakin besar dengan semakin kecilnya nilai kesamaan di antara keduanya (Gambar 2).

Tingkat kesamaan terbesar antar klon kakao yang dianalisis mempunyai nilai berkisar 0,68-0,73, sedangkan tingkat kesamaan yang terkecil antar klon kakao yang dianalisis mempunyai nilai berkisar 0,07-0,19. Klon-klon kakao yang diketahui mempunyai nilai kesamaan tertinggi berarti mempunyai kedekatan genetik tinggi sehingga mempunyai jarak genetik rendah. Sebaliknya, klon-klon kakao yang diketahui mempunyai nilai kesamaan terendah berarti mempunyai kedekatan genetik rendah sehingga mempunyai jarak genetik tinggi. Tingkat heterozigositas dan keragaman genetik yang cukup tinggi menunjukkan bahwa lokus SSR yang digunakan dapat membedakan klon-klon yang dianalisis. Setelah dikembangkannya marka SSR untuk kakao oleh Lanaud *et al.* (1999) maka identifikasi dan karakterisasi plasma nutfah kakao berkembang cukup signifikan (Zang *et al.*, 2009). Berdasarkan hasil penelitian tersebut, pasangan klon kakao yang mempunyai tingkat kesamaan genetik terbesar antara lain: pasangan klon kakao ICCRI 2 dan DR 2 (nilai kesamaan 0,73), pasangan klon kakao RCC 70 dan RCC 71 (nilai kesamaan 0,7), serta pasangan klon kakao ICCRI 2 dan DRC 16 (nilai kesamaan 0,68). Dengan demikian, jarak genetik antara pasangan klon kakao ICCRI 2 dan DR 2, pasangan klon RCC 70 dan RCC 71, serta pasangan klon kakao ICCRI 2 dan DRC 16 tergolong rendah. Pasangan klon kakao tersebut sebaiknya tidak digunakan untuk menghasilkan benih hibrida F1 karena akan cenderung menghasilkan keragaman populasi F1 yang rendah.

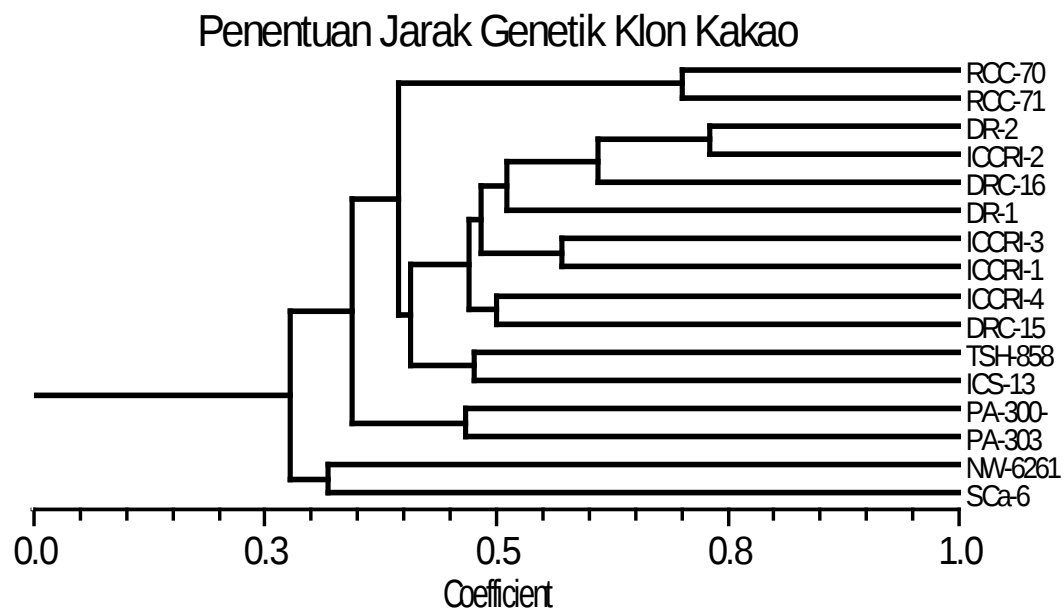
Pasangan klon kakao yang mempunyai tingkat kesamaan genetik terkecil antara lain: pasangan klon kakao DRC 15 dan Sca 6 (nilai kesamaan 0,07), pasangan klon kakao ICS 13 dan Sca 6 atau PA 300 dan Sca 6 (nilai kesamaan 0,11), pasangan klon kakao DRC 16 dan Sca 6 (nilai kesamaan 0,17), pasangan klon kakao RCC 70 dan Sca 6 (nilai kesamaan 0,18), serta pasangan klon kakao ICCRI 3 dan Sca 6 (nilai kesamaan 0,19). Dengan demikian, jarak genetik antara pasangan klon kakao DRC 15 dan Sca 6, pasangan klon kakao

ICS 13 dan Sca 6 atau PA 300 dan Sca 6, pasangan klon kakao DRC 16 dan Sca 6, pasangan klon kakao RCC 70 dan Sca 6, serta pasangan klon kakao ICCRI 3 dan Sca 6 tergolong tinggi (Gambar 2). Pasangan klon kakao tersebut dapat digunakan sebagai alternatif untuk menghasilkan benih hibrida F1 karena akan cenderung menghasilkan keragaman populasi F1 yang tinggi.

Klon Sca 6 diketahui mempunyai karakter produksi tinggi tetapi mempunyai ukuran biji kecil sampai sedang, di samping itu juga merupakan genotipe yang memiliki ketahanan terhadap serangan hama dan penyakit. Klon ini dapat dimanfaatkan sebagai sumber polen untuk mewariskan sifat ketahanannya. Oleh karena itu, yang harus diperhatikan adalah perlunya memilih tetua betina dengan karakteristik daya hasil tinggi dan mempunyai ukuran biji yang besar. Dengan menyilangkan klon kakao berdaya hasil tinggi dan berukuran biji besar sebagai tetua betina dan klon kakao Sca 6 yang menjadi donor sifat-sifat ketahanan, dapat diharapkan akan dihasilkan keturunan yang akan mewarisi sifat baik dari kedua

tetuanya, yaitu populasi hibrida F1 tahan serangan penyakit, berdaya hasil tinggi, dan mempunyai ukuran biji yang besar. Ketiga karakteristik tersebut merupakan karakteristik yang sangat diinginkan untuk dikembangkan di Indonesia.

Dari hasil analisis kesamaan genetik yang dilakukan juga dapat diketahui bahwa klon kakao Sca 6 yang berfungsi sebagai donor untuk berbagai karakter ketahanan terhadap hama dan penyakit tanaman pada umumnya mempunyai tingkat kesamaan yang rendah dengan klon-klon kakao lainnya. Hal ini memperkuat pemahaman yang telah ada sebelumnya yang memanfaatkan klon kakao Sca 6 sebagai donor gamet jantan (sumber pollen dalam produksi benih hibrida F1). Penggunaan klon kakao Sca 6 mampu menjadi donor pollen bagi induk betina klon kakao lainnya. Dengan menggunakan klon kakao Sca 6, apapun pilihan tetua betinanya, sangat besar peluangnya untuk mendapatkan populasi hibrida F1 yang mempunyai keragaman tinggi sekaligus resisten terhadap hama dan penyakit.



Gambar 2. Pengelompokan 16 klon kakao koleksi Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia menggunakan 15 marker SSR klon yang dievaluasi tergolong sebagai klon resisten terhadap infeksi *Phytophthora palmivora* dan atau berdaya hasil tinggi. Respons ketahanan ditentukan berdasarkan *detached leaf assay* atau *detached pod assay*. (Sumber: Rubiyo, 2008)

Figure 2. The grouping of 16 clones in ICCRI using SSR in ICCRI using 15 SSR molecular marker. Clones evaluated were categorized as resistant to *Phytophthora palmivora* or had high productivity. Resistance response determined by *detached leaf assay* or *detached pod assay*. (Source: Rubiyo, 2008)

Klon kakao NW 6261 diketahui mempunyai ukuran biji besar sehingga merupakan karakteristik yang diinginkan. Namun demikian, klon kakao NW 6261 belum diketahui responnya terhadap hama dan penyakit utama yang menyerang kakao di Indonesia. Jika klon kakao NW 6261 ternyata tidak tahan terhadap penyakit busuk buah dan VSD atau rentan terhadap serangan hama PBK maka kegunaan klon kakao NW 6261 sebagai donor polen akan menjadi berkurang. Sebaliknya, jika klon kakao NW 6261 ternyata resisten terhadap penyakit busuk buah dan VSD serta resisten terhadap hama PBK maka klon ini dapat dijadikan sebagai alternatif donor polen bagi penyediaan bibit kakao hibrida F1 yang akan dikembangkan di Indonesia. Untuk itu, pengujian lebih lanjut sifat ketahanan klon kakao NW 6261 terhadap penyakit busuk buah dan VSD serta serangan hama PBK di Indonesia masih perlu dilakukan sebelum dapat dimanfaatkan sebagai donor polen.

Berdasarkan informasi yang didapat menggunakan analisis kluster maka pengembangan dan produksi benih kakao hibrida F1 dapat menggunakan pasangan-pasangan tetua seperti yang disajikan pada Tabel 3. Rekomendasi pasangan tetua tersebut hanya didasarkan pada perbedaan jarak genetik yang tinggi antar tetua dan belum didasarkan pada karakteristik agronomis dan

resistensi terhadap serangan hama (misalnya: PBK) dan penyakit (misalnya: penyakit busuk buah dan VSD) yang dominan terjadi di Indonesia. Resistensi berbagai klon kakao tersebut terhadap hama dan penyakit utama yang menyerang tanaman kakao di Indonesia harus dievaluasi terlebih dahulu dan klon-klon kakao yang diketahui rentan terhadap hama dan penyakit utama tersebut kemungkinan besar tidak akan dapat digunakan sebagai tetua, meskipun berdasarkan jarak genetik memungkinkan.

Enam belas klon kakao yang dianalisis dalam penelitian di atas menunjukkan keragaman genetik dan jarak genetik antar klon yang tinggi. Jika jarak genetik saja yang dijadikan sebagai satu-satunya pertimbangan maka klon kakao yang dapat dijadikan sebagai calon tetua untuk persilangan antara lain: kelompok tetua P1 – klon Sca 6 atau NW 6261, RCC 70 atau RCC 71, PA 300 atau PA 303, dan ICS 13 atau TSH 858, sedangkan kelompok tetua P2 – klon kakao DR 2, ICCRI 2, DRC 16, DR1, ICCRI 3, ICCRI 1, ICCRI 4, atau DRC 15 (Tabel 3). Dalam prakteknya, pemilihan pasangan tetua untuk menghasilkan galur kakao hibrida F1 tidak hanya berdasarkan pada jarak genetik semata tetapi harus juga berdasarkan kombinasi sifat-sifat unggul yang dimiliki oleh pasangan tetua, meliputi daya hasil, ukuran biji, ketahanan terhadap hama dan penyakit utama yang menyerang kakao di lapangan.

Tabel 3. Kemungkinan kombinasi antara klon kakao untuk penghasil benih hibrida F1 yang dipilih berdasarkan informasi jarak genetik antar klon

Table 3. Possible combination of cacao clones in obtaining F1 hybrids, selected on interclonal genetic distance

No.	Tetua P1	Tetua P2	Catatan*
1	Sca 6 atau NW 6261	DR 2, ICCRI 2, DRC 16, DR1, ICCRI 3, ICCRI 1, ICCRI 4m DRC 15, RCC 70, RCC 71, ICS 13, TSH 858, PA 300, PA303	Prioritas 1
2	RCC 70 atau RCC 71	DR 2, ICCRI 2, DRC 16, DR1, ICCRI 3, ICCRI 1, ICCRI 4m DRC 15	Prioritas 2
3	PA 300 atau PA 303	DR 2, ICCRI 2, DRC 16, DR1, ICCRI 3, ICCRI 1, ICCRI 4m DRC 15	Prioritas 3
4	ICS 13 atau TSH 858	DR 2, ICCRI 2, DRC 16, DR1, ICCRI 3, ICCRI 1, ICCRI 4m DRC 15	Prioritas 4

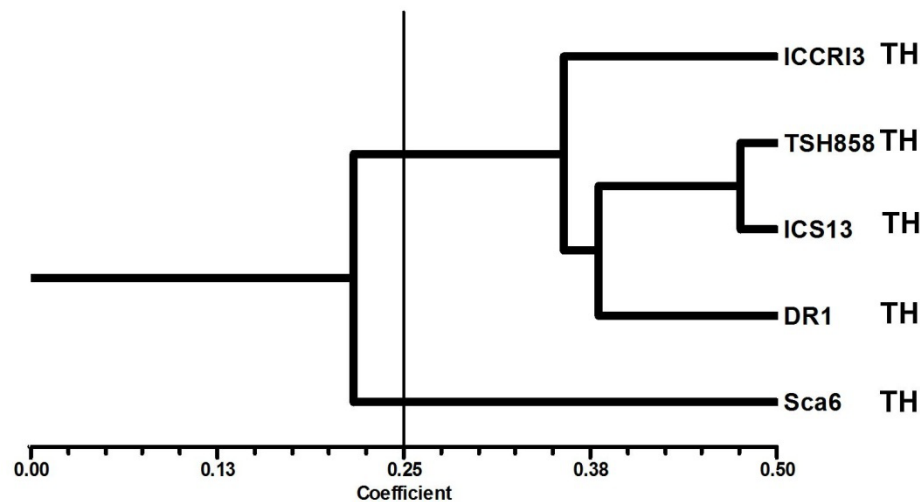
Sumber/Source: Sudarsono (2009)

Tabel 4. Tingkat kesamaan 5 klon kakao terpilih yang digunakan untuk menghasilkan populasi F1
Table 4. Similarity level of five selected clones in obtaining F1 population.

Klon kakao	ICCRI3	TSH858	DR1	ICS13	Sca6
ICCRI3	-				
TSH858	0,33	-			
DR1	0,33	0,43	-		
ICS13	0,40	0,48	0,33	-	
Sca6	0,22	0,32	0,17	0,15	-

Keterangan : Tingkat kesamaan dianalisis berdasarkan keragaman alel dengan menggunakan sejumlah lokus marker SSR yang telah digunakan sebelumnya

Notes : The similarities were analyzed based on allele diversities using a number of SSR molecular marker locus



n

Gambar 3. Pengelompokan lima klon tetua untuk menghasilkan populasi F1 berdasarkan marka molekuler SSR dan berdasarkan responnya terhadap infeksi *Phytophthora palmivora*. Respon ketahanan ditentukan berdasarkan luas bercak daun yang muncul pada hari ke-6 setelah di inokulasi dengan *Phytophthora palmivora* (Sumber: Kurniasih, 2012)

Keterangan : TH = tahan terhadap infeksi *Phytophthora palmivora*
Figure 3. The grouping of five parental clones to obtain F1 population by SSR molecular marker and its response to *Phytophthora palmivora* infection. Resistance response determined by the width of patches on leaf on the sixth day after *Phytophthora palmivora* inoculation. (Source: Kurniasih, 2012)

Notes : TH = Resistant to *Phytophthora palmivora* infectio

Penelitian lainnya yang telah dilakukan adalah evaluasi hibrida F1 hasil persilangan lima tetua dengan metode semi-diallel, yaitu ICCRI 3, TSH 858, ICS 13, DR1, dan Sca 6 yang diketahui memiliki ketahanan terhadap infeksi busuk buah dan berdaya hasil tinggi. Untuk menguji apakah pemilihan lima tetua tersebut telah dilakukan dengan benar atau belum, DNA dari lima klon kakao yang digunakan untuk menghasilkan hibrida F1 telah diisolasi dan dianalisis menggunakan marker SSR pada lokus-lokus yang telah digunakan sebelumnya. Data yang dihasilkan selanjutnya dianalisis untuk mendapatkan informasi tingkat

kesamaan antar klon dan digunakan untuk mengelompokkan masing-masing klon dengan analisis kluster.

Tingkat kesamaan di antara lima klon kakao yang dijadikan sebagai tetua bervariasi antara 0,15-0,48 (Tabel 4). Hal ini berarti jarak genetik antar tetua yang digunakan untuk menghasilkan galur kakao hibrida F1 berkisar 0,52-0,85, yang berarti relatif tinggi. Informasi jarak genetik antar tetua tersebut mengindikasikan bahwa populasi F1 yang dihasilkan akan mempunyai tingkat keragaman genetik tinggi. Keragaman genetik antar individu dalam populasi F1 yang dihasilkan diduga akan

mempunyai nilai tinggi, terutama dari hasil kombinasi persilangan antara klon kakao DR 1 x Sca 6, ICS 13 x Sca 6, dan ICCRI 3 x Sca 6.

Ketiga famili hibrida F1 hasil persilangan antara ketiga pasangan tetua tersebut diduga akan menghasilkan populasi F1 dengan keragaman genetik tinggi. Selain itu, karena dalam persilangan tersebut digunakan klon kakao Sca 6 yang berfungsi sebagai donor sifat-sifat resistensi terhadap hama dan penyakit maka besar kemungkinan populasi hibrida F1 hasil persilangan antara ketiga pasangan tetua tersebut menghasilkan populasi F1 tahan terhadap infeksi penyakit dan hama PBK.

Hasil analisis kluster yang dilakukan juga menjelaskan bahwa Sca 6 mempunyai tingkat kesamaan paling rendah dengan empat klon kakao yang lain. Sebaliknya, klon kakao TSH 858 dan ICS 13 mempunyai tingkat kesamaan tertinggi di antara lima tetua yang dievaluasi (Gambar 3). Berdasarkan hal tersebut, akan menjadi menarik untuk melihat keragaman yang ada pada individu-individu dalam populasi hibrida F1 turunan pasangan kombinasi

tetua tertentu dan hubungannya dengan jarak genetik pasangan tetuanya.

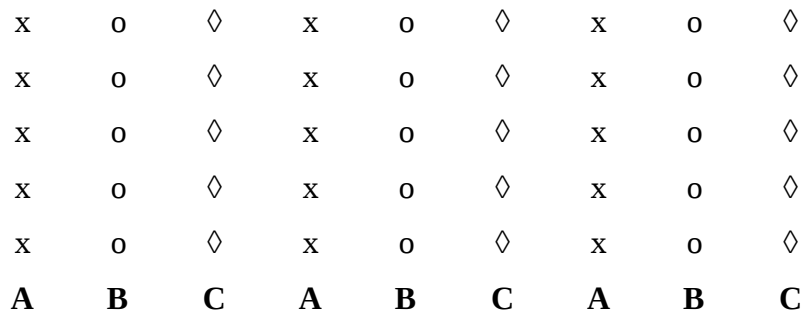
PERBANYAKAN BAHAN TANAMAN UNGGUL KAKAO SECARA KONVENSIONAL

Bahan tanaman memegang peranan penting di dalam usahatani kakao selain lingkungan yang sesuai. Oleh karena itu, pemanfaatan dan penanaman kakao yang memiliki ketahanan baik, produksi tinggi, dan mutu baik sangat diperlukan. Hingga saat ini telah tersedia sejumlah klon kakao diberbagai tempat di daerah sentra kakao di Indonesia yang mempunyai potensi produksi 1,5-2 ton dan dapat digunakan oleh petani dan pekebun seperti pada Tabel 5. Klon-klon ini memiliki ketahanan beragam mulai dari rentan hingga tahan. Untuk mendukung program pengembangan kakao dan meningkatkan produktivitas kakao rakyat di Indonesia, penyediaan bahan tanaman unggul mutlak diperlukan agar program peremajaan kakao dapat berjalan dengan baik.

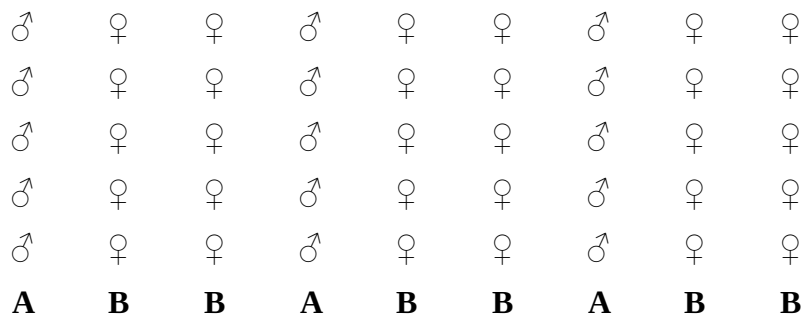
Tabel 5. Klon kakao unggul untuk bahan pengembangan kakao di Indonesia
Table 5. Superior clones for future selection in Indonesia

No	Nama klon	Kelompok kakao	Potensi produksi (ton)	Kadar lemak (%)	Bobot 1 biji kering	Warna biji segar
1	DR1	Mulia	1,2	52	> 1 g	Putih
2	DR2	Mulia	1,5	52	> 1 g	Putih
3	DRC16	Mulia	1,5	53	> 1 g	Putih
4	DR38	Mulia	1,5	52	> 1 g	Putih
5	ICS60	Lindak	2,0	54	> 1 g	Ungu
6	TSH 858	Lindak	2,0	56	> 1 g	Ungu
7	GC7	Lindak	1.7	55	> 1 g	Ungu
8	Sca 12	Lindak	1.0	50	> 1 g	Ungu
9	UIT1	Lindak	1,7	54	> 1 g	Ungu
10	Sca 6	Lindak	1.0	50	< 1 g	Ungu
11	Sulawesi 1	Lindak	2,0	53	< 1 g	Ungu
12	Sulawesi 2	Lindak	2.0	54	< 1 g	Ungu
13	ICS 13	Lindak	1.7	52	> 1 g	Ungu
14	PA 300	Lindak	1.3	54	> 1 g	Ungu
15	DRC 15	Mulia	1,5	50	> 1 g	Putih
16	RCC 70	Lindak	1,5	57	> 1 g	Ungu
17	RCC 71	Lindak	1,5	53	> 1 g	Ungu
18	RCC 72	Lindak	1,5	54	> 1 g	Ungu
19	RCC 73	Lindak	1,5	53	> 1 g	Ungu
20	ICCRI 01	Mulia	2,5	54	> 1 g	Putih
21	ICCRI 02	Mulia	2,5	54	> 1 g	Putih
22	ICCRI 03	Lindak	2,5	55	> 1 g	Ungu
23	ICCRI 04	Lindak	2,5	55	> 1 g	Ungu

Sumber/Source: Rubiyo *et al.* (2008)



Gambar 4. Komposisi poliklonal
Figure 4. Polyclonal composition



Gambar 5. Komposisi biklonal
Figure 5. Biclonal composition

Penyediaan bahan tanaman kakao dapat dilakukan melalui perbanyakan tanaman baik secara generatif maupun vegetatif. Perbanyakan generatif biasanya diarahkan untuk pengembangan varietas kakao hibrida, sedangkan perbanyakan vegetatif diarahkan untuk pengembangan klon-klon unggul.

Perbanyakan Generatif

Benih kakao hibrida dihasilkan dari kebun benih poliklonal (3–4 klon) maupun biklonal (2 klon tetua). Komposisi tetua poliklonal adalah 1:1:1, sedangkan tetua biklonal 2:1 (Gambar 4 dan 5). Klon induk harus memiliki sifat *self-incompatible* dan sebaliknya memiliki sifat *general cross-compatible*. Selain itu, klon induk juga harus memiliki sifat produksi tinggi dan tahan terhadap hama dan penyakit.

Perbanyakan Vegetatif

Tanaman kakao juga dapat dikembangkan secara klonal. Perbanyakan secara klonal dapat dilakukan dengan menggunakan teknik: (1) sambung pucuk, (2) okulasi, (3) setek, dan (4) sambung samping (untuk rehabilitasi tanaman tua/tidak produktif). Tingkat keberhasilan

sambung pucuk tinggi (>90%) dan secara teknis lebih mudah dan sudah digunakan skala komersial. Meskipun demikian teknik sambung pucuk memerlukan entres yang banyak.

Teknik okulasi memiliki tingkat keberhasilan penyambungan sedang (60–80%), relatif lebih sulit, membutuhkan waktu lebih lama, lebih hemat entres, vigor bibit seragam, dan sudah digunakan skala komersial. Di sisi lain, tingkat keberhasilan penyetekan masih rendah. Teknik lebih mudah dan lebih efisien karena tidak perlu batang bawah. Meskipun demikian, belum digunakan skala komersial. Teknik sambung samping digunakan untuk merehabilitasi tanaman tua atau tidak produktif. Umur produktif tergantung kondisi batang bawah. Perlu teknik perawatan khusus pasca penyambungan. Teknik sambung samping dan sambung pucuk menggunakan klon-klon kakao unggul telah tersedia dan telah banyak diaplikasikan oleh petani sehingga mampu meningkatkan produktivitas dan mutu hasilnya.

Bahan tanam memegang peranan penting di dalam usahatani kakao selain lingkungan yang sesuai. Pengembangan kakao di Indonesia yang

didominasi oleh perkebunan rakyat saat ini sedang terjadi serangan penyakit busuk buah dan VSD serta hama PBK. Kedua penyakit serta hama ini merupakan OPT utama tanaman kakao, oleh karena itu pemanfaatan dan penanaman kakao yang memiliki ketahanan yang baik, produksi tinggi, dan mutu baik sangat diperlukan. Klon kakao yang unggul telah tersedia diberbagai tempat di daerah sentra kakao di Indonesia beberapa klon kakao yang mempunyai potensi produksi 1,5-2 ton dan dapat digunakan oleh petani dan pekebun. Beberapa klon selain berproduksi tinggi juga mempunyai sifat tahan atau toleran terhadap hama dan penyakit utama. Seperti klon DR2, DR16, PA 300, RCC 71, RCC 73, ICCRI 01, ICCRI 02, ICCRI 03, dan ICCRI 04 selain produksi rata-rata > 1,5 ton/ha, juga tahan terhadap penyakit busuk buah. Klon Sulawesi 1 dan Sulawesi 2 tahan terhadap penyakit VSD. Klon KW 617 dan KW 516 agak tahan terhadap hama PBK, serta klon ICCRI 01, ICCRI 02, ICCRI 03, ICCRI 04 tahan terhadap hama *Helopeltis* spp.

KESIMPULAN

Peningkatan produktivitas dan mutu hasil kakao di Indonesia dapat diperoleh melalui penggunaan bahan tanam klonal maupun hibrida F1. Perakitan varietas dan klon kakao untuk mendapatkan bahan tanaman unggul dapat dilakukan melalui pendekatan konvensional dan inkonvensional. Pendekatan inkonvensional dengan memanfaatkan teknologi molekuler dapat mempersingkat daur seleksi tanaman kakao. Klon unggul kakao yang telah dihasilkan memiliki produktivitas tinggi dan tahan terhadap penyakit utama adalah klon ICCRI 3, ICCRI 4, dan DRC 15.

DAFTAR PUSTAKA

- Alvim, P. T. 1997. Cocoa. In Alvim, P. T. and T. T. Kozlowski (Eds.) *Ecophysiology of Tropical Crops*. Academic Press. New York. p. 279-313.
- Bekele, F., I. Bekele, D. Butler, and G. Bidaisee. 2006. Patterns of morphological variation in a sample of cacao (*Theobroma cacao* L.) germplasm from the International Cocoa Genebank, Trinidad. *Genet. Resour. Crop Evol.* 53: 933-948.
- Clement, D., A. M. Risterucci, L. Grivet, J. C. Motamayor, J. N'Goran, and C. Lanaud. 2003. Mapping QTL for yield components, vigor, and resistance to *Phytophthora palmivora* in *Theobroma cacao* L. *Genome* 46: 204-212.
- Crozier, J., S. E. Thomas, M. C. Aime, C. H. Evans, and K. A. Holmes. 2006. Molecular characterization of fungal endophytic morphospecies isolated from stems and pods of *Theobroma cacao*. *Plant Pathol.* 55: 783-791.
- Darmono, T. W., I. Jamil, and D. A. Santoso. 2006. Pengembangan penanda molekuler untuk deteksi *Phytophthora palmivora* pada tanaman kakao. *Menara Perkebunan* 74: 86-95.
- Ditjenbun, 2009. Statistik Perkebunan: Kakao. Direktorat Jenderal Perkebunan. Departemen Pertanian. Jakarta.
- Ditjenbun, 2010. Statistik Perkebunan: Kakao. Direktorat Jenderal Perkebunan. Departemen Pertanian. Jakarta.
- Freeman, S., J. West., C. James., V. Lea., and S. Mayes. 2004. Isolation and characterization of highly polymorphic microsatellites in tea (*Camellia sinensis*). *Mol. Ecol. Notes* 4: 324-326.
- Kurniasih, S. 2012. Pemanfaatan marka molekuler untuk mendukung perakitan klon-klon unggul kakao (*Theobroma cacao* L.). Disertasi Institut Pertanian Bogor. 94 hlm.
- Lanaud, C., A.M. Risterucci, I. Pieretti, M. Falque, A. Bouet, and P.J.L. Lagoda. 1999. Isolation and characterization of microsatellites in *Theobroma cacao* L. *Mol. Ecol.* 8: 2141-2143.
- Lanaud, C., A.M. Risterucci, I. Pieretti, J.A.K. N'goran, and D. Fargeas. 2004. Characterisation and genetic mapping of resistance and defence gene analogs in cocoa (*Theobroma cacao* L.). *Molecular Breeding* 13: 211-227.
- Las, R. A. and G. A. R. Wood. 1985. Cocoa 4th. Ed. Longman Group Lim. New York. 620 p.
- Mawardi, S. 1982. Tujuh puluh tahun pemuliaan tanaman coklat di Indonesia. *Menara Perkebunan* 50: 7-22.
- Mohan, M., S. Nair, A. Bhagwat, T. G. Krishna, M. Yano, C. R. Bhatia, and T. Sasaki. 1997. Genome mapping, molecular markers and marker assisted selection in crop plants. *Molec. Breed.* 3: 87-103
- Motilal, L. and D. Butler. 2003. Verification of identities in global cacao germplasm collections. *Genet. Resour. Crop Evol.* 50: 799-807.
- Opeke, L. K. and A. M. Gorenz. 1982. *Phytophthora* pod rot: symptoms and economic importance. In P. H. Gregory (Eds.). *Phytophthora Disease of Cocoa*: 117-124.

- Priolli, R. H. G., C. T. Mendez, N. E. Arantes, and E. P. B. Contel. 2005. Characterization of brasilian soybean cultivars using microsatellite markers. *Gen. and Mol. Biol.* 25 (2): 185-193.
- Pugh, T., O. Fouet, M. Risterucci, P. Brottier, M. Abouladze, C. Deletrez, B. Courtois, D. Clement, P. Larmande, J. A. K. N'Goran, and C. Lanaud. 2004. A new cacao linkage map based on codominant markers: development and integration of 201 new microsatellite markers. *Theor. Appl. Genet.* 108: 1151–1161.
- Rubiyo, Purwantara, Suhendi, Trikusumaningtyas, S. Ilyas, dan Sudarsono. 2008. Uji ketahanan kakao (*Theobroma cacao* L.) terhadap penyakit busuk buah dan efektivitas metode inokulasi. *Jurnal Pelita Perkebunan* 24: 95-113.
- Schnell, R. J., D. N. Kuhn, J. S. Brown, C. T. Olano, W. Philips-Mora, F. M. Amores, and J. C. Motamayor. 2007. Development of a marker assisted selection program for cacao. *Phytopathology* 12: 1664-1669.
- Soria, J. 1974. Sorces of Resistance to *Phytophthora palmivora*. Dalam P. H. Gregory (Ed.): *Phytophthora Disease of Cocoa*. Longman, London. p. 197-202.
- Sudarsono, S. Asep, dan S. Kurniasih. 2009. Teknik molekuler dan pemuliaan tanaman untuk percepatan perakitan kultivar unggul kakao (*Theobroma cbalittriacao* L.) resisten terhadap penyakit busuk buah (*Phytophthora palmivora*). Lap. Penel. KKP3T. 208 hlm. [Tidak dipublikasi]
- Weising, K., H. Nybom, K. Wolf, and W. Meyer. 1996. DNA Fingerprinting in Plant and fungi. CRC Press. Boca Rato, Fla.
- Wood, G. A. R. 1985. Establishment. In G. A. R. Wood and R. A. Lass (Eds.) *Cocoa*. Longman, London. p. 119-165.
- Zhang, Dapeng, S. Mischke, R. Goenaga, A. A. Hemeida, and J. A. Saunders. 2006. Accuracy and reliability of high-throughput microsatellite genotyping for cacao clone identification. *Crop Sci.* 46: 2084–2092.
- Zhang, Dapeng, S. Mischke, E. S. Johnson, W. Phillips-Mora, and L. Meinhardt. 2009. Molecular characterization of an international cacao collection using microsatellite markers. *Tree Genetics & Genomes* 5: 1–10.

