

## VARIETAS UNGGUL BARU KAKAO (*Theobroma cacao* L.) TAHAN PENYAKIT *Vascular Streak Dieback* (VSD)

### *NEW SUPERIOR Vascular Streak Dieback (VSD) RESISTANT VARIETY OF CA CAO (Theobroma Cacao L.)*

Cici Tresniawati

**Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar**  
Jl. Raya Pakuwon – Parungkuda km. 2 Sukabumi, 43357  
Telp. (0266) 6542181, Faks. (0266) 6542087  
*cici\_tresniawati@yahoo.com*

#### ABSTRAK

Proses budidaya kakao dipengaruhi berbagai faktor pembatas, diantaranya adalah serangan hama dan penyakit, tanaman yang sudah tidak produktif, dan perubahan iklim. Salah satu penyakit yang menyerang tanaman kakao adalah penyakit pembuluh kayu atau *vascular streak dieback* (VSD) yang disebabkan oleh cendawan *Ceratobasidium theobromae* (P.H.B. Talbot & Keane). Varietas unggul baru tahan VSD merupakan salah satu cara yang tepat dalam mengatasi penurunan produksi kakao. Klon-klon kakao baik berupa varietas unggul nasional dan klon-klon lokal yang memiliki karakter produksi dan ketahanan terhadap organisme pengganggu tanaman di koleksi dalam plasma nutfah sebagai *core collection*. Dilakukan identifikasi karakter morfologi, produksi dan ketahanan terhadap VSD, dan dibantu dengan molekuler sehingga teridentifikasi genotipe-genotipe dengan jarak genetik yang jauh. Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar (Balittri), institusi yang menangani komoditas kakao memiliki tupoksi menyediakan bahan tanam (plant material) (hibrida, klon, dan hibrida poliklonal) dan mengembangkan paket teknologi budidaya, khususnya penyediaan bahan tanaman (planting material) baik secara generatif maupun vegetatif. Penyediaan bahan tanam unggul harus dilakukan secara terstruktur agar tepat sasaran dan lebih efisien mengingat kakao adalah tanaman tahunan. Salah satu kegiatan pemuliaan tanaman di Balittri adalah persilangan antar klon, dengan menggunakan kakao jenis lindak yaitu ICS 13, TSH858, ICCRI 03, ICCRI 04, Sulawesi 1, Sulawesi 2, dan SCA 6. Hibrida-hibrida yang dihasilkan akan diidentifikasi karakter morfologi, ketahanan terhadap VSD, produksi, mutu biji, dan bantuan teknik molekuler dalam hal ini simple sequence repeat (SSR) untuk mempercepat proses pemuliaan tanaman.

Kata Kunci: diallel, kakao (*Theobroma cacao* L.), persilangan, *simple sequence repeat* (SSR), *vascular streak dieback* (VSD)

#### ABSTRACT

*Cacao cultivation influenced by several factors, i.e. pest and disease attack, unproductive plants and climate change. One of the main disease is vascular streak dieback (VSD) caused by fungi Ceratobasidium theobromae (P.H.B. Talbot & Keane). Using VSD resistant variety is a strategy to solve productivity decrease in cacao. National varieties and local clones with resistance and high productivity were collected in germplasm as core collection. Identification were taken on morphology, productivity and VSD resistance, and collaborated with molecular aspect, genotypes with broad genetic distance could be identified. Indonesian Industrial and Beverage Crops Research Institute (IIBCRI) is responsible in producing plant material (hybrid, clone, and polyclonal hybrid), developing cultivation technology, and providing both generative or vegetative planting materials. A structured and targeted superior variety development should be taken as effective and efficient as possible regarding the characteristics of cacao as a perennial plant. One of breeding activity in IIBCRI is hybridization between bulk kakao i.e. ICS 13, TSH 858, ICCRI 03, ICCRI 04, Sulawesi 1, Sulawesi 2, and SCA 6 as a parent. Hybrids were characterized based on morphological, biochemistry, productivity, beans quality and the contribution of simple sequence repeat (SSR) in accelerating the breeding program.*

Kata Kunci: diallel, cacao (*Theobroma cacao* L.), hybridization, *simple sequence repeat* (SSR), *vascular streak dieback* (VSD)

#### PENDAHULUAN

Penyakit pembuluh kayu atau *vascular streak dieback* (VSD) yang disebabkan oleh cendawan *Ceratobasidium theobromae* (P.H.B. Talbot & Keane) adalah salah satu penyakit yang dapat menyerang tanaman kakao dan berpotensi menyebabkan kehilangan hasil

apabila tidak ditangani secara serius. Serangan cendawan ini menyebabkan tanaman meranggas, daun menguning, dan menghambat munculnya bunga dan buah. Salah satu upaya pengendalian penyakit yang efektif dan efisien adalah melalui penggunaan bahan tanam tahan. Besarnya kerugian akibat serangan VSD adalah antara 3-60%/tahun (Karmawati *et al.*,

2010). Menurut Anita-Sari, Susilo & Yusianto (2012), kerusakan tanaman kakao di beberapa wilayah Jawa Timur disebabkan oleh tingginya serangan penyakit VSD, begitu juga di Jawa Barat (Guest & Keane, 2007). Beberapa perkebunan pemerintah di Jawa Timur mengganti tanaman kakao yang terserang VSD dengan tanaman tebu (McMohan & Purwantara, 2016). Pada tahun 2002, serangan VSD ditemukan di Polmas dan Pinrang, Sulawesi Selatan (Rosmana, 2005).

Bahan tanam kakao tahan VSD dapat berupa klon unggul atau varietas hibrida. Perakitan varietas hibrida tahan VSD secara konvensional biasanya melibatkan tetua-tetua tahan namun produktivitasnya rendah dan tetua-tetua rentan tapi daya hasilnya tinggi. Seleksi individu dalam koleksi plasma nutfah *in situ* maupun *ex situ* juga berpeluang mendapatkan bahan tanam berupa klon dengan ideotipe kakao tahan VSD. Contoh klon unggul kakao yang memiliki ketahanan terhadap penyakit VSD adalah Sulawesi 1, Sulawesi 2, SCA 6 (Susilo & Anita-Sari, 2011) dan DRC 15 (Susilo, Mawardi, & Sudarsianto, 2009).

Tulisan ini akan mengulas kegiatan pemuliaan varietas unggul baru tahan penyakit VSD, yang dimulai dari identifikasi bahan tetua-tetua persilangan pada plasma nutfah tanaman kakao, kegiatan persilangan buatan, identifikasi karakter morfologi, produksi dan ketahanan penyakit VSD dan pengendaliannya.

## PENYAKIT VASCULAR STREAK DIEBACK

Penyakit pembuluh kayu atau *vascular streak dieback* (VSD) disebabkan oleh cendawan *Ceratobasidium theobromae* (P.H.B. Talbot & Keane). Cenda'wan ini bersifat parasit obligat, mematikan tanaman secara perlahan, hanya dapat berkembangbiak dalam jaringan hidup tanaman inang (McMohan & Purwantara, 2016). Penyakit ini pertama kali ditemukan di Papua New Guinea pada tahun 1960an. Kemudian penyakit ini menyebar ke negara Asia lainnya seperti India Selatan, Cina, Pulau Hainan, Burma, Thailand, Malaysia, Filipina, dan Indonesia (Guest & Keane, 2007). Di Indonesia penyakit ini pertama kali

ditemukan di Pulau Sebatik (Kalimantan Timur) pada tahun 1982, saat ini VSD telah tersebar di daerah Jawa Barat, Jawa Timur, sebagian besar Sulawesi dan Bali (Guest & Keane, 2007).

Upaya pengendalian VSD masih sangat sulit untuk dilakukan. Hal tersebut dikarenakan masih sedikit informasi mengenai karakter cendawan tersebut, dan kesulitan mengembangbiakannya pada media buatan. Samuels *et al.* (2011) menyatakan bahwa *O. theobromae* tidak menghasilkan spora seksual dan aseksual pada media buatan, patogen ini hanya dapat bertahan selama satu minggu pada media corticium. Infeksi penyakit VSD pada fase bibit (Gambar 1) dapat menimbulkan kematian tanaman hingga 50% setelah bibit dipindah ke lapang (Keane, 2001). Penyakit ini paling merusak pada bibit berumur kurang dari 10 bulan (Keane & Prior, 1992).



Gambar 1 Bibit kakao terserang VSD (Sumber: Khaerati, 2015)

*Figure 1. Cacao plant materials affected with VSD (Source: Khaerati, 2015)*

Pengujian ketahanan terhadap VSD banyak dilakukan di daerah endemik, karena cendawan belum dapat diisolasi dan diperbanyak dalam biakan agar. Induksi ketahanan pada tanaman dilakukan dengan injeksi basidiospora langsung pada bibit dari basidiomata yg dikoleksi

langsung dari lapang, atau dengan cara menaruh bibit di bawah tanaman yang terserang VSD.

Gejala awal serangan VSD yang paling spesifik adalah klorosis (Gambr 2A) atau nekrosis bintik kuning yang diikuti gejala penuaan daun pada daun kedua atau ketiga dari ujung ranting. Serangan VSD dimulai pada daun muda kemudian terjadi penghitaman xilem pada daun yang terinfeksi dan akhirnya daun akan gugur seperti gejala ompong (Samuels et al., 2011). Apabila pada daun yang mengalami nekrotik di potong maka akan terlihat tiga titik coklat pada pangkal daun

(Gambar 2B). Pada cabang, apabila dibelah secara melintang akan ditemukan garis kecoklatan akibat kematian jaringan pembuluh (Gambar 2C). Lentisel pada pohon terinfeksi biasanya membesar, menyebabkan kulit batang menjadi kasar. Akhirnya daun gugur dan mati, tunas lateral kadang-kadang dapat berkembang tetapi akhirnya mati juga, dan ranting-ranting yang mati terlihat seperti sapu (Gambar 2D). Keragaan tanaman yang terserang VSD di daerah Jawa Timur (Gambar 3A) dan Sulawesi Tenggara terdapat pada Gambar 3B.



Gambar 2 Gejala-gejala serangan VSD. Klorosis pada daun (A)., tiga titik coklat pada pangkal daun (B), garis kecokelatan pada jaringan pembuluh (C), dan mati ranting seperti sapu (D) (Sumber: Guest & Keane, 2007 (A); McMohan & Purwantara, 2016 (B-C); dan [www.appsnet.org](http://www.appsnet.org) (D))

*Figure 2: Attack symptoms of VSD. Chlorosis at leaves (A), three brown spots on leaf stem (B), brownish line at vascular tissue (C), and dead branches (D) (Source: Guest & Keane, 2007 (A); McMohan & Purwantara, 2016 (B-C); dan [www.appsnet.org](http://www.appsnet.org) (D))*



Gambar 3 Keragaan tanaman yang terserang VSD di Jawa Timur (A) dan Sulawesi Tenggara (B) (Sumber: McMohan & Purwantara, 2016 (A) dan Khaerati, 2015 (B))

Figure 3. Plant performance affected by VSD in East Java (A) and South East Sulawesi (B) (Source: McMohan & Purwantara, 2016 (A) dan Khaerati, 2015 (B))

Cendawan *C. theobromae* memproduksi basidiospora pada basidium yang berkembang pada cabang kakao yang terserang dan terjadi setelah tengah malam pada kondisi sangat lembap. Basidiospora disebarkan oleh angin dan bila spora jatuh pada tempat yang kering maka akan segera kehilangan viabilitasnya. Pada daun yang lunak dan mengandung tetesan air, basidiospora berkecambah dengan cepat, kemudian membentuk tabung kecambah untuk mempenetrasi epidermis dan kemudian masuk ke dalam xylem. Dalam waktu 6 sampai 16 minggu (tergantung pada umur tanaman kakao), gejala akan muncul pada daun ke-2 dan ke-3 dari pucuk. Bila hujan terus, maka perkecambahan akan lebih cepat terjadi dan akan mengalami siklus yang sempurna. Di Papua New Guinea dan Malaysia Barat, penyakit ini paling umum ditemukan di daerah basah di mana curah hujan tahunan melebihi 2.500 mm (Guest & Keane, 2007).

Penularan penyakit VSD ke tanaman lain melalui basidiospora yang dapat diterbangkan dengan perkiraan jarak 200 m. Spora tidak tahan sinar ultraviolet, sehingga apabila terkena sinar matahari selama 30 menit menjadi tidak infeksi. Penyakit ini umumnya menginfeksi tanaman kakao dan juga dilaporkan menyerang pada tanaman alpukat (Samuels *et al.* 2011). Menurut Guest & Keane (2007) pada bekas daun gugur dapat muncul hifa cendawan *O. theobromae* dari bekas pembuluh yang telah terinfeksi jika berada dalam kondisi lembap, kemudian berkembang membentuk basidiocarp

berwarna putih (Gambar 4). Pembentukan basidiospora terjadi setelah tengah malam sampai pagi. Ukuran panjang basidiospora *O. theobromae* 15-25  $\mu\text{m}$  dan lebar 6.5-8.5  $\mu\text{m}$ .



Gambar 4 Hifa cendawan *O. theobromae* pada bekas daun gugur di batang (Sumber: McMohan & Purwantara, 2016)

Figure 4. Hyphae of fungi *O. theobromae* on leaf scar on the branch (Source: McMohan & Purwantara, 2016)

Sistem budidaya yang menggunakan bahan tanam tahan pada fase pembibitan, pengaturan kanopi/ tajuk pohon, pemangkasan cabang yang terinfeksi secara teratur serta penggunaan genotipe yang tahan VSD merupakan cara pengendalian yang efektif dalam mengatasi VSD. Penggunaan kakao hibrida yang terdiri dari Upper Amazon, Trinitario dan Amelonado menghasilkan keragaman genetik di suatu wilayah, setiap genotipe memiliki tingkat ketahanan yang berbeda-beda sehingga kerugian kehilangan hasil tidak akan terlalu besar, hal ini terbukti dengan serangan VSD di

Sulawesi tidak separah yang terjadi di Papua Newguini (Guest & Keane, 2007).

Terjadinya epidemi penyakit salah satu faktor yang mempengaruhi adalah faktor lingkungan. Menurut Cuniffe *et al.* (2015) cited in Khaerati (2015) kondisi lingkungan dapat memengaruhi tingkat infeksi patogen, dan inang menjadi rentan. Faktor lingkungan yang memengaruhi perkembangan epidemi penyakit tanaman yaitu: kelembaban, suhu, dan aktivitas manusia bercocok tanam. Berkembangnya penyakit disebabkan adanya interaksi beberapa faktor antara lain: klon yang ditanam, iklim yang lebih basah, sistem budidaya tanaman yang tidak tepat (jarak tanam, pohon penang, terasering, drainase), dan pemeliharaan tanaman yang minim (pemangkasan tanaman dan penang, pemupukan, sanitasi kebun dan pengendalian hama dan penyakit).

Kebun kakao yang memiliki tajuk tanaman kakao yang tidak rapat atau jarang, ditemukan lebih rendah terserang penyakit VSD karena kondisi sirkulasi udara di kebun baik dan adanya paparan sinar matahari langsung. Menurut Keane (1981) paparan sinar matahari langsung selama 12 menit dapat mengurangi perkecambahan spora hingga 95%, sedangkan paparan cahaya matahari secara tidak langsung membutuhkan waktu 20 menit dapat mengurangi perkecambahan spora *O. theobromae* hingga 80%. Terjadinya penutupan tajuk yang rapat disebabkan oleh petani tidak melakukan pemangkasan pemeliharaan melainkan hanya memangkas tunas air. Pemangkasan pemeliharaan adalah mengurangi sebagian daun yang rimbun di tajuk tanaman dengan cara memotong ranting-ranting yang terlindungi atau yang menaungi, memotong cabang yang ujungnya masuk ke dalam tajuk tanaman dan diameter kurang dari 2.5 cm, mengurangi daun yang menggantung dan menghalangi aliran udara di dalam kebun. Guest & Keane (2007) menyatakan bahwa pengendalian VSD dengan cara pemangkasan cabang-cabang terinfeksi 30 cm dari bagian pembuluh xilem yang berwarna coklat secara rutin setiap dua minggu sekali selama hampir 2 tahun dapat menekan serangan VSD hingga tingkat serangan di bawah 1%, sedangkan tanaman yang tidak dilakukan pemangkasan

terjadi peningkatan intensitas serangan VSD dari 30% menjadi 90%.

## PLASMA NUTFAH TANAMAN KAKAO

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 seperti Cocoa Research Unit (CRU) di Trinidad; The International Cocoa Collection (IC3), CATIE di Turrialba, Costa Rica; CEPLAC di Brasil; Cocoa Research Institute of Ghana (CRIG) di Ghana; dan Centre National de la Recherche Agronomique de Ivory Coast (CNRA) di Pantai Gading (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 yaitu seleksi. Pada tahap ini 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.

Kakao (*Theobroma cacao* L.) adalah tanaman tahunan, menyerbuk silang, umumnya diperbanyak dengan cara klonal, dan berasal dari lembah Amazon. Kakao pertama kali diintroduksi ke Indonesia oleh bangsa Spanyol pada tahun 1560, pertama kali ditanam di

Minahasa. Bahan tanam kakao tersebut berupa Criollo Venezuela, yang berupa kakao mulia (Criollo Venezuela). Pada saat ini tipe kakao yang berkembang di Indonesia adalah kakao mulia (*fine cacao*) yang merupakan jenis Criollo dan kakao lindak (*bulk cacao*) yang merupakan jenis Forastero dan Trinitario. Karakteristik dari ketiga jenis kakao tertuang dalam Tabel 1. Kakao mulia merupakan kakao yang memiliki citarasa yang lembut dan sering digunakan sebagai pencampur pada kakao lindak. Kakao lindak lebih tahan terhadap serangan organisme pengganggu tanaman (OPT) jika dibandingkan dengan kakao mulia. Kegiatan persilangan yang dilakukan memanfaatkan klon-klon kakao mulia dan lindak.

Kakao mulia bijinya berwarna putih sedangkan kakao lindak bijinya berwarna ungu. Persentase biji berwarna putih menjadi salah satu kriteria suatu aksesori kakao digolongkan ke dalam kategori kakao mulia. Pada Gambar 5 menunjukkan benih (biji) kakao mulia klon DR 1 (A) dan kakao lindak klon MCC 01 (B).

Klon-klon kakao baik berupa varietas unggul nasional dan klon-klon lokal yang memiliki karakter produksi dan ketahanan terhadap organisme pengganggu tanaman di koleksi dalam plasma nutfah sebagai *core*

*collection*. Dilakukan identifikasi karakter morfologi, produksi (mutu biji) dan ketahanan terhadap VSD, dan dibantu dengan molekuler sehingga teridentifikasi genotipe-genotipe dengan jarak genetik yang jauh. 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.

Plasma nutfah di kebun percobaan Pakuwon telah berumur 5 tahun. Koleksi plasma nutfah terdiri dari klon-klon unggul nasional, klon lokal hasil eksplorasi di Indonesia dan luar negeri, dan hibrida-hibrida kakao mulia. Dari kegiatan plasma nutfah telah terpilih lima klon yang digunakan sebagai tetua untuk digunakan dalam persilangan. Tetua yang digunakan memiliki karakteristik ketahanan terhadap penyakit VSD tetapi potensi produksinya tidak terlalu tinggi  $\pm 1,5-2,7$  ton/ha/tahun. Klon-klon kakao Sulawesi 1, Sulawesi 2, SCA 6, ICCRI 03, dan ICCRI 04 (Gambar 6) merupakan klon-klon yang dikembangkan untuk meningkatkan produktivitas dan mengatasi masalah serangan penyakit VSD pada pertanaman kakao lindak (Susilo, 2010).

Tabel 1 Jenis dan ciri-ciri kakao yang dikembangkan di Indonesia  
Table 1. Characteristics of cacao cultivated in Indonesia

| No | Karakter                    | Jenis        |                |                   | Keterangan                                                                  |
|----|-----------------------------|--------------|----------------|-------------------|-----------------------------------------------------------------------------|
|    |                             | Criollo      | Forastero      | Trinitario        |                                                                             |
| 1  | Warna buah                  | Merah        | Hijau          | Beragam           | Tipe Trinitario merupakan hibrida dari Criollo dan Forastero (secara alami) |
| 2  | Kulit buah                  | Kasar        | Halus          | Kasar s/d halus   |                                                                             |
| 3  | Warna biji                  | Putih        | Ungu           | Ungu              |                                                                             |
| 4  | Bentuk biji                 | Bulat besar  | Lonlong pipih  | Lonjong pipih     |                                                                             |
| 5  | Kadar lemak                 | Sedikit      | Banyak         | Sedang            | Sifat-sifatnya ada diantara keduanya                                        |
| 6  | citarasa                    | Baik         | Sedang         | Sedang            |                                                                             |
| 7  | Ketahanan hama dan penyakit | Kurang tahan | Lebih tahan    | Cukup tahan       |                                                                             |
| 8  | Pertumbuhan tanaman         | Kurang kuat  | Kuat dan cepat | Sedang dan cepat  |                                                                             |
| 9  | Produksi                    | Sedikit      | Tinggi         | Sedang s/d tinggi |                                                                             |

Sumber: Komisi Kakao Nasional (2006)

Source: National Cacao Committee (2006)



Gambar 5 Benih (biji) kakao mulia klon DR 1 (A) dan kakao lindak klon MCC 01 (B). (Dok. Foto: Cici Tresniawati)

Figure 5. Seeds of nulk cacao of DR 1 clone (A) and fine cacao of MCC 01 (B). (Source: Cici Tresniawati)



(A) Sulawesi 1



(B) Sulawesi 2



(C) SCA 6  
(D)



(E) ICCRI 03



(F) ICCRI 04

Gambar 6 Keragaan beberapa genotipe kakao: (A) Sulawesi 1; (B) Sulawesi 2; (C) SCA 6; (D) ICCRI 03; dan (E) ICCRI 04 (sumber: PPKKI, 2010)

Figure 6. Performance of several cacao genotypes; (A) Sulawesi 1; (B) Sulawesi 2; (C) SCA 6; (D) ICCRI 03; and (E) ICCRI 04 (Source: PPKKI, 2010)

## PEMULIAAN TANAMAN KAKAO

Kegiatan pemuliaan tanaman kakao di Indonesia sudah berkembang sejak tahun 1912, pertama kalinya 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. 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 pada 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 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). Tahapan selanjutnya adalah evaluasi materi yang 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 batang bawah yang dapat digunakan oleh petani kakao secara luas. Disamping 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, Lopes & Clement, 2009).

## PERSILANGAN PADA TANAMAN KAKAO

Persilangan adalah proses penggabungan karakter unggul dari masing-masing tetua kedalam satu individu (hibrida), diharapkan individu tersebut memiliki sifat heterosis atau vigor hibrida, yang akan dievaluasi untuk memperoleh bahan tanam yang unggul di masa mendatang (Syukur, Sujiprihatini & Yuniarti, 2010). Varietas kakao yang memiliki ketahanan terhadap penyakit VSD dapat diperoleh dengan merakit varietas yang mempunyai gen ketahanan terhadap penyakit tersebut. 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 ketahanan, heritabilitas, tipe gen pengendali karakter, korelasi antar karakter serta ada tidaknya pengaruh sumber polen terhadap karakter ketahanan terhadap penyakit. Kompatibilitas, ketahanan terhadap VSD, daya hasil, bobot per biji kering dan kadar lemak beberapa klon kakao unggul nasional terdapat pada Tabel 2.

Tabel 2 Kompatibilitas, ketahanan terhadap VSD, daya hasil, bobot per biji kering dan kadar lemak beberapa klon kakao

Table 2. Compatibility, resistancy toward VSD, yield, weight per dried seed and fat content of several cacao clones

| Klon       | Jenis        | kompatibilitas   | Ketahanan VSD | Daya hasil (ton/ha) | bobot/biji kering (g) | Kadar Lemak (%) | Tahun pelepasanvarietas |
|------------|--------------|------------------|---------------|---------------------|-----------------------|-----------------|-------------------------|
| DR1        | Kakao mulia  | SI               | rentan        | 1,5                 | 1.36                  | -               | -                       |
| DR2        |              | -                | Rentan        | 2,16                | 1.21                  | -               | -                       |
| DR 38      |              | -                | Rentan        | 1,5                 | 1.47                  | -               | -                       |
| DRC 16     |              | -                | Tahan         | 1.54                | 1.19                  | 53,45           | 1997                    |
| ICCRI 01   |              | SC               | Rentan        | 2.5                 | 1.36                  | 59              | 2005                    |
| ICCRI 02   |              | SC               | Rentan        | 2.37                | 1.32                  | 56              | 2005                    |
| DRC 15     |              | -                | Tahan         | 1.542               | 1.16                  | 50.4            | 2009                    |
| GC 7       | Kakao Lindak | -                | Rentan        | 2.0                 | 1.24                  | 55              | 1997                    |
| ICS 13     |              | -                | Rentan        | 1.83                | 1.05                  | 52              | 1997                    |
| AP 70      |              | SC               | Moderat       | 2,03                | 1,18                  | 57,5            | 1998                    |
| AP 71      |              | SC               | Moderat       | 1,89                | 1,18                  | 58,1            | 1998                    |
| AP 72      |              | SC               | Moderat       | 2,01                | 1,16                  | 55,4            | 1998                    |
| AP 73      |              | SC               | Moderat       | 1,89                | 1,15                  | 56,2            | 1998                    |
| ICS 60     |              | -                | Sedang        | 1.5                 | 1.67                  | 54              | -                       |
| TSH 858    |              | -                | Rentan        | 1.76                | 1.15                  | 56              | -                       |
| ICCRI 03   |              | SC               | Moderat       | 2.06                | 1.27                  | 55,07           | 2006                    |
| ICCRI 04   |              | SC               | Rentan        | 2.09                | 1.28                  | 44,01           | 2006                    |
| Sulawesi 1 |              | SC               | Tahan         | 1.8-2.5             | 1.1                   | 45-50           | 2008                    |
| Sulawesi 2 |              | SC               | Moderat       | 1.8-2.75            | 1.27                  | 55,07           | 2008                    |
| SCA 6      |              | SI <sup>1)</sup> | Tahan         | 1.54                | 0,65-0,8              | 49,6-58,1       | 2009                    |
| ICCRI 06 H |              | -                | Tahan         | 2.183               | 1.07                  | 54.3            | 2010                    |
| ICCRI 7    |              | SC               | -             | 1.903               | 0.8-1.15              | 45.67           | 2012                    |
| Sulawesi 3 |              | SC               | Moderat       | 1.837               | 0.75-078              | 49.6-50.9       | 2012                    |
| MCC 01     |              | SC               | Tahan         | 3.672               | 1.75                  | 49.6            | 2014                    |
| MCC 02     |              | SC               | Tahan         | 3.132               | 1.61                  | 49.2            | 2014                    |

Sumber: Kumpulan SK Pelepasan varietas kakao, Direktorat Jendral Perkebunan, 2014;

Keterangan: 1) Minimol & Prasannakumari, 2013

Source: Selection of Cacao Variety Release, Directorate General of Eestate Crops, , 2014;

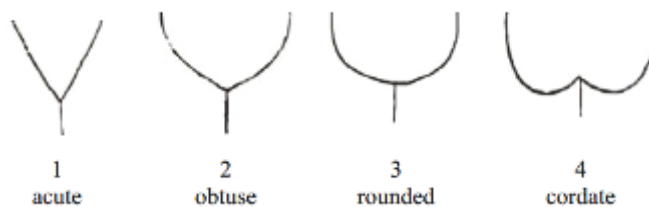
Note: 1) Minimol & Prasannakumari, 2013

## SELEKSI CALON VARIETAS UNGGUL BERDASARKAN KARAKTER MORFOLOGI, PRODUKSI, DAN KETAHANAN

Seleksi calon varietas unggul harapan dilakukan sejak tanaman di pembibitan sampai tanaman di tanam di lapang. Waktu pemuliaan yang cukup lama membutuhkan berbagai pendekatan seleksi. Pengamatan biokimia dapat dikorelasikan dengan pengamatan karakter morfologi, produksi, dan ketahanan penyakit.

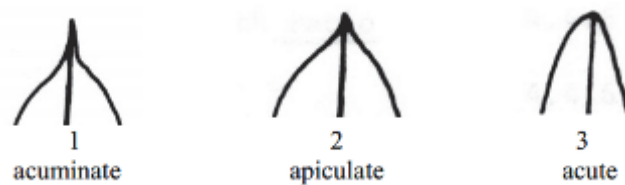
## PENGAMATAN MORFOLOGI

Pengamatan morfologi dilakukan baik karakter kuantitatif maupun kualitatif. dilakukan pada bunga (warna antosianin pada tangkai bunga, warna antosianin pada ligula), daun (bentuk dasar daun (Gambar 7), bentuk ujung daun (Gambar 8), warna flush (Gambar 9), batang (warna batang, permukaan batang), buah (bentuk buah (Gambar 10), bentuk leher botol (Gambar 11), bentuk ujung buah kakao (Gambar 12), bentuk alur kulit buah (Gambar 13), warna buah tua (Gambar 14), kedalaman alur kulit buah (Gambar 15), permukaan buah; dan benih (bentuk kotiledon) (Gambar 16) dan warna kotiledon (Gambar 17).



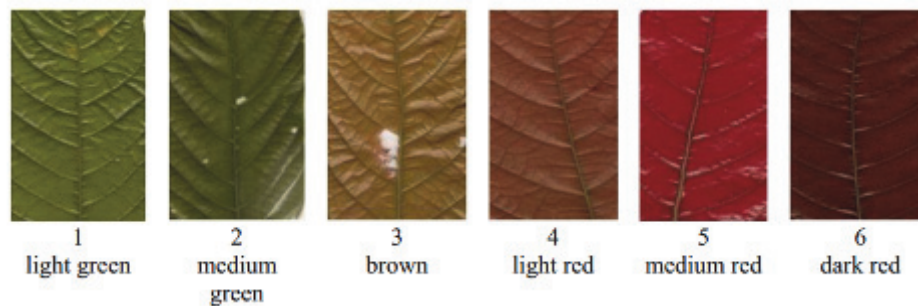
Gambar 7 Bentuk dasar daun (Sumber: UPOV, 2011)

Figure 7 The shape of leaf base (Source: UPOV, 2011)



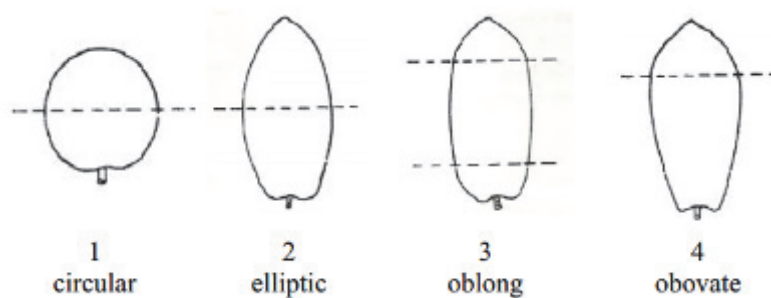
Gambar 8 Bentuk ujung daun (Sumber: UPOV, 2011)

Figure 8 The shape of leaf apex (Sumber: UPOV, 2011)



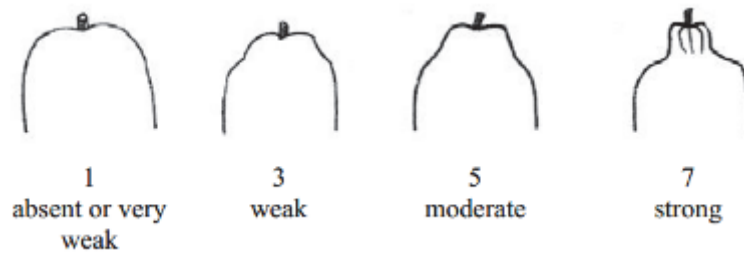
Gambar 9 Warna flush (Sumber: UPOV, 2011)

Figure 9 Flush colour (Sumber: UPOV, 2011)

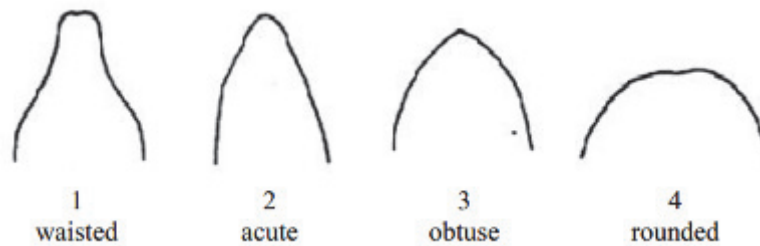


Gambar 10 Bentuk buah kakao (Sumber: UPOV, 2011)

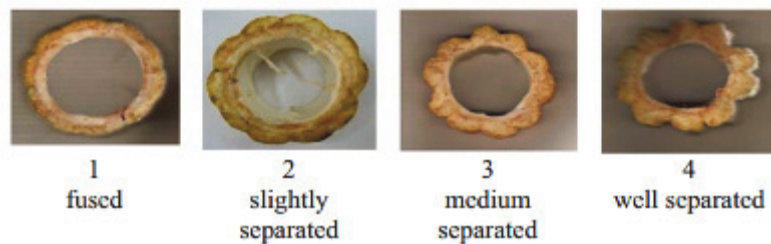
Figure 10 The shape of cacao pod (Sumber: UPOV, 2011)



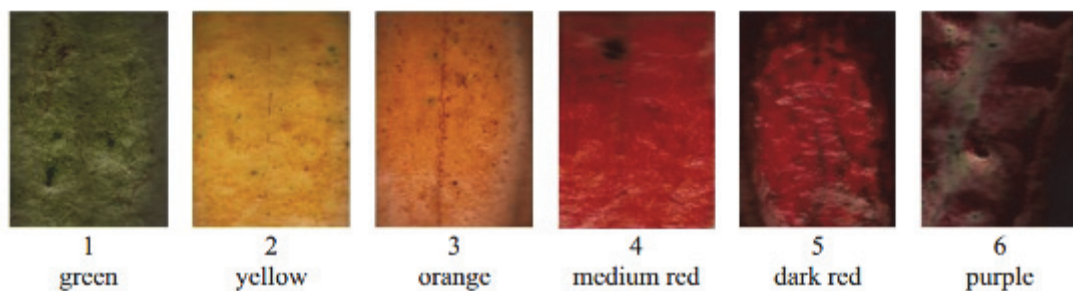
Gambar 11 Bentuk leher Botol (Bentuk Dasar Buah) kakao (Sumber: UPOV, 2011)  
*Figure 11 Bottleneck (basic pod shape) (Source: UPOV, 2011)*



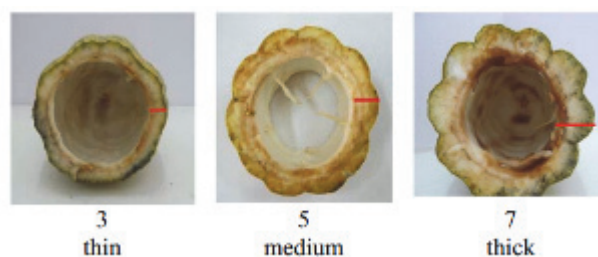
Gambar 12 Bentuk ujung buah kakao (Sumber: UPOV, 2011)  
*Figure 12 Shape of pod's apex (Sumber: UPOV, 2011)*



Gambar 13 Kedalaman alur kulit buah kakao (Sumber: UPOV, 2011)  
*Figure 13 Depth between ridges (Sumber: UPOV, 2011)*



Gambar 14 Warna buah tua kakao (Sumber: UPOV, 2011)  
*Figure 14 Mature pods colour (Sumber: UPOV, 2011)*



Gambar 15 Tipe-tipe ketebalan kulit buah kakao (Sumber: UPOV, 2011)

*Figure 15 Types of exocarp thickness (Sumber: UPOV, 2011)*



Gambar 16 Gambar bentuk biji kakao (Sumber: UPOV, 2011)

*Figure 16 Shapes of cacao beans (Sumber: UPOV, 2011)*



Gambar 17 Warna kotiledon kakao (Sumber: UPOV, 2011)

*Figure 17 (Sumber: UPOV, 2011)*

## MORFOLOGI BUNGA KAKAO

Bunga kakao tumbuh pada bantalan (*cushion*) di batang (*cauliflora*) (Gambar 18A). Bunga kakao memiliki putik palsu yang biasa disebut staminodia. Penyerbukan secara alami terjadi dengan bantuan serangga *Forcipomyia*. Bunga kakao terdiri atas: (a) putik, (b) staminodia, (c) kotak sari, (d) mahkota bunga, (e) kelopak bunga, dan (f) tangkai bunga (Gambar 18B-C).

## TEKNIK PENYERBUKAN BUATAN KAKAO

Teknik persilangan tanaman kakao dimulai dari persiapan alat dan bahan persilangan, pengerodongan bunga tetua betina,

penyerbukan buatan, dan pengamatan hasil persilangan. Teknik persilangan (penyerbukan silang) buatan antar klon kakao dilakukan dengan mengacu pada metode Wood & Lass (2001), Nair (2010) dan Groeneveld, Tschardtke, Moser, & Clough (2010) dengan sedikit modifikasi (Rubiyo, Wardiana & Dani, 2012).

## Persiapan Alat dan Bahan Persilangan

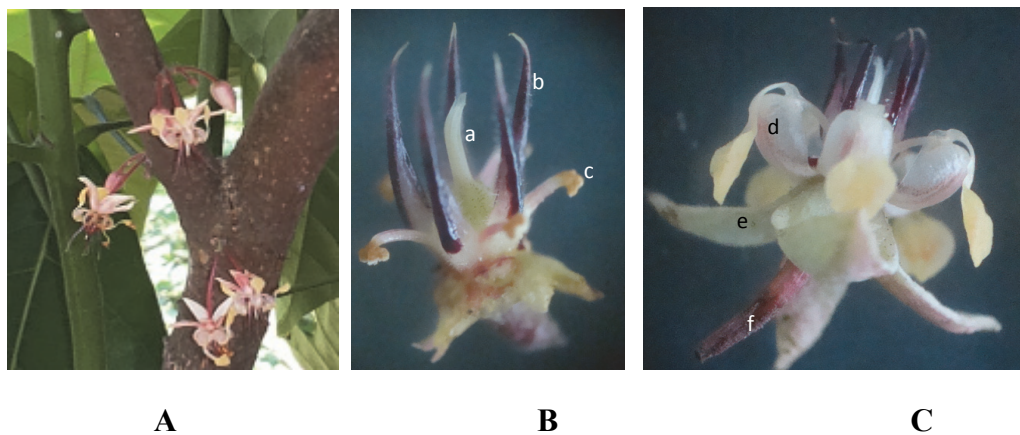
Alat dan bahan persilangan yang digunakan antara lain: kerodong, pinset, cawan petri, plastik label, spidol permanen, panci kecil, kompor spiritus, spiritus, parafin padat, solder, tusuk gigi, karet gelang dan korek gas (Gambar 19). Kerodong terbuat dari pot plastik bening berukuran panjang x diameter = 10 cm x 3 cm yang dilubangi bagian pangkalnya

menggunakan solder dan ditutup dengan kain kasa halus menggunakan perekat lem. Agar kerodong dapat diikat pada batang kakao, maka dibuat dua lubang pada sisi yang berlawanan menggunakan solder yang berfungsi untuk mengikatkan karet gelang.

#### Pengerodongan Bunga Tetua Betina

Sehari sebelum persilangan dilaksanakan, terlebih dahulu perlu ditentukan bunga-bunga dalam kondisi menjelang anthesis pada tetua betina. Ciri bunga yang akan mekar keesokan

harinya adalah pada kuncup bunga terlihat garis pemisah antar kelopak bunga (Gambar 20A). Untuk menghindari terjadinya penyerbukan oleh serangga, maka bunga-bunga tersebut perlu dikerodong menggunakan tabung plastik yang bagian pangkalnya dilubangi dan ditutup dengan kain kasa. Kerodong diikat pada batang/cabang pohon menggunakan karet gelang (Gambar 20B). Celah-celah pada bagian pangkal kerodong yang menempel pada batang ditutup menggunakan parafin padat yang telah dilelehkan supaya mencegah masuknya serangga penyerbuk (Gambar 20C).



Gambar 18 Bunga pada batang (cauliflora) (A) dan morfologi bunga kakao. Bunga tanpa mahkota bunga (B) dan Bunga dengan mahkota bunga (C). Keterangan: (a) putik, (b) staminodia, (c) kotak sari, (d) mahkota bunga, (e) kelopak bunga, dan (f) tangkai bunga (Dok. Foto: Cici Tresniawati)

*Figure 18 Flower on trunk (cauliflora) (A) and flower morphology. Flower without petals (B) and flower with petals (C). Note: (a) pistil, (b) staminodia, (c) anther, (d) petal, (e) sepal, and (f) peduncle (Source: Cici Tresniawati)*



Gambar 19 Alat dan bahan persilangan kakao (Dok. Foto: Cici Tresniawati)  
*Figure 19 Tools and materials for cacao crossings (Source: Cici Tresniawati)*

## Penyerbukan Buatan

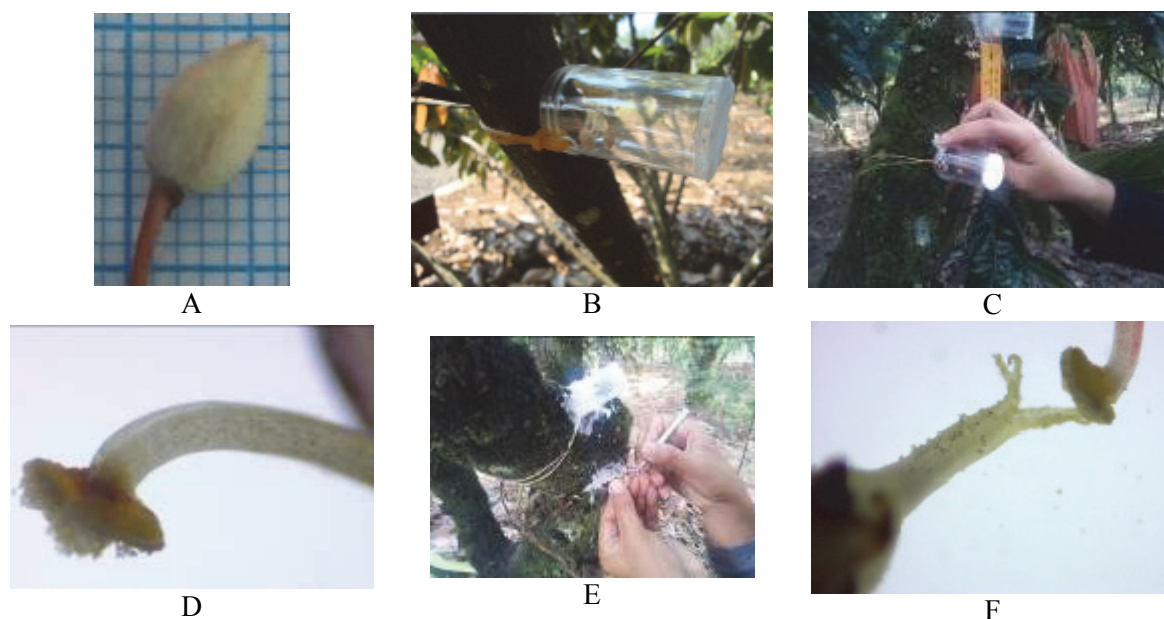
Persilangan kakao dilakukan sesaat setelah bunga mekar mulai jam 02.00–09.00 WIB pada keesokan harinya, yaitu di saat putik dalam kondisi reseptif. Sesaat sebelumnya dilakukan pengumpulan benang sari dari tetua jantan pada wadah cawan petri. Untuk dapat mengambil kotak sari (benang sari) terlebih dahulu harus menghilangkan bagian mahkota bunga berbentuk mangkuk menggunakan pinset. Kotak sari diambil secara hati-hati dari bunga tetua jantan agar kotak sari (anther) yang terletak di bagian ujungnya tidak rusak. Ciri kotak sari berwarna putih atau kuning tergantung jenis klon dan akan berubah menjadi oranye atau cokelat. Apabila kotak sari sudah mulai pecah dan serbuk sarinya siap untuk digunakan menyerbuki bunga pada tetua betina (Gambar 20D). Kotak sari yang sudah berubah warna menjadi kecokelatan menandakan sudah tidak baik untuk digunakan dalam penyerbukan.

Sebelum diserbuki, staminodia bunga pada tetua betina perlu dipotong menggunakan pinset yang ujungnya melengkung agar tidak menutupi kepala putik (Gambar 20E). Penyerbukan dilakukan dengan cara mengoleskan kotak sari pada kepala putik hingga terlihat butiran serbuk sari menempel, secara mikroskopis terlihat pada Gambar 20F. Setelah itu, bunga dikerodong kembali untuk memastikan tidak ada kontaminasi serbuk sari

dari bunga lain yang dibawa serangga. Bunga yang telah di serbuki kemudian diberi label yang memuat informasi kombinasi tetua dan tanggal persilangan dilakukan. Bunga-bunga lain yang sudah mekar dan tidak diserbuki kemudian dihilangkan. Prosedur di atas diulang selama beberapa hari hingga jumlah ulangan yang diperlukan dapat terpenuhi.

## Pengamatan Hasil Persilangan

Minimum 24-48 jam setelah persilangan dilakukan, kerodong dibuka untuk mengidentifikasi apakah penyerbukan buatan berhasil atau tidak. Bunga yang gagal diserbuki akan terlihat layu dan pada akhirnya rontok. Persentase keberhasilan penyerbukan buatan kemudian dihitung dan dicatat dalam log book. Pengamatan dilanjutkan hingga bunga yang berhasil diserbuki berkembang menjadi buah muda berukuran  $\pm 10$  cm (Gambar 20G) untuk mengetahui persentase gugur buah atau dikenal dengan layu pentil (*cherelle wilt*). Gugur buah (*Cherelle wilt*) umumnya terjadi setelah dilakukan persilangan sampai buah berumur 12 minggu. Buah yang layu menjadi hitam, mengering dan tetap menempel di batang pohon (Groeneveld *et al.*, 2010). Keragaan buah hasil persilangan pada umur 3-4 Bulan Setelah Persilangan (BSP) (Gambar 21). Panen buah hasil persilangan dilakukan pada umur 4,5–5 bulan yang dihitung sejak tanggal persilangan.





G

Gambar 20 Tahapan persilangan bunga kakao. Bunga menjelang anthesis atau siap dikerodong (A); Pengerodong bunga betina menggunakan botol plastik (B); Pangkal kerodong yang menempel pada batang ditutup menggunakan parafin yang dilelehkan (C); Kotak sari dilihat secara mikroskopis pada perbesaran 60x (D); penyerbukan menggunakan pinset (E); Pengolesan kotak sari pada putik dilihat secara mikroskopis (pada perbesaran 60x) (F); Botol kerodong plastik yang ditutup parafin (G). (Dok. Foto: Cici Tresniawati dan Nurkholilatul Izzah )

*Figure 20 Steps in cacao flower crossings. Flower prior to anthesis phase or ready to bagged (A); Female flower bagging using plastic bottle (B); The base of bagging, in which attached to the trunk, were covered by melted paraffin (C); Anther under microscopic zooming 60x (D); Pollination on pistil under microscopic zooming 60x (F); Plastic bagging covered by paraffin (G). (Source: Cici Tresniawati dan Nurkholilatul Izzah )*



Gambar 21 Keragaan buah hasil persilangan pada umur 3-4 Bulan Setelah Persilangan (Dok: Cici Tresniawati)

*Figure 21 Performance of crossed pods at 3-4 months after crossings (Source: Cici Tresniawati)*

Apabila dibandingkan dengan penyerbukan alami, penyerbukan buatan menggunakan tangan (hand pollination) terbukti dapat meningkatkan pembentukan bakal buah (*cherelle*) tetapi tidak meningkatkan jumlah buah masak panen karena kejadian layu pentil (*cherelle wilt*) lebih tinggi (Valle, de Almeida & Leite, 1990). Fenomena layu pentil merupakan faktor fisiologis penting bagi tanaman kakao dalam rangka mengatur jumlah buah per pohon hingga tanaman dapat menyimpan sumberdaya yang cukup untuk pembentukan buah dan pertumbuhan vegetatif pada periode berikutnya (Adjaloo, Oduro, & Banful, 2012).

Buah muda yang terbentuk pada bulan pertama belum menjamin hasil yang diperoleh. Sebagian besar buah muda tersebut akan layu dan mati dalam kurun 1-2 bulan. Perubahan ini lazim disebut dengan layu pentil (*cherelle wilt*). Ada dua faktor utama penyebab matinya buah muda. 1) faktor lingkungan, seperti kekurangan air, drainase buruk, tanah miskin unsur hara, serta serangan hama dan penyakit atau patogenis dan 2) faktor dalam atau fisiologis, seperti kantong lembaga tidak normal atau berkas pengangkut di dalam pentil kakao belum terbentuk dan tidak berfungsi dengan baik, walaupun layu pentil kakao mengering dan tetap menempel pada cabang atau batang. Layu

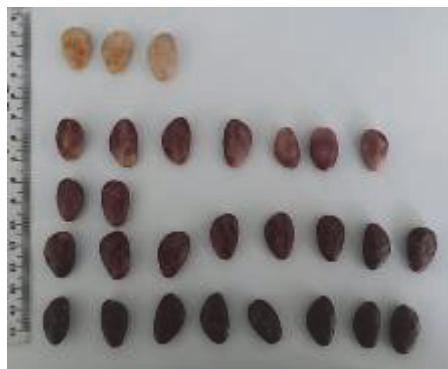
pentil kakao merupakan penyakit fisiologis dan khas pada tanaman kakao, angkanya mencapai 60-90% dan berlangsung pada umur 0-70 hari. Kekurangan hormon pada tahap perkembangan buah, karena hormon tersebut mengatur pengambilan air dan nutrisi.

Hasil persilangan antara klon kakao ICCRI 03 x Sulawesi 1 menghasilkan keragaman pada karakter warna nib (kotiledon) kakao. Buah dipanen lima bulan setelah persilangan buatan. Pulp dihilangkan dengan menggunakan abu gosok, kulit ari biji dikupas untuk mendapatkan nib (kotiledon). Setelah dikupas diketahui terdapat keragaman warna nib, yaitu putih, *pale*, dan ungu (Gambar 22). Dari satu buah kakao yang berhasil dipanen dan didapatkan 44 biji kakao. Persentase biji yang berwarna putih 18%, ungu 45,45%, dan *pale* 36,36%. Suatu aksesori kakao dikategorikan ke dalam kakao mulia jika persentase biji putih minimal 85%.

Keragaman warna biji kakao disebabkan oleh faktor genetik. Jika melihat sejarah pelepasan varietas dapat diketahui bahwa salah satu tetua yaitu ICCRI 03 merupakan klon kakao hasil persilangan antara DR 2 x SCA 12. DR 2 adalah kakao tipe mulia yang memiliki warna biji putih. Sedangkan SCA 12 adalah

kakao lindak yang memiliki biji berwarna ungu. Pada persilangan ini terjadi segregasi, dan beberapa hibrida DR 2 x SCA 12 membawa sifat warna biji putih. Klon Sulawesi 1 merupakan hasil seleksi yang dilakukan pada populasi kakao hibrida di Sulawesi Tenggara, yaitu pada populasi tanaman kakao yang karakter morfologinya mirip dengan klon Prang Besar Clone 123 (PBC 123) yang merupakan klon introduksi dari Malaysia (McMohan et al, 2015).

Panen buah dilakukan pada buah yang dapat bertahan hidup sampai 5 bulan setelah persilangan. Keberhasilan bunga menjadi buah dipengaruhi oleh beberapa hal sebagai berikut: 1) jumlah bunga yang tumbuh, 2) persentase bunga yang diserbuki, 3) persentase bunga yang dibuahi, dan 4) persentase buah muda yang mampu berkembang sampai masak. Buah yang telah dipanen dikupas dan benihnya dibersihkan untuk segera ditanam, karena benih kakao bersifat rekalsitran. Benih dikecambahkan dalam media pasir dan pupuk kandang selama satu bulan setelah memiliki daun pertama yang tumbuh sempurna (Gambar 23), kecambah dipindahkan kedalam polybag.



(A)



(B)

Gambar 22 Keragaman warna biji (A) dan buah (B) kakao hasil persilangan klon kakao ICCRI 03 x Sulawesi 1. (Dok.Foto: Cici Tresniawati)

*Figure 22. Performance of seed colour (A) and pod (B) of cacao clones ICCRI 03 clones with Sulawesi 1. (Source: Cici Tresniawati)*



Gambar 23 Kecambah normal kakao lindak hasil persilangan (Dok.Foto: Cici Tresniawati)  
 Figure 23. Germinated crossed normal fine cacao. (Source: Cici Tresniawati)

### EVALUASI KOMPONEN PRODUKSI

Produktivitas kakao dilihat dari daya hasil dan komponen mutu biji. Daya hasil sebagai komponen utama penilaian keunggulan bahan tanam kakao yang akan dilepas. Data daya hasil dihitung berdasarkan pada jumlah buah dan komponen daya hasil yaitu jumlah biji per buah dan bobot per biji kering. Pengamatan jumlah buah dilakukan setiap interval waktu satu bulan selama kurun waktu pengamatan. Karakter mutu hasil terdiri atas bobot kering per satu biji kakao, rendemen biji, berat 100 biji kering, kadar kulit biji (%), jumlah biji per 100 g, bobot 100 biji kering, dan kadar lemak (%). Indeks buah/ nilai buah (*pod index*) menggambarkan jumlah buah yang diperlukan untuk menghasilkan 1 kg biji kering kakao (Susilo, Mawardi, & Sudarsianto, 2009). Sedangkan rendemen biji adalah persentase perubahan berat biji basah dengan daging buahnya (pulp) menjadi berat biji kering tanpa daging buah siap dipasarkan pada kadar air  $\pm$  6%. Menurut Standar Nasional Indonesia (SNI) 01-2323-2002 (SNI, 2002), spesifikasi persyaratan mutu biji kakao berdasarkan jumlah biji per 100 g, mutu kakao dikelompokkan menjadi 5 tingkat seperti yang tertera pada Tabel 3. 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 ( $\leq 52,2\%$ ).

Tabel 3 Mutu biji kakao atas dasar jumlah biji per 100 g.

Table 3. *Quality of cacao seeds based on beans number per 100g.*

| Ukuran | Jumlah biji tiap 100 g |
|--------|------------------------|
| AA     | Maks. 85               |
| A      | 86 – 100               |
| B      | 101 – 110              |
| C      | 111 – 120              |
| S      | $> 120$                |

Sumber: SNI, 2002

Source: SNI, 2002

### EVALUASI RESPONS KETAHANAN VSD

Pengujian ketahanan terhadap VSD dilakukan di daerah endemik mengingat belum ditemukan metode yang efektif dalam mengisolasi jamur *C. theobromae*. Evaluasi respons ketahanan dapat dilakukan pada bibit dan tanaman menghasilkan (TM). Pada bibit, bahan tanaman yang berupa bibit sambung pucuk (*top grafting*) dari klon yang sedang diuji diletakkan di bawah tanaman yang terserang berat VSD. Dilakukan skoring sesuai Tabel 4 untuk mengetahui tingkat serangan VSD pada bibit.

Evaluasi respons ketahanan VSD dilakukan saat kondisi tanaman berumur 7 tahun setelah tanaman di daerah endemik. Respons ketahanan tanaman terhadap VSD dilakukan berdasarkan skor kerusakan tanaman (Tabel 6) yang disusun berdasarkan variasi tingkat kerusakan tanaman di lapang.

Pengamatan skor kerusakan tanaman tersebut dilakukan saat musim kemarau, saat gejala serangan VSD terlihat secara jelas. Dilakukan pengelompokan kelas ketahanan tanaman menjadi dua, yaitu klon tahan skor 1-3 dan klon rentan skor 4-6 (Susilo & Anita-Sari, 2011)

Tabel 4 Skor kerusakan bibit kakao akibat serangan VSD

Table 4. Damage level of cacao seeds affected by VSD

| Skor | Gejala kerusakan tanaman |
|------|--------------------------|
| 0    | sehat                    |
| 1    | Sangat ringan            |
| 2    | Ringan                   |
| 3    | Sedang                   |
| 4    | Agak berat               |
| 5    | Berat                    |
| 6    | Sangat berat             |

Sumber: Halimah & Sri Sukamto, 2007

Source: Halimah & Sri Sukamto, 2007

Berdasarkan nilai skor tersebut dilakukan penghitungan intensitas penyakit (IP) menurut Campbell & Neher (1994) Cited in Halimah & Sri-Sukamto (2007). Rumus perhitungan IP sebagai berikut:

$$IP = \frac{\sum n_i \cdot v_i}{N \times Z} \times 100\%$$

Keterangan:

IP = Intensitas Penyakit

$n_i$  = jumlah tanaman terserang dalam kategori skor ( $v$ )

$v_i$  = skor pada setiap kategori penyakit

$N$  = jumlah seluruh tanaman yang diamati

$Z$  = skor untuk serangan terberat

Berdasarkan nilai IP ditentukan kategori ketahanan pada fase bibit (tanaman belum menghasilkan) seperti pada Tabel 5.

Tabel 5 Pengelompokan ketahanan terhadap VSD

Table 5. Classification of VSD resistant

| Kategori    | % Intensitas Penyakit |
|-------------|-----------------------|
| Tahan       | 0-30                  |
| Agak tahan  | 31-50                 |
| Sedang      | 51-65                 |
| Agak rentan | 66-80                 |
| Rentan      | 81-100                |

Sumber: Halimah & Sri Sukamto, 2007

Source: Halimah & Sri Sukanto, 2007

Tabel 6 Skor kerusakan tanaman kakao akibat serangan VSD untuk evaluasi ketahanan tanaman di lapang

Table 6 Damage level of cacao plants affected by VSD to evaluate plant resistance in field

| Skor | Gejala kerusakan tanaman                                                                                                                                              |
|------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 0    | Tanaman sehat, tidak ditemukan gejala serangan VSD                                                                                                                    |
| 1    | <25% ranting tanaman terinfeksi VSD namun tanaman vigor/ jagur atau tidak tampak gejala penurunan produksi tanaman                                                    |
| 2    | 25-<50% ranting tanaman terinfeksi VSD, dan serangan mulai berdampak pada penurunan vigor tanaman namun belum menyebabkan penurunan produksi tanaman secara nyata     |
| 3    | 50-<75% ranting tanaman telah terinfeksi VSD, dan serangan telah menyebabkan penurunan vigor dan tingkat produksi tanaman meskipun relatif kecil                      |
| 4    | >75% ranting tanaman telah terinfeksi VSD, serangan mulai berdampak pada penurunan vigor dan tingkat produksi tanaman                                                 |
| 5    | Sebagian besar ranting telah terinfeksi VSD dan menyebabkan kerusakan cabang-cabang tanaman sehingga terjadi penurunan vigor tumbuh tanaman dan produksi secara nyata |
| 6    | Tanaman rusak berat bahkan sebagian ada yang sudah mati                                                                                                               |

Sumber: Susilo & Anita-Sari, 2011

Source: Susilo & Anita-Sari, 2011

Tabel 7 Beberapa karakter penciri klon kakao tahan dan klon rentan terhadap serangan penyakit VSD

Table 7. Characteristics determining resistant and susceptible clones toward VSD

| Karakter                                                                  | Klon Tahan  | Klon Rentan      |
|---------------------------------------------------------------------------|-------------|------------------|
| Deteksi metabolit sekunder pinene, decane, myrcene, dan asam oktadekanoid | terdeteksi  | Tidak terdeteksi |
| Jumlah stomata/0.69 mm <sup>2</sup>                                       | 107.2-163.8 | 191.6-221.8      |
| Ukuran stomata                                                            | kecil       | Besar            |
| Lebar celah stomata                                                       | 5.7-7.0     | 7.8-9.2          |
| Aktivitas kitinase (unit/mg protein)                                      | 2,5         | 1                |
| Aktivitas peroksidase                                                     | sama        | Sama             |

Sumber: Prawoto, Santoso, Marifah, Hartanto, & Sutikno, 2013

Source: Prawoto, Santoso, Marifah, Hartanto, & Sutikno, 2013

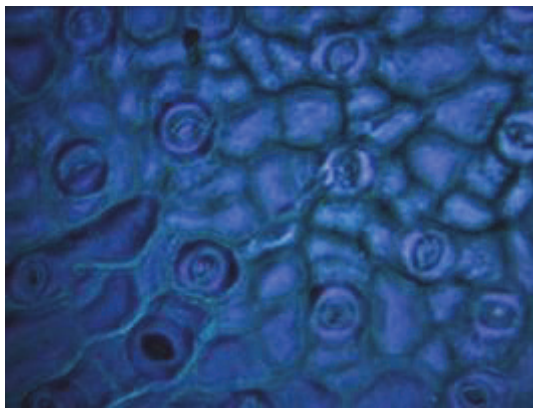
### Pengamatan stomata daun

Dengan pendekatan korelasi antar karakter morfologi daun, biokimia, dan pemanfaatan biologi molekuler menjadikan pemuliaan tanaman kakao menjadi lebih efisien dan efektif. Karakter morfologi daun khususnya stomata daun (Gambar 24) dapat menjadi indikator ketahanan terhadap penyakit VSD (Tabel 7). Klon kakao dengan kerapatan jumlah stomata yang sedikit dan berukuran kecil dan lebar bukaan stomata sempit menunjukkan klon kakao tersebut merupakan klon tahan VSD.

Berikut adalah teknis pengambilan stomata:

1. Pengambilan stomata daun kakao dilakukan antara pukul 09.00-10.00 WIB
2. Daun dibersihkan menggunakan tisu basah.

3. Cairan pewarna kuku (kuteks) bening dioleskan pada bagian bawah daun, biarkan selama 10 menit hingga kuteks kering.
4. Lapisan tipis kuteks yang telah mengering ditarik menggunakan pinset secara hati hati, lalu diletakkan diatas objek glas dan ditutup dengan gelas penutup.
5. Sampel diamati menggunakan mikroskop compound (Zeiss Plan-Achromat) pada pembesaran 40 x.
6. Jumlah stomata dihitung pada bidang pandang 110 x 80  $\mu$ m<sup>2</sup>.



Gambar 24 Keragaan stomata (pada perbesaran 1.000x) (Dok. Foto: Cici Tresniawati)

Figure 24. Performance of stomata (zoomed 1000x) (Source: Cici Tresniawati)

## PENUTUP

Perakitan varietas unggul baru kakao membutuhkan waktu yang lama oleh sebab itu diperlukan teknik-teknik yang dapat memperpendek alur pemuliaan tanaman. Teknik molekuler dapat dipadukan dengan persilangan. Keberhasilan persilangan sangat ditentukan oleh pemilihan tetua persilangan. Namun demikian telah diperoleh beberapa hibrida-hibrida unggul harapan kakao dengan berdasarkan karakter-karakter pengujian ketahanan pada tahap awal, dan pengujian akan dilanjutkan ke tahap berikutnya untuk mendapatkan varietas unggul baru tahan VSD dan berproduksi tinggi. Hibrida-hibrida keturunan ICCRI 03 x SCA 6 menunjukkan variasi pada beberapa karakter. Flush berwarna merah dan cokelat; bentuk daun oblong dan lanset. Warna buah hijau, merah cerah, dan ungu. Warna kuncup bunga merah muda, merah, dan putih. Warna buah muda hijau.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adjaloo, M.K., Oduro, W., & Banful, B.K. (2012). Floral Phenology of Upper Amazon Cocoa Trees: Implications for Reproduction and Productivity of Cocoa. *ISRN Agronomy*, vol. 2012, Article ID 461674, 8 pages. doi:10.5402/2012/461674.
- 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. *Seminar Nasional Insentif Riset Sinas*. Bandung 29—30 November 2016, p 12—16.
- Cunniffe N.J., Koskella, B., Jessica, C., Metcalf, E., Parnell, S., Gottwald, T.R., & Gilingan, C.A. (2015). Thirteen challenges in modelling plant disease. *Epidemics* 10, 6—10.
- Direktorat Jendral Perkebunan. (2014). Kumpulan SK Menteri Pertanian tentang Pelepasan Varietas Tanaman Kakao. Subdit Penilaian Varietas dan Pengawasan Mutu Benih. Direktorat Perbenihan dan sarana Produksi. Jakarta.
- Farrant, J.M., Pamenter, N.W., & Berjak, P. (1988). Recalcitrant a current assesment. *Seed Science and Technology* 16, 155-166.
- Groeneveld, J.H., Tschardtke, T., Moser, G., & Clough, Y. (2010). Experimental evidence for stronger cacao yield limitation by pollination than by plant resources. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 12, 183—191.
- Guest, D., & Keane, P. (2007). Vascular-Streak Dieback: A New Encounter Disease of Cacao in Papua New Guinea and Southeast Asia Caused by the Obligate Basidiomycetes *Oncobasidium theobromae*. *Phytopathology* 97, 1654-1657.
- Halimah & Sri-Sukanto. (2007). Intensitas Penyakit Vascular Streak Dieback pada Sejumlah Klon Kakao Koleksi Pusat Penelitian Kopi dan kakao Indonesia. *Pelita Perkebunan*, 23(2), 118-128.
- Karmawati, E., Mahmud, Z., Syakir, M., Munarso, J., Ardana, K., & Rubiyo. (2010). Budidaya dan Pasca Panen Kakao (p.92). Bogor: Badan litbang Pertanian.
- Keane, P.J., & Prior, C. (1992). Biology of vascular streak dieback of cocoa. Di dalam : Keane, P.J., & Putter C.A.J., editor. *Cocoa Pest and Disease Management in Southeast Asia and Australasia* Vol. 110-112. Roma (ITA): FAO. Hlm 75-84

- Keane, P.J. (1981). Epidemiology of vascular-streak dieback of cocoa. *Ann appl Biol.* 98, 221-241.
- Keane, P.J. (1992). Disease and pest of cocoa: an overview: Keane, P.J., & Putter, C.A.J, editor. *Cocoa Pest and Disease Management in Southeast Asia and Australasia* Vol. 110-112. Roma (ITA): FAO. Hlm 1-11
- Keane, P.J. (2001). Biology and control of vascular streak dieback of cocoa. *Warta Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia* 17, 78-90.
- Khaerati. (2015). Faktor Ekologi dan Teknik Budidaya yang Berkaitan dengan Epidemi Penyakit Vascular Streak Dieback (VSD) pada Tanaman Kakao (Tesis. Institut Pertanian Bogor. Bogor)
- Khan, N., Motilal, L.A., Sukha, D.A., Bekele, F.L., Iwaro, A.D., Bidaisee, G.G., Umaharan, P., Grierson, L.H., & Zhang, D. (2008). Variability of butter fat 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
- Komisi Kakao Nasional. (2006). Direktori dan Revitalisasi Agribisnis Kakao Indonesia. Dalam Menghadapi Era Globalisasi. Jakarta: Departemen Pertanian.
- Mawardi, S. (1982). 1912-1981: Tujuh puluh tahun pemuliaan tanaman coklat di Indonesia. *Menara Perkebunan*, 50 (1), 17-22.
- McMahon, P., Purung, H., Lambert, S., Mulia, S., Nurlaila, Susilo, A.W., Sulistyowati, E., Sukanto, S., Israel, M., Saftar, A., Amir, A., Purwantara, A., Iswanto, A., Guest, D., & Keane, P.J. (2015). Testing local cocoa selections in three provinces in Sulawesi: (i) Productivity and resistance to cocoa pod borer and *Phytophthora podrot* (black pod). *Crop Protection* 70, 28-39
- McMohan, P., & Purwantara, A. (2016). Vascular streak dieback (*Ceratobasidium theobromae*): History and Biologi. In B.A. Bailey & L.W. Meinhardt (Eds.) *Cacao Diseases. A History of Old Enemies and New Encounters*. (Eds). Springer.
- Minimol, J. S., & Prasannakumari, A. S. (2013). Self incompatibility assessment in vascular streak dieback (VSD) disease resistant hybrids of cocoa (*Theobroma cacao* L.). *The asian Journal of Horticulture*, 8(1), 114-117.
- Monteiro, W.R., Lopez, U.V., & Clement, D. (2009). Genetic Improvement in Cocoa. In S.M. Jain & D. Priyadarshan (Eds.), *Breeding Plantation Tree Crops: Tropical Species*. (pp.589-626). New York: Springer.
- Nair, K.P.P. (2010). *The Agronomy and Economy of Important Tree Crops of the Developing World*. Elsevier.
- Prawoto, A. A., Santoso, T. I., Marifah, Hartanto, L., & Sutikno. (2013). Terpene Profile, Leaf Anatomy, and Enzyme Activity of Resistant and Susceptible Cocoa Clones to Vascular Streak Dieback Disease. *Pelita Perkebunan*, 29 (3), 197-209.
- Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia [PPKKI]. (2012). 100 Tahun Pusat Penelitian Kopi dan kakao Indonesia 1911-2011. Pusat Penelitian Kopi dan kakao Indonesia.
- Rosmana, A. (2005). Vascular streak dieback (VSD): Penyakit baru pada tanaman kakao di Sulawesi. In *Prosiding Seminar Ilmiah dan Pertemuan Tahunan PEI dan PFI XVI Komda SULSEL*.
- Rubiyo, Wardiana, E., & Dani. (2012). Teknik Persilangan kakao (*Theobroma cacao* L.) secara konvensional. Sirkuler Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar. Sukabumi: Balittri.
- Samuels, G.J., Ismaiel, A., Rosmana, A., Junaid, A., Guest, D., McMahon, P., Keane, P., Purwantara, A., Lambert, S., Rodriguez-Carres, M., & Cubeta, M.A. (2011). Vascular Streak Dieback of Cacao in Southeast Asia and Melanesia: In *Planta Detection of the Pathogen and A New Taxonomy*. *Fungal Biology* 116: 11-23.

- Standar Nasional Indonesia [SNI]. (2002). Biji Kakao. [SNI 01-2323-2002]. Badan Standar Nasional.
- 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 Peripi Komda Jawa Timur, Malang 3 Juni 2009. Kontribusi Pemuliaan dalam Antisipasi Masalah Akibat Fenomena Pemanasan Global. Perhimpunan Ilmu Pemuliaan Tanaman. Komisariat Jawa Timur.
- Susilo, A.W., & Anita-Sari, I. (2011). Respon ketahanan beberapa hibrida kakao (*Theobroma cacao* L.) terhadap serangan penyakit pembuluh kayu (Vascular-streak Dieback). *Pelita Perkebunan*, 27(2), 77-87.
- Susilo, A.W., Mawardi, S., & Sudarsianto. (2009). Keragaan daya hasil klon kakao (*Theobroma cacao* L.) Sca 6 dan DRC 15, tahan penyakit pembuluh kayu. *Pelita Perkebunan*, 25, 76-87.
- Syukur, M., Sujiprihati, S., & Yuniarti, R. (2010). Teknik Pemuliaan Tanaman. Jakarta: Penebar Swadaya.
- UPOV [INTERNATIONAL UNION FOR THE PROTECTION OF NEW VARIETIES OF PLANTS]. (2011). TG - Project *Theobroma cacao* L – Draft 4. Geneva. Rietrieved from [www.upov.int](http://www.upov.int)
- Valle, R.R., De Almeida, A.-A.F., & Leite, R.M.O. (1990). Energy cost of flowering, fruiting, and cherelle wilt in cacao. *Tree physiology*, 6, 329-336.
- Winarno, H., & Suhendi, D. (2010). Bahan tanam Kakao. Dalam Buku Pintar Budidaya kakao. Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia. Agromedia. Jakarta.
- Wood, G.A.R., & Lass, R.A. (2001). Cocoa. Tropical agriculture series (4ed). Oxford: Blackwell Science.
- 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, 1481-149.