

UJI PATOGENISITAS BEBERAPA ISOLAT PENYAKIT BUSUK BUAH KAKAO ASAL ACEH DAN EVALUASI EFEKTIVITAS METODE INOKULASI

Pathogenicity Test Isolate Some Black Pod Diseases of Cocoa Aceh and Evaluation of the Effectiveness of Inoculation Methods

Siti Hafsah dan Zuyasna

Staf Pengajar Prodi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

ABSTRAK

Eksplorasi dan Penapisan Genotipe Kakao Plasma Nutfah Aceh untuk Memperoleh Genotipe Kakao Tahan Penyakit Busuk Buah, merupakan penelitian dasar untuk mendapatkan informasi metode yang efektif dalam melakukan seleksi untuk memperoleh tanaman kakao tahan terhadap penyakit busuk buah. Tujuan penelitian pada tahun pertama ini adalah diperoleh sumber inokulum yang memiliki tingkat patogenisitas yang tinggi, diperoleh metode inokulasi yang efektif, adanya korelasi positif antara tingkat ketahanan di lapangan dan dilaboratorium. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari hasil uji patogenisitas asal inokulum yang diperoleh dari buah yang bergejala dilapangan, hamper seluruhnya menunjukkan tingkat patogenesitas yang tinggi. Metode inokulasi buatan yang efektif adalah dengan cara melukai dan menempel baik di daun maupun dibuah. Namun metode inokulasi untuk memperoleh genotype yang tahan pada buah adalah dengan menempelkan potongan inokulum tanpa dilukai.

Kata kunci: Eksplorasi, penapisan, kakao, plasma nutfah, patogenisitas

ABSTRACT

Exploration and Screening Genotypes Aceh Cocoa Germplasm Resistant to Acquire Genotype Cocoa Black Pod Disease, is a basic research to obtain information effective method of selecting to obtain cocoa plants resistant to fruit rot disease. The purpose of this study is the first year that has acquired a source of inoculum levels are high pathogenicity, obtained an effective inoculation method, a positive correlation between the level of resistance in the field and laboratory. The results showed that the origin of the inoculum pathogenicity test results obtained from symptomatic fruit in the field, almost entirely showed a high degree of pathogenicity. Effective method of artificial inoculation is to hurt and stuck both in leaf and pod. However, inoculation method for obtaining genotypes resistant to the fruit is by gluing pieces of inoculum unharmed.

Key words : Exploration, screening, cocoa, germplasm, pathogenicity

PENDAHULUAN

Kakao (*Theobroma cacao* L) merupakan salah satu komoditas perkebunan dan perdagangan serta sumber penerimaan devisa Negara yang cukup penting di Indonesia. Namun produktivitas kakao di Indonesia masih rendah, hanya mencapai 900 kg ha⁻¹ tahun⁻¹, masih jauh dibawah potensi produktivitas kakao 2 ton ha⁻¹ tahun⁻¹ (Ditjen Perkebunan 2006). Salah satu faktor masih rendahnya produksi kakao di Indonesia disebabkan adanya serangan penyakit pada tanaman kakao.

Dalam usaha penganggulangan penyakit tidak hanya memperhatikan patogennya saja, tetapi juga lingkungan dan tanaman inangnya. Penyakit penting pada tanaman kakao di Indonesia antara lain, penyakit busuk buah (*Phytophthora palmivora*) dan penyakit Vascular Streak Dieback (VSD) (*Oncobasidium theobromae*) (Susilo 2007).

Strategi pengendalian penyakit busuk buah diarahkan melalui penggunaan bahan tanam tahan serta teknologi pengendalian yang efektif, murah dan ramah lingkungan. Bahan tanam tahan merupakan metode pengendalian yang efektif dalam mengen-

dalikan penyakit tanaman dan ramah lingkungan (Panda & Kush 1995).

Metode seleksi yang akan dilakukan merujuk dari beberapa hasil peneliti seleksi kakao tahan penyakit busuk buah yang disebabkan oleh *Phytothora* baik itu dilakukan dilapangan maupun pada fase pembibitan di rumah kaca. Efombagn *et al* (2007) berhasil menemukan kakao tahan terhadap penyakit busuk buah yang disebabkan *Phytophthora* di Cameroon dengan melakukan seleksi dilapangan bersama petani kakao. Selanjutnya Nyadanu *et al.* (2009) telah mencoba enam metode penapisan yang digunakan untuk menyeleksi kakao tahan terhadap penyakit busuk buah, tiga metode seleksi pada daun dan tiga metode pada buah kakao.

Penelitian yang dilakukan bertujuan untuk mengembangkan konsep pemuliaan kakao dalam upaya mendapatkan genotipe tahan terhadap penyakit busuk buah. Sebagai tahap awal untuk mencapai tujuan tersebut, dalam penelitian ini ditempuh langkah-langkah sebagai berikut: mengidentifikasi patogen penyebab busuk buah kakao dan mendapatkan metode penapisan yang efisien untuk penentuan derajat ketahanan terhadap penyakit busuk buah kakao.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan selama 10 bulan. Studi patogen penyebab busuk buah, metode inokulasi dilakukan di Laboratorium Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Syiah Kuala Banda Aceh.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah koleksi isolat busuk buah yang berasal dari buah kakao yang terserang dari daerah endemik. Sampel buah kakao dan daun kakao. Media Potato Dextro Agar (PDA), V8, antibiotik, NaOCl 2 %, alkohol 70%, Air steril, Blue ice, spirtus, kertas wrap, alumunium foil, kapas steril, tissue, polybag, kompos, plastik transparan, cartridge, label.

Alat yang digunakan dalam penelitian antara lain, Cool Box, Petridish,

Erlenmeyer, Tabung reaksi, Kotak plastik segi empat, Rak besi, Autoclaf, lampu spirtus, tangga, jarum inokulasi, jarum isolasi, Mikroskop, Buku identifikasi cendawan, rumah naungan, pipa air, peralatan kerja dilapangan, kuas kecil, Thermometer digital, hygrometer, loupe, tustel digital, Hand sprayer kecil, Hand counter, Stop watch dan alat tulis.

Koleksi isolat

Isolat penyebab busuk buah kakao dikumpulkan dari tiga lokasi kebun kakao rakyat pada tiga Kabupaten di Aceh (Aceh Timur, Pidie dan Aceh Besar)

Identifikasi Patogen Penyebab busuk buah kakao

Identifikasi patogen dilakukan menggunakan pedoman Barnet & Hunter (1972) dan Kulshrestha *et al.* (1976), yaitu melalui pengamatan morfologi konidia, seta dan aservulus. Pengamatan morfologi dilakukan terhadap biakan murni maupun tanda penyakit pada buah kakao yang terserang kemudian dilakukan Postulat Koch yaitu dengan menularkan ke buah kakao yang sehat sampai menunjukkan gejala yang sama. Biakan murni diperoleh dengan cara mengisolasi patogen dari buah yang bergejala pada media agar dan V8, yang kemudian media murni tersebut akan digunakan untuk keperluan identifikasi dan pengujian pembandingan dengan sumber isolate yang diperbanyak pada buah kakao.

Uji Patogenisitas Patogen Penyebab Busuk Buah Kakao (*Phytophthora palmivora*)

Sumber inokulum yang berhasil dikoleksi dari lapang ditularkan ke buah yang sehat setelah menunjukkan gejala di gunakan dalam uji patogenisitas menggunakan metode suntik (dilukai) pada buah kakao lalu ditempel biakan dari kulit buah kakao yang telah bergejala. Pengambilan sumber inokulum menggunakan *cork bore* dengan diameter 0.4 cm (kepadatan spora setara 10^6), cara mengambilnya adalah pada batas jaringan yang sakit dan yang sehat. Buah kakao yang digunakan pada uji patogenisitas adalah genotipe yang rentan. Buah kakao yang digunakan dalam pengujian terlebih dahulu diberi perlakuan sterilisasi.

Permukaan buah direndam dalam NaOCl 2 % selama lima menit kemudian dibilas dengan air steril. Titik inokulasi pada permukaan buah dibuat sebanyak tiga titik tiap buah. Selanjutnya buah yang telah diinokulasi diletakkan pada bak plastik dan ditutup dengan plastik transparan. Pada keempat sudut bak diletakkan kapas basah untuk menjaga kelembaban, selanjutnya bak plastik diinkubasi pada suhu kamar.

Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan beberapa isolat sebagai perlakuan. Masing – masing isolat diulang sebanyak tiga kali. Peubah yang diamati adalah : 1. Kemunculan, pengamatan dilakukan setiap hari setelah inokulasi dengan melihat gejala khas busuk buah kakao, 2. Rata-rata masa inkubasi: yaitu rata-rata periode hari setelah diinokulasi sampai munculnya gejala, 3. Rata-rata diameter gejala: diameter gejala diukur pada tujuh hari setelah inokulasi, 4. Kriteria tingkat patogenitas berdasarkan metode yang dikembangkan oleh Waterhouse (1975) dalam Rubiyo *et al.* 2008 yaitu: 1= Tidak patogenik bila tidak ada gejala nekrotik pada kulit buah kakao, 2= Kurang patogenik bila gejala nekrotik < 25% pada permukaan buah kakao, 3= Patogenik bila gejala nekrotik antara 25-50% pada permukaan buah kakao, dan 4= Sangat patogenik bila gejala nekrotik > 50% pada permukaan buah kakao

Evaluasi Efektivitas Metode Inokulasi

Evaluasi dilakukan untuk menentukan metode inokulasi dengan tepat dalam kegiatan penapisan ketahanan genotipe kakao terhadap busuk buah. Metode inokulasi yang dievaluasi terdiri dari : 1) Metode inokulasi penempelan biakan dan pelukaan jaringan (TP). Buah kakao yang akan diinokulasi dilukai dengan menggunakan jarum suntik steril pada tiga titik pada permukaan buah. Potongan biakan cendawan berukuran diameter 0.4 cm. Kemudian ditempelkan pada permukaan buah tersebut. 2) Metode

inokulasi penempelan biakan tanpa pelukaan jaringan (TL). Buah kakao yang diinokulasi tidak dilukai, penempelan potongan biakan cendawan. Inokulum berukuran diameter 0.4 cm dilakukan pada empat titik. 3) Metode inokulasi penyemprotan konidia tanpa pelukaan jaringan (SL), metode ini hanya dilakukan pada pembibitan. Bibit kakao yang akan diinokulasi tidak dilukai. Inokulum disiapkan dengan mengemulsikan biakan dari buah kakao yang bergejala dalam air steril, sehingga diperoleh konsentrasi 10^6 konidia/ml. Dengan menggunakan alat semprot tangan permukaan bibit kakao disemprot hingga seluruh permukaan basah (± 10 ml/tanaman). Setelah diinokulasi, bibit kakao disungkup dengan transparan.

Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 2 metode perlakuan diulang tiga kali, jumlah buah yang diinokulasi 5 buah dan masing-masing buah ada 3 titik inokulasi, sehingga jumlah titik inokulasi masing-masing perlakuan ada 15 titik. Masing-masing unit percobaan terdiri atas lima buah kakao.

Peubah yang diamati adalah : 1. Rata-rata masa inkubasi: yaitu rata-rata periode hari setelah diinokulasi sampai munculnya gejala, 2. Rata-rata diameter gejala: diameter gejala diukur pada tujuh hari setelah inokulasi, 3. Kejadian Penyakit (%) dihitung dengan rumus :

$$KP = (n/N) \times 100\%$$

Keterangan:

N = jumlah titik inokulasi

n=jumlah titik inokulasi yang menunjukkan gejala busuk buah

HASIL DAN PEMBAHASAN

Studi patogen penyebab penyakit busuk buah kakao

Koleksi Isolat

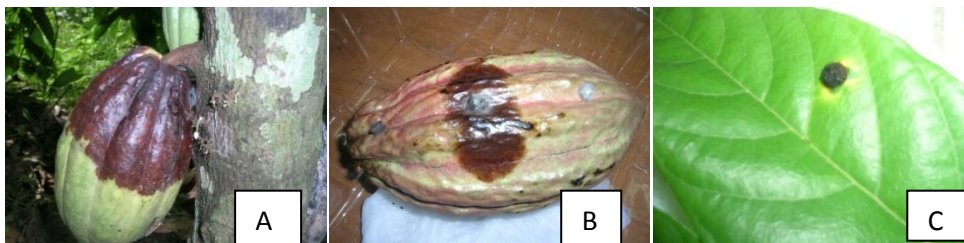
Hasil koleksi isolat yang diperoleh dari dua kabupaten yaitu Aceh Timur dan Aceh Besar terlihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Koleksi isolate patogen penyebab penyakit busuk buah kakao dari dua kabupaten (Aceh Timur dan Aceh Besar)

No.	Kode Isolat	Asal Isolat
1	PhyAS1	Aceh Timur (Desa Alur Sentang)
2	PhyAS2	Aceh Timur (Desa Alur Sentang)
3	PhyAS3	Aceh Timur (Desa Alur Sentang)
4	PhyAS4	Aceh Timur (Desa Alur Sentang)
5	PhySR1	Aceh Besar (Desa Saree Aceh)
6	PhySR2	Aceh Besar (Desa Saree Aceh)

Tabel 2. Rata-rata persentase kemunculan, masa inkubasi dan diameter gejala 6 isolat patogen penyebab busuk buah kakao

Kode Isolat	Kemunculan (%)	Masa inkubasi (hari)	Diameter gejala (cm) 3HSI
PhyAS1	88,33	2,28	3,47
PhyAS2	96,00	2,11	3,64
PhyAS3	92,33	2,22	3,56
PhyAS4	75,00	2,28	2,39
PhySR1	79,17	3,06	2,88
PhySR2	87,50	2,67	2,93



Gambar 1. Foto gejala busuk buah kakao di lapangan (A) di buah (B) dan daun yang diinokulasi buatan

Sumber isolat diperoleh dari buah kakao (putik, muda dan masak) yang bergejala dilapangan, kemudian diinokulasikan ke buah dan daun yang sehat. Isolat yang menunjukkan gejala yang sama yang dikoleksi dan dijadikan sumber inokulum pada uji ketahanan di laboratorium baik pada buah maupun daun. Hasil koleksi isolat dari Aceh Timur dan Aceh Besar diperoleh 6 isolat yang menunjukkan gejala yang sama baik diinokulasikan ke buah dan daun kakao (Tabel 2).

Secara morfologi gejala yang ditunjukkan penyebab busuk buah kakao adalah *Phytophthora palmivora* (Gambar 1). Pengamatan dibawah mikroskop menunjukkan bentuk sporangia oval seperti buah pir, namun tidak berhasil di foto. Sifat-sifat morfologi dan gejala dari semua isolat menunjukkan semua isolate adalah *Phytophthora palmivora* (Waterhouse 1974,

Stamps *et al.* 1990, Drenth & Sendall, 2001). Selanjutnya Semangun (2000) mengatakan bahwa *P. palmivora* merupakan patogen penyebab penyakit busuk buah dengan cirri sporangia berbentuk buah pir. Ukuran sporangia akan bervariasi bila medium, inang, umur biakan, kelembaban dan cahaya juga bervariasi (Drent & Sendall, 2001).

Uji Patogenisitas Patogen Penyebab Busuk Buah Kakao (*Phytophthora palmivora*) Asal Aceh Timur dan Aceh Besar

Uji patogenesis dilakukan di laboratorium pada buah muda dengan cara melukai jaringan buah lalu ditempelkan inokulum dari buah yang bergejala. Potongan inokulum diambil dibahagian antara batas jaringan yang sehat dan yang sakit dengan menggunakan cork bore. Berdasarkan persentase kemunculan gejala, masa

inkubasi dan diameter gejala terlihat bahwa keenam (6) isolate menunjukkan persentase kemunculan tergolong tinggi dengan kisaran 75 sampai 99%. Rata-rata masa inkubasi 2,11 sampai 3,06 hari dan diameter gejala pada 3 hari setelah inokulasi (HSI) 2,39 sampai 3,64 cm.

Pengukuran diameter gejala dilakukan pada 3 HSI, karena pada perlakuan yang dilukai dan pada genotype yang rentan biasanya pada 4 HIS dan seterusnya gejala sudah bersatu dan tidak dapat diukur lagi diameter masing-masing titik perlakuan. Jarak antara titik perlakuan pada buah yang diinokulasi adalah 5 cm (Tabel 3).

Berdasarkan pengamatan pada 7 HSI, dari 6 isolat yang diuji tingkat patogenisitasnya menunjukkan kriteria sangat patogenik berdasarkan kriteria tingkat patogenisitas patogen penyebab penyakit busuk buah yang dikembangkan Watterhouse. Semua isolate yang diperoleh dari Aceh Besar dan Aceh Timur menunjukkan rata-rata persentase gejala pada buah berkisar 73-98% sehingga semuanya termasuk dalam kriteria sangat patogenik.

Evaluasi Efektivitas Metode Inokulasi

Metode inokulasi yang dievaluasi adalah dengan pelukaan dan tanpa pelukaan pada

jaringan buah yang diuji. Hal ini ditujukan untuk memperoleh metode uji ketahanan yang efektif dan mudah dilakukan.

Pada Tabel 4 terlihat bahwa evaluasi efektifitas metode inokulasi terlihat bahwa metode temple dan pelukaan jaringan lebih cepat menunjukkan gejala atau buah kakao lebih cepat terinfeksi dibandingkan perlakuan tanpa pelukaan jaringan baik buah kakao yang diperoleh dari Aceh Timur maupun yang dari Aceh Besar.

Pengamatan diameter gejala dilakukan setelah gejala muncul yaitu setelah masa inkubasi, untuk yang dilukai dilakukan pada 3 HSI karena rata-rata masa inkubasi 2.5 hari, sedangkan yang tidak dilukai pengamatan diameter dilakukan 5 HSI karena masa inkubasi antara 3.5 sampai 4,1 hari. Rata-rata diameter gejala pada perlakuan yang dilukai lebih besar yaitu 3.5 cm sedangkan yang tidak dilukai 2,7 cm. Genotipe dari Aceh Timur menunjukkan konsistensi yang besar dibanding Aceh besar, terlihat pada Tabel 4 bahwa diameter yang dilukai lebih kecil dibandingkan tanpa pelukaan. Hal ini disebabkan kejadian penyakitnya juga lebih rendah yaitu 68% dibandingkan dengan yang lainnya berturut turut 88; 71 dan 71%.

Dari ketiga peubah yang diamati yaitu

Tabel 3. Kriteria tingkat patogenisitas patogen penyebab penyakit busuk buah kakao (Waterhouse (1975) dalam Rubiyo *et al.* 2008

Kode isolate	Rata-rata Persentase gejala (%)	Skor	Kriteria
PhyAS1	96,33	4 (gejala>50%)	Sangat patogenik
PhyAS2	98,66	4 (gejala>50%)	Sangat patogenik
PhyAS3	95,66	4 (gejala>50%)	Sangat patogenik
PhyAS4	73,33	4 (gejala>50%)	Sangat patogenik
PhySR1	88,66	4 (gejala>50%)	Sangat patogenik
PhySR2	86,66	4 (gejala>50%)	Sangat patogenik

Tabel 4. Rata-rata masa inkubasi, diameter gejala da kejadian penyakit pada evaluasi efektifitas metode inokulasi

Metode Inokulasi	Masa inkubasi (hari)		Diameter Gejala (cm)		Kejadian Penyakit (%)	
	Aceh Timur	Aceh Besar	Aceh Timur	Aceh Besar	Aceh Timur	Aceh Besar
1. TP	2,44	2,75	3,47	2,32	88,89	68,89
2. TL	3,46	4,15	2,70	2,79	71,11	71,11

Keterangan: Tempel dan pelukaan jaringan (TP); Tempel tanpa pelukaan jaringan (TL)

yaitu masa inkubasi, diameter gejala dan kejadian penyakit maka dapat disimpulkan kedua metode ini yaitu penempelan potongan inokulum baik dengan pelukaan maupun tanpa pelukaan memiliki keefektifan yang sama. Patogen penyebab busuk buah kakao memiliki kemampuan yang sama dalam menembus jaringan baik itu dilukai maupun tanpa pelukaan, hal ini diduga karena patogen memiliki tingkat patogenitas yang sangat tinggi. Maka kedua metode akan digunakan untuk melakukan penapisan ketahanan buah dan daun kakao terhadap penyakit busuk buah di laboratorium.

Pemilihan metode inokulasi disesuaikan dengan tujuan penelitian. Apabila kita ingin mengetahui ada tidaknya mekanisme ketahanan pra penetrasi maka metode inokulasi yang dipilih adalah tanpa pelukaan namun evaluasi mekanisme ketahanan pasca penetrasi maka metode yang digunakan dengan pelukaan (Rubiyanto *et al.* 2008).

SIMPULAN DAN SARAN

Hasil koleksi isolat yang diperoleh dari dua kabupaten yaitu Aceh Timur dan Aceh Besar sebanyak 6 sumber inokulum, rata – rata menunjukkan tingkat patogenitas yang tinggi.

Metode inokulasi yang paling efektif adalah pelukaan jaringan dan menempel potongan inokulum. Metode ini menunjukkan masa inkubasi yang cepat dan perkembangan patogen cepat. Namun metode ini kurang tepat apabila digunakan untuk penapisan ketahanan kakao terhadap penyakit busuk buah. Hal ini disebabkan dengan melukai permukaan buah kakao maka ketahanan buah kakao secara alami akan rusak, dari hasil penelitian pada buah yang tahan dilapangan apabila dilukai dan ditempel inokulum maka buah tersebut akan terinfeksi.

Metode infeksi buatan dilaboratorium yang berkorelasi dengan ketahanan

dilapangan adalah metode penempelan inokulum tanpa pelukaan jaringan. Untuk keakuratan data maka kedua metode inokulasi tersebut dapat dilakukan untuk penapisan ketahanan secara buatan dilaboratorium.

Untuk mendapatkan kakao Aceh yang tahan terhadap penyakit busuk buah maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap karakter-karakter kakao baik secara morfologi buah, bentuk tanaman dan karakter fisiologi serta secara molekuler yang berkorelasi positif dengan tingkat ketahanan terhadap busuk buah, sehingga diperoleh apakah seleksi dapat dilakukan secara langsung maupun tidak langsung dengan menggunakan Path Analysis.

DAFTAR PUSTAKA

- Direktorat Jendral Perkebunan. 2006. Road map komoditas kakao 2005-2025. Ditjenbun Jakarta.
- Efombagn, M.I.B., Nyasse, S., Sounigo, M, Kolesnikova Allen, & A.B. Eskes 2007. Participatory cacao (*Theobroma cacao*) selection in Cameroon Phytophthora pod rot resistant accessions identified in farmers field. *Crop Protection* 26(2007):1467-1473
- Nyadanu, D., M.K. Assuah, B.Adamoko, Y.O. Asiama L.Y. Opoku & Y. A, Ampomah. 2009. Efficacy of screening methods used in breeding for black pod disease resistance varieties in cocoa. *African Crop Science Journal*. Vol. 17: 175-186.
- Panda, D. & G.S. Khush. 1995. Host Plant Resistance to Insect. 1st eds. AB International, International Rice Research Institute, Manila.
- Rubiyanto, A, Purwantara, S. Sukanto & Sudarsono. 2008. Isolation of indigenous *Phytophthora palmivora* from Indonesia, their morphological and pathogenicity characterizations. *Pelita Perkebunan*. 24:27-49.
- Rubiyanto, A. Purwantara, & Sudarsono. 2010. Aktivitas kitinase dan peroksidase, kerapatan stomata serta

- ketahanan kakao terhadap penyakit busuk buah. *Pelita Perkebunan*. 26(2): 111-121.
- Susilo, A.W., D. Suhendi & S. Sukamto. 2002. Ragam genetic kerentanan tanaman kakao terhadap *Phytophthora palmivora*(Bult). *Pelita Perkebunan*. 18:1-9.
- Susilo, A.W. 2007. Akselerasi program pemuliaan kakao (*Theobroma cacao* L.) melalui pemanfaatan penanda molekuler dalam proses seleksi. *Warta Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia*. 23(1):11-24.
- Tan, G.Y. 1992. Cocoa breeding in Papua New Guinea and Its Relevance to Pest and Disease Control. P.117-124, In P.J. Keane & C.A.J. Putter (eds). *Cocoa Pest and Disease Management in Southeast Asia and Australia* VOC. Rome.