

Hubungan Karakteristik Jaringan Kulit Buah Beberapa Klon Kakao (*Theobroma cacao* L.) Dengan Sifat Ketahanan Terhadap Hama Penggerek Buah Kakao

Relationship Between Pod Characteristics of Some Cocoa Clones (T. cacao L.) and Their Resistance Response to Cocoa Pod Borer

Agung Wahyu Susilo¹⁾, Woerjono Mangoendidjojo²⁾, dan Witjaksono²⁾

Ringkasan

Studi karakteristik sifat ketahanan hama PBK (*Conopomorpha cramerella*) dilakukan terhadap jaringan kulit buah kakao, tempat aktivitas peletakan telur dan pergerakan larva. Karakterisasi dilakukan terhadap empat klon yang berbeda respons ketahanannya terhadap PBK, yaitu klon tahan (KW 514 dan ARDACIAR 10), moderat tahan (KW 411), dan rentan (RCC 72). Buah sampel dikategorikan atas buah muda dan buah tua yang diambil dari tanaman koleksi di KP Kaliwining, Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia. Karakterisasi berdasarkan keragaan anatomi jaringan trikoma, granula tanin, dan lignifikasi jaringan sklerotik dilakukan dengan metoda mikrokimia di laboratorium Mikroteknik Tumbuhan Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Hasil karakterisasi menunjukkan bahwa sampel buah muda klon tahan dan moderat tahan memiliki tingkat kepadatan jaringan trikoma lebih tinggi dibandingkan klon rentan. Granula tanin lebih banyak ditemukan pada buah muda dengan variasi yang menunjukkan keterkaitan dengan ketahanan PBK. Jumlah granula tanin klon tahan dan moderat tahan lebih tinggi dibandingkan klon rentan, baik yang ditemukan di bagian alur maupun di puncak permukaan kulit buah. Granula tanin ternyata lebih banyak terdistribusi pada jaringan di bagian puncak daripada di bagian alur. Perbedaan karakteristik antara klon tahan dan moderat tahan ternyata terletak pada tingkat lignifikasi jaringan sklerotik. Jaringan sklerotik klon tahan menunjukkan tingkat lignifikasi yang lebih intensif dan lebih kompak dibandingkan klon moderat tahan dan klon rentan. Demikian pula diketahui bahwa ketebalan jaringan sklerotik di bagian alur klon tahan lebih tinggi dibandingkan klon moderat tahan dan klon rentan. Jaringan sklerotik sampel buah muda klon moderat tahan belum menunjukkan proses lignifikasi yang intensif sehingga umur berpengaruh terhadap proses lignifikasi jaringan sklerotik.

1) Peneliti (*Researcher*); Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia, Jl. PB. Sudirman No. 90, Jember.

2) Dosen (*Lecture*); Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Bulaksumur, Yogyakarta.

Summary

Characteristic study on CPB resistance had been carried out by characterizing mesocarp layer of cocoa pod where egg laying and larva penetration are carried out. For this study, 4 clones were selected which performed different response to CPB, namely resistant clones of KW 514 and ARDACIAR 10, moderately resistant clone of KW 411 and the susceptible clone of RCC 72. Pod samples were classified as young and mature were detached from cocoa collection at the experimental station of Kaliwining, Indonesian Coffee and Cocoa Research Institute in Jember. Characterization was conducted based on microchemical method at the Microtechnique Laboratory of Gadjah Mada University to identify trichome appearance at upper layer of pod, distributed granules of tannin through mesocarp and lignification of the sclerotic. It was characterized that the trichome density performing resistant in which the resistant and moderately resistant clones had more number of trichome density than of the susceptible one. The distributed granules of tannin at young pod showed significant difference among those clones that indicate resistant characteristics. The number of distributed granules of tannin was higher of those the resistant and moderately resistant clones than of the susceptible clones that were formed both at furrow and at ridge of pod. However, the granules of tannin were distributed more at ridge than at furrow where furrow were preferred by CPB for egg laying. The characteristic differences between the resistant and moderately resistant clones were identified based on the intensity of lignification at sclerotic tissue. The lignified tissue of the resistant clones perform more intensive and more compact than of the moderately resistant clones. Tissue of young pod of the moderately resistant and susceptible clones was not yet lignified. Thickness of lignified tissue at the furrow of resistant clone was higher than of the moderately resistant and susceptible clones.

Key words : *Theobroma cocoa L.*, cocoa pod borer, resistant, mesocarp, sclerotic, trichome, tannin.

PENDAHULUAN

Strategi mendapatkan materi genetik sifat ketahanan PBK ditempuh melalui eksplorasi dan seleksi genotipe tahan di daerah endemik serangan. Dalam hal ini dilakukan melalui pemanfaatan peluang adanya genotipe-genotipe hasil proses rekombinasi persilangan antartetua klonal. Metode eksplorasi telah berhasil digunakan untuk mendapatkan klon-klon tahan penyakit *vascular-streak dieback* (VSD, *Oncobasi-*

dium theobromae) di Papua New Guinea melalui seleksi individu pada populasi pertanaman Trinitario yang terinfeksi VSD secara alami (Tan, 1992). Eksplorasi genotipe tahan PBK telah dilakukan di berbagai daerah endemik serangan PBK di Indonesia dan telah diperoleh beberapa klon harapan tahan PBK (Susilo *et al.*, 2004 & ACIAR, 2006). Klon-klon tahan hasil eksplorasi tersebut selanjutnya dimanfaatkan sebagai materi genetik dalam pemuliaan ketahanan PBK.

Proses identifikasi genotipe tahan PBK dilakukan berdasarkan proporsi buah terserang dan biji lengket akibat PBK. Identifikasi berdasarkan kriteria tersebut memerlukan waktu lama karena evaluasi respons ketahanan tanaman perlu dilakukan selama beberapa periode pembuahan guna memastikan bahwa tanaman tidak terhindar dari infestasi PBK (*escape*). Keefektifan seleksi berdasarkan kriteria tersebut masih rendah sebab dilaporkan bahwa di antara 20 genotipe hasil eksplorasi yang diduga tahan PBK, hanya terseleksi satu genotipe tahan atau keefektifan seleksi mencapai 5% (ACIAR, 2006). Meskipun demikian, hingga kini belum diketahui kriteria lain yang dapat digunakan untuk seleksi genotipe tahan PBK hingga seleksi dapat dilakukan secara efektif dan efisien.

Karakteristik sifat ketahanan PBK perlu diketahui guna menentukan berbagai alternatif kriteria seleksi. Susilo *et al.* (2004) melaporkan bahwa proporsi biji lengket akibat PBK berkorelasi positif dengan jumlah lubang masuk larva yang ditemukan pada lapisan mesokarp buah. Berdasarkan jejak larva di dalam buah maka dapat dilakukan identifikasi karakteristik sifat-sifat buah yang berperan dalam penghambatan pergerakan larva di dalam lapisan mesokarp buah. Azhar & Lim (1987) melaporkan terdapat hubungan berbanding terbalik antara tingkat kekerasan lapisan sklerotik buah dengan tingkat kematian larva instar satu sehingga kekerasan lapisan sklerotik buah dianggap sebagai faktor penghambat perkembangan larva. Namun di sisi lain, Susilo *et al.* (2004) melaporkan bahwa respons ketahanan PBK tidak terkait dengan tingkat kekerasan jaringan sklerotik sebab klon yang lapisan

sklerotiknya keras juga rentan terhadap serangan PBK. Susilo (2005) kemudian melaporkan hasil karakterisasi jaringan sklerotik buah berdasarkan lignifikasi jaringan, dan diketahui terdapat hubungan antara nisbah lubang keluar larva terhadap lubang masuk larva dengan banyaknya bagian jaringan yang tidak terlignifikasi (*channel*). Dalam hal ini diketahui bahwa lignifikasi tersebut berperan dalam penghambatan pergerakan larva keluar dari dalam buah. Namun demikian belum diketahui apakah lignifikasi tersebut juga berpengaruh terhadap pergerakan larva masuk ke dalam buah, dan pengaruhnya bersifat fisik atau kimiawi.

Perbedaan karakteristik permukaan kulit buah juga dilaporkan berpengaruh terhadap kesukaan peletakan telur serangga PBK. Azhar *et al.* (2000) & Flood *et al.* (2004) menyebutkan bahwa buah-buah yang permukaan kulitnya kasar lebih disukai oleh serangga PBK untuk bertelur. Lim *et al.* (1982) melaporkan bahwa telur PBK lebih banyak ditemukan di bagian alur buah (*furrow*) dibandingkan di bagian puncak buah (*ridge*), dimana kedalaman alur sebagai cerminan tingkat kekasaran permukaan kulit buah. Menurut Teh *et al.* (2006), telur PBK yang diletakkan pada buah yang permukaannya kasar akan lebih terlindung dari limpasan air hujan. Namun demikian hasil evaluasi di lapangan diketahui tidak ada perbedaan respons ketahanan antara klon-klon dengan permukaan kulit buah kasar dan klon-klon dengan permukaan kulit buah halus. Diketahui bahwa pada klon dengan permukaan kulit buah kasar ditemukan lebih banyak lubang masuk larva dibandingkan pada klon dengan permukaan kulit buah halus

(Sulistyowati *et al.*, 2002; Susilo *et al.*, 2004; & ACIAR, 2006). Tingkat kekasaran permukaan kulit buah diduga hanya berperan mengurangi tingkat kesukaan peletakan telur PBK namun seberapa besar tingkat kerusakan buah akibat PBK masih ditentukan oleh faktor-faktor ketahanan yang lain.

Meskipun demikian hasil karakterisasi tersebut belum dapat menyimpulkan karakteristik buah yang dapat dijadikan sebagai penanda ketahanan PBK. Karakterisasi masih perlu difokuskan pada karakteristik lapisan kulit buah yang berperan penting dalam proses peletakan telur dan pergerakan larva masuk ke dalam buah. Keberhasilan proses peletakan telur dan pergerakan larva mencapai jaringan plasenta biji untuk makan tergantung seberapa besar hambatan yang terjadi pada lapisan kulit buah. Dalam hal ini jaringan mesokarp dan sklerotik buah yang berperan penting dalam mekanisme ketahanan tersebut. Tulisan ini melaporkan hasil karakterisasi jaringan-jaringan pada lapisan kulit buah yang

meliputi lapisan permukaan kulit buah, jaringan mesokarp dan jaringan sklerotik berdasarkan keragaan anatomi jaringan secara mikroskopis pada beberapa klon yang telah diketahui karakteristik respons ketahanannya terhadap PBK. Karakterisasi dilakukan berdasarkan keberadaan jaringan trikoma pada permukaan kulit buah, granula tanin yang terdistribusi pada jaringan mesokarp buah dan lignifikasi jaringan sklerotik. Hasil karakterisasi kemudian dibahas berdasarkan keterkaitannya dengan karakteristik respons ketahanan PBK.

BAHAN DAN METODE

Bahan percobaan adalah buah kakao asal klon-klon yang telah diketahui karakteristik respons ketahanannya terhadap serangan PBK. Ada 4 jenis klon kakao yang digunakan untuk percobaan dengan karakteristik seperti tercantum pada Tabel 1. Klon-klon tersebut dipilih berdasarkan klasifikasi

Tabel 1. Karakteristik respons ketahanan PBK klon-klon kakao untuk percobaan

Table 1. The CPB-response characteristics of cocoa clones for this study

Klon <i>Clone</i>	Biji lengket, % <i>Unextractable beans</i>	Jumlah lubang masuk larva <i>No. of entry hole larvae</i>	Nisbah lubang keluar/ lubang masuk larva <i>Ratio of exit hole/ entry hole larvae</i>	Pustaka <i>Reference</i>
KW 514 Tahan (<i>Resistant</i>)	2.10	2.3 (86.90)*	0.04 Nisbah rendah (<i>low ratio</i>)	Susilo <i>et al.</i> (2004)
ARDACIAR 10 Tahan (<i>Resistant</i>)	14.75	11.6 (79.83)	0.10 Nisbah rendah (<i>low ratio</i>)	ACIAR (2006)
KW 411 (Moderat tahan) <i>Moderately resistant</i>	24.55	2.79 (60.11)	0.49 Nisbah tinggi (<i>high ratio</i>)	ACIAR (2006)
RCC 72 Rentan (<i>Susceptible</i>)	61.55	10.47 (69.49)	0.20 Nisbah sedang (<i>moderate ratio</i>)	ACIAR (2006)

Keterangan (*Notes*) : *) angka dalam kurung adalah proporsi (%) lubang masuk larva yang mencapai sklerotik (*numbers in the brackets are the percentage of entry hole larvae through sclerotic layer*).

ketahanannya, yaitu klon tahan (KW 514 dan ARDACIAR 10), moderat tahan (KW 411) dan rentan (RCC 72).

Klon-klon untuk percobaan tersebut ditanam dalam bentuk koleksi kerja (*working collection*) di Kebun Percobaan Kaliwining Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia pada ketinggian 45 m dpl., tipe iklim C. Sampel buah percobaan diklasifikasikan atas jenis buah masak fisiologis (*mature*) dan buah muda (panjang 10–15 cm) untuk mengetahui kondisi perbedaan umur buah terhadap keragaan karakteristik sifat-sifat buah yang diamati. Buah sampel dipetik dari tiga tanaman berbeda sebagai ulangan dan masing-masing tanaman diambil satu buah. Buah sampel dalam keadaan segar selanjutnya dikirim ke Laboratorium Mikroteknik Tumbuhan, Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta untuk tahapan proses analisa karakteristik anatomi jaringan berdasarkan metode mikrokimia (Johansen, 1940). Karakterisasi dilakukan berdasarkan keberadaan jaringan trikoma, granula tanin dan lignifikasi jaringan sklerotik. Masing-masing buah sampel diambil tiga titik jaringan untuk pengamatan.

Analisis karakteristik buah tersebut dilakukan secara mikroskopik dengan bantuan gambar irisan melintang jaringan mesokarp buah yang dibuat dengan bantuan alat mikrotom (*sliding microtome*) pada ketebalan 20–40 μm . Untuk analisis granula tannin, jaringan dimasukkan ke dalam larutan uji berupa campuran ferro sulfat 2 g, formalin 10 ml dan akuades 90 ml. Jaringan direndam dalam larutan uji tersebut selama 24–48 jam. Setelah itu jaringan diletakkan pada media gelas benda dan ditetesi gliserin

lalu ditutup dengan gelas penutup yang pada sisi-sisinya dilekatkan dengan cat kutu. Proses selanjutnya adalah pemotretan di bawah mikroskop binokuler pada perbesaran 2,5 x 10 kali. Sampel jaringan untuk pengamatan tersebut diambil tepat di bawah lapisan epidermis yang masing-masing diambil di bagian alur (*furrow*) dan puncak (*ridge*) buah. Melalui bantuan gambar ukuran 2,7 x 4 mm dilakukan penghitungan jumlah granula tanin yang terdistribusi pada jaringan mesokarp buah. Guna mengetahui gambaran kuantitatif granula tanin tersebut maka dilakukan pengukuran diameter granula tanin (mm). Preparat untuk pengamatan granula tanin ini juga digunakan untuk pengamatan keragaan jaringan trikoma.

Perlakuan kimiawi untuk pengamatan lignin berbeda dengan pengamatan tanin. Jaringan yang telah diiris dengan mikrotom kemudian direndam dalam alkohol 70% dan dilakukan pengecatan dengan cara merendamkan pada larutan berupa campuran 2 g phloroglucin dan 100 ml alkohol 95%. Setelah itu jaringan direndam dengan 25% HCl selama 5 menit untuk proses pencucian, kemudian diletakan dalam gelas benda dan ditetesi dengan gliserin sebelum ditutup dengan gelas penutup. Pengamatan lignifikasi jaringan dilakukan melalui bantuan gambar yang dipotret dibawah mikroskop pada perbesaran 4 x 10 kali. Jaringan sklerotik buah yang sudah mengalami lignifikasi akan berwarna merah. Berdasarkan lignifikasi jaringan kemudian dilakukan pengamatan tingkat lignifikasi dan kekompakan jaringan pada bagian alur dan puncak. Data tingkat lignifikasi dan kekompakan jaringan sklerotik ini bersifat kualitatif dan akan dilakukan analisis deskriptif dengan memperhatikan

keterulangan antarsampel pengamatan. Selain itu dilakukan pengukuran ketebalan lapisan sklerotik dan penghitungan jumlah celah atau jaringan yang tidak terlignifikasi (*channel*). Pengukuran ketebalan lapisan sklerotik dan jumlah *channel* dilakukan pada sampel buah kategori masak fisiologis menggunakan penggaris yang diskala ulang.

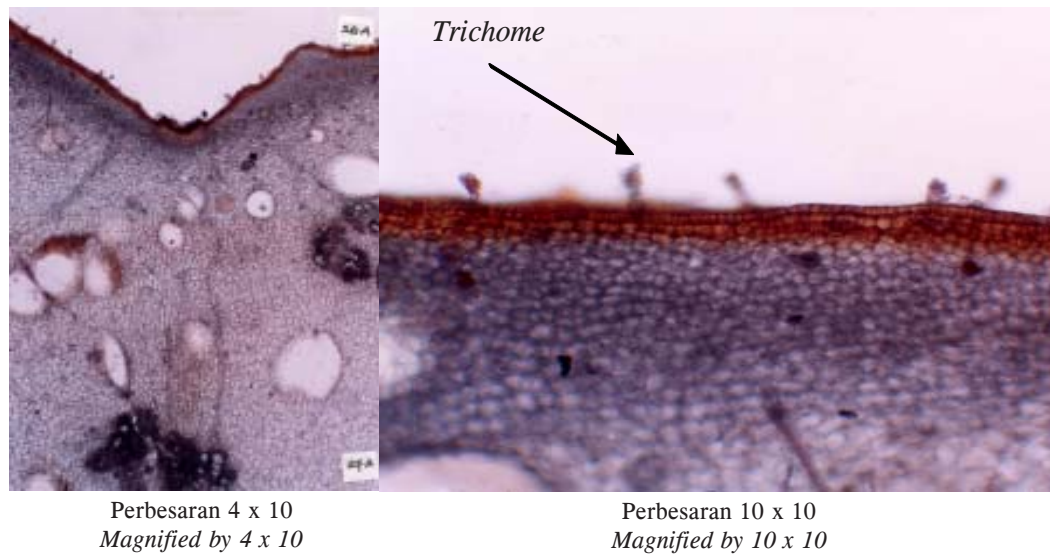
HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil karakterisasi menunjukkan terdapat perbedaan nyata keragaan kepadatan jaringan trikoma, jumlah granula tanin dan lignifikasi lapisan sklerotik buah antarklon yang diuji. Keragaan sifat-sifat tersebut juga berbeda berdasarkan kategori umur buah. Hal ini menunjukkan bahwa sifat-sifat tersebut memiliki keterkaitan dengan ketahanan PBK dan ekspresinya dipengaruhi oleh kondisi perkembangan umur buah. Jaringan trikoma dilaporkan berperan dalam mengatur mekanisme ketahanan antixenosis hama penggerek polong (*Callosobruchus chinensis*) pada tanaman kacang gude (*Cajanus cajan* L.) (Nahdy *et al.*, 1999), namun juga terungkap fenomena lain bahwa jaringan trikoma justru berfungsi sebagai tempat pijakan hama *Helicoverpa zea* selama bertelur pada tanaman kedelai (Panda & Daugherty, 1978 *cit.* Panda & Khush, 1995). Tanin merupakan kelompok senyawa fenolik yang dihasilkan tanaman dan bersifat toksik terhadap organisme hidup (Brown, 2004), sedangkan lignifikasi jaringan sklerotik buah kakao berhubungan dengan proses pergerakan larva di dalam buah (Susilo, 2006). Keberadaan sifat-sifat tersebut pada lapisan kulit buah kakao sebagai penunjuk adanya karakteristik sifat

buah yang berperan dalam mekanisme ketahanan PBK.

Jaringan Trikoma

Jaringan trikoma ditemukan pada epidermis kulit buah kakao. Sampel jaringan untuk pengamatan jaringan trikoma diambil di bagian alur buah tempat telur PBK dilaporkan lebih banyak ditemukan (Lim *et al.*, 1982). Ukuran panjang trikoma tersebut berkisar 0,01–0,05 mm dengan ketebalan yang tampak kurang beraturan bila dilihat mulai dari pangkal bawah hingga atas (Gambar 1). Ukuran tersebut masih jauh lebih kecil dibandingkan ukuran panjang telur $0,46 \pm 0,01$ mm (Lim *et al.*, 1982). Jaringan trikoma tersebut lebih banyak ditemukan pada buah muda dibandingkan pada buah tua (Gambar 2) dan keragaannya menunjukkan keterkaitan dengan ketahanan PBK. Hal ini diketahui berdasarkan keragaan kepadatan jaringan trikoma pada klon-klon tahan, KW 514 ($3,19 \pm 1,56$) dan ARDACIAR 10 ($4,84 \pm 0,25$), serta klon moderat tahan KW 411 ($5,93 \pm 1,4$) yang lebih tinggi dibandingkan klon rentan RCC 72 ($1,95 \pm 1,05$). Hasil pengamatan juga menunjukkan terdapat variasi yang tinggi nilai kepadatan jaringan trikoma antarsampel buah pengamatan pada kategori buah muda dibandingkan pada buah tua (nilai standar deviasi). Berdasarkan keragaan ini maka dapat diduga bahwa keberadaan jaringan trikoma terkait dengan perkembangan anatomi buah kakao. Tingkat kepadatan jaringan trikoma pada saat buah muda akan berperan penting dalam ketahanan PBK sebab proses infestasi PBK dimulai sejak buah masih muda.



Gambar 1. Keragaan jaringan trikoma pada permukaan kulit buah kakao.

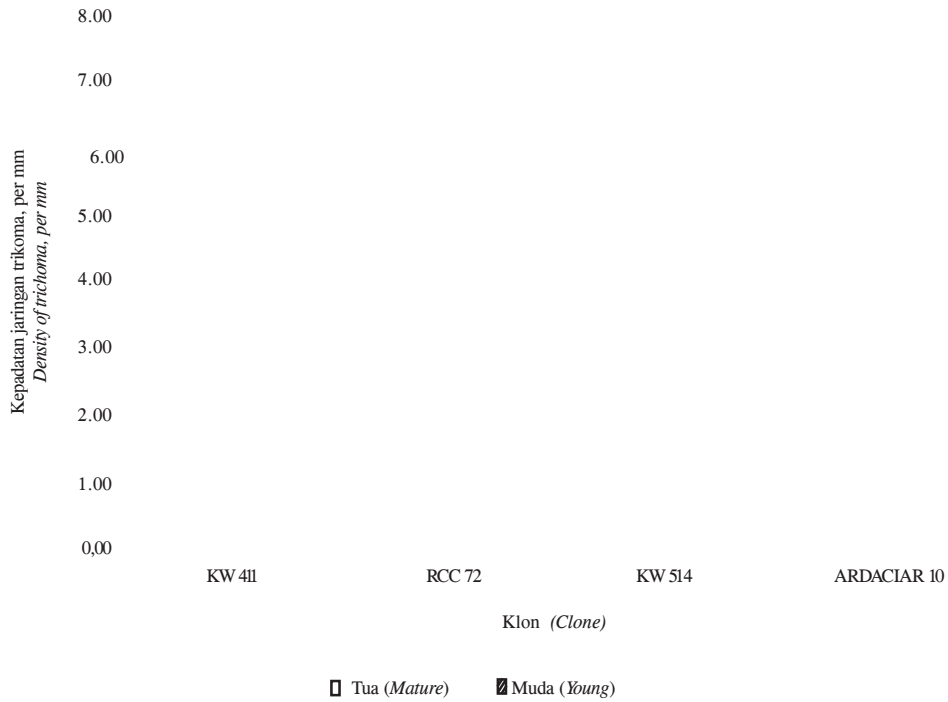
Figure 1. The appearance of trichome at upper layer of cocoa mesocarp.

Jaringan trikoma yang ditemukan pada permukaan kulit buah kakao tersebut diduga berperan dalam menghambat proses peletakan telur dan daya tetas telur (*hatchability*). Nahdy *et al.* (1999) melaporkan bahwa tingkat kepadatan jaringan trikoma merupakan salah satu penanda ketahanan hama penggerek polong (*C. chinensis*) pada tanaman kacang gude (*C. cajan* L.). Dilaporkan bahwa tingkat kepadatan jaringan trikoma pada tanaman tersebut mempengaruhi cara peletakan telur yang dapat menentukan daya tetas telur. Pada tanaman dengan tingkat kepadatan jaringan trikoma tinggi ditemukan lebih sedikit jumlah telur dan jumlah larva yang berhasil menggerek polong. Hasil karakterisasi jaringan trikoma pada tanaman kakao tersebut terdapat kecenderungan bahwa klon dengan jumlah lubang masuk larva

sedikit memiliki tingkat kepadatan jaringan trikoma relatif tinggi. Namun demikian meskipun antara klon tahan ARDACIAR 10 dan klon rentan RCC 72 ditemukan lubang masuk larva dalam jumlah relatif sama namun tingkat kepadatan jaringan trikoma yang ditemukan pada klon ARDACIAR 10 lebih tinggi. Dalam hal ini belum diketahui aspek lain fungsi jaringan trikoma yang berperan dalam mekanisme antixenosis ketahanan PBK.

Granula Tanin

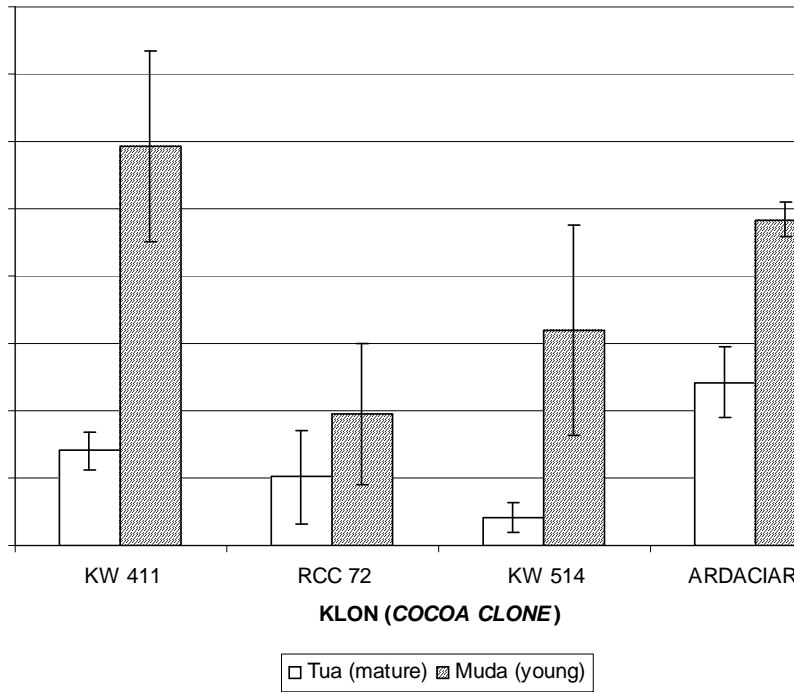
Karakterisasi senyawa tanin dilakukan berdasarkan keragaan granula tanin pada anatomi jaringan mesokarp buah guna mengetahui visualisasi distribusi granula tanin dalam jaringan tersebut. Senyawa tanin yang

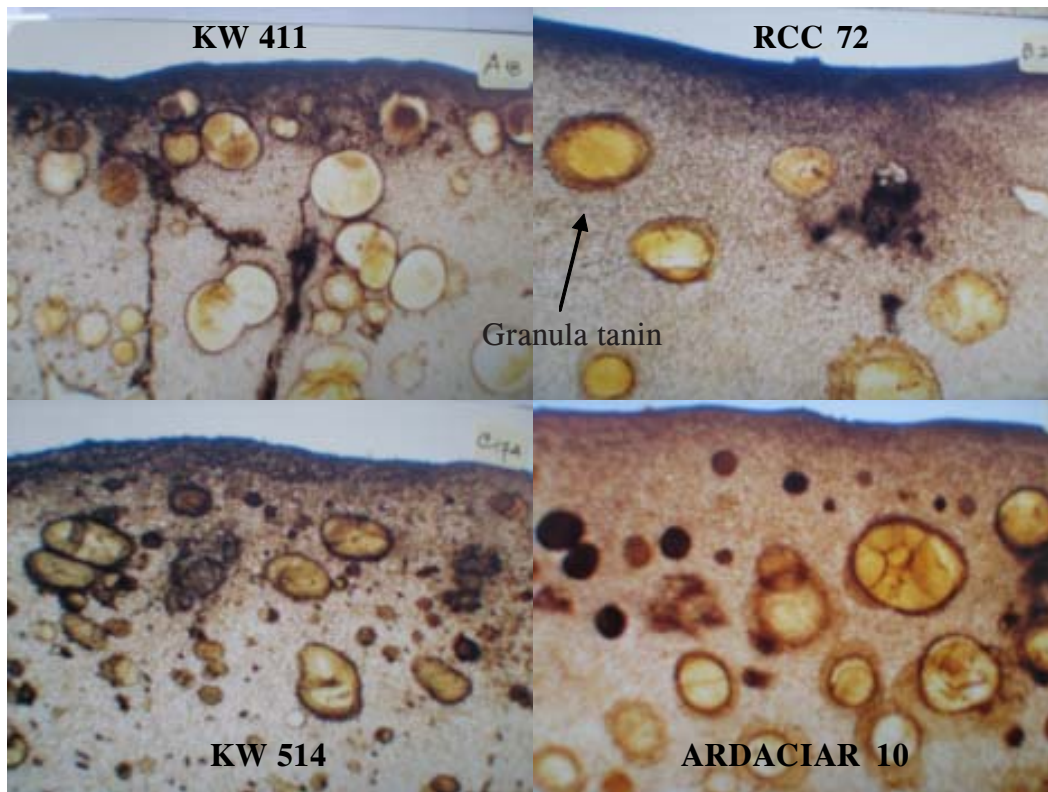


Gambar 2. Kepadatan jaringan trikoma pada permukaan kulit buah klon-klon kakao dengan respons ketahanan PBK yang berbeda (bar menunjukkan standar deviasi rerata).

Figure 2. Differences of trichome density at upper layer of mesocarp tissue of cocoa clones with different response to CPB (error bars represent standard deviation of the means).

teridentifikasi dalam jaringan mesokarp t kakao berbentuk granula (Gambar semacam kantung yang memuat senyawa tanin tersebut. Brown (2004) menyebutkan bahwa senyawa tanin di dalam tanai terdapat di dalam vakuola atau permukaan lilin. Dalam hal ini pengamatan jun granula tanin yang terdistribusi da jaringan mesokarp buah lebih pen dilakukan untuk mengetahui seberapa cakupan distribusi granula tanin tersebut dalam jaringan mesokarp yang dapat menggambarkan tingkat penghambatan bagi l: PBK. Pemilahan obyek pengamatan bagian alur dan puncak buah un



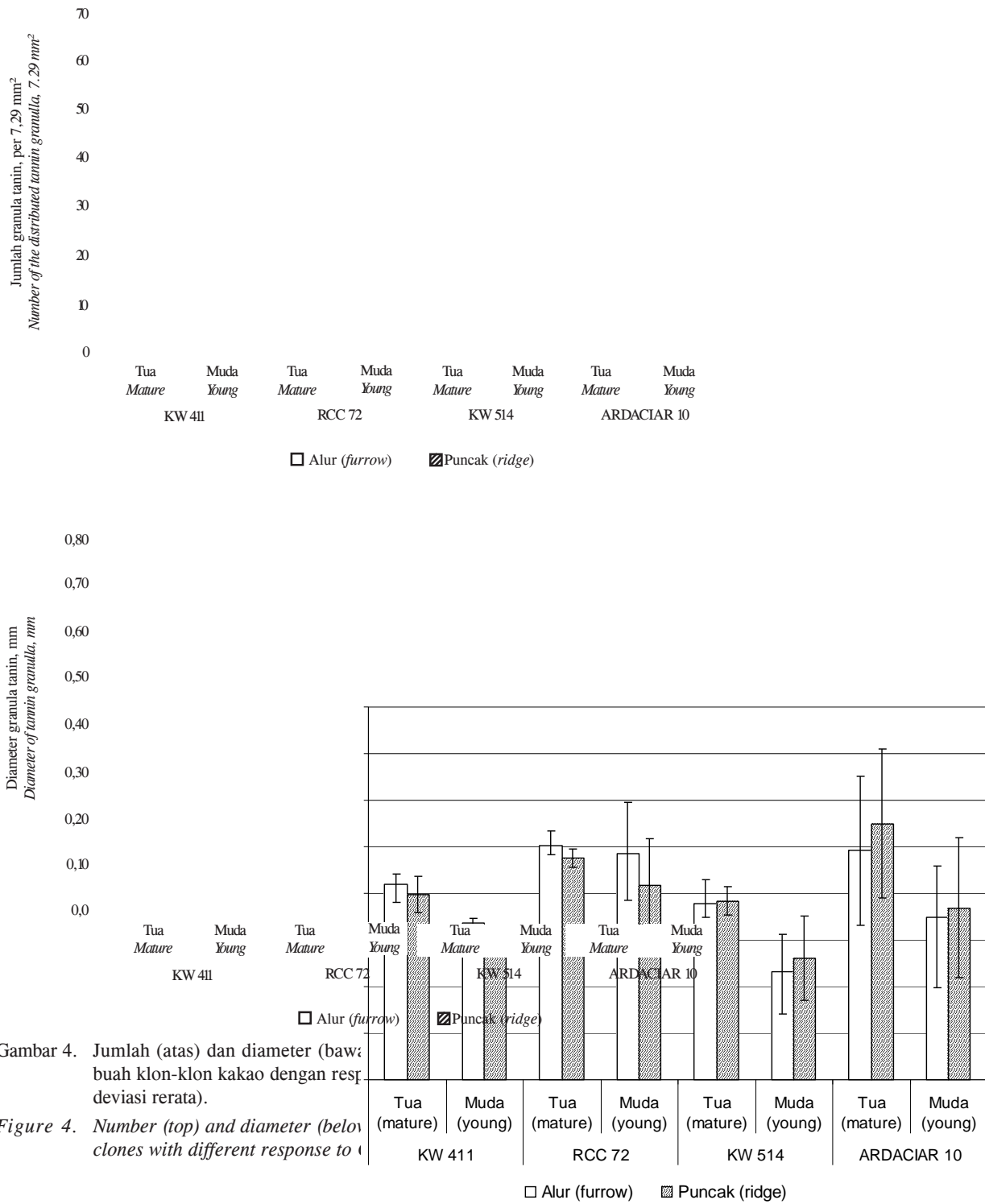


Gambar 3. Perbedaan keragaan granula tanin yang terdistribusi pada lapisan mesokarp buah muda beberapa klon kakao dengan respons ketahanan PBK yang berbeda (Perbesaran 4 x 10).

Figure 3. Visual differences of the distributed granules of tannin through the mesocarp of young pod of cocoa clones with different response to CPB (Magnified by 4 x 10).

berdasarkan data sampel buah muda. Dalam hal ini keberadaan senyawa tanin pada buah muda lebih diperlukan dalam mekanisme ketahanan PBK sebab proses infestasi PBK terjadi saat buah masih muda (umur > 3 bulan) (Azhar *et al.*, 2000) dan jarang ditemukan infestasi terjadi pada buah masak atau pun buah yang masih terlalu muda (Day, 1986). Hasil pengamatan menunjukkan bahwa jumlah granula tanin yang ditemukan pada buah muda klon tahan lebih tinggi dibandingkan pada klon rentan (Gambar 4). Perubahan diameter granula tanin tampak tidak menunjukkan adanya keterkaitan dengan

ketahanan PBK sebab tidak ada perbedaan keragaan diameter granula tanin antara klon tahan dan klon rentan. Hasil ini menunjukkan bahwa tingkat pemerataan distribusi granula tanin di dalam jaringan mesokarp lebih diperlukan dalam ketahanan PBK dibandingkan ukuran kuantitatif senyawa tersebut. Semakin merata sebaran granula tanin dalam jaringan mesokarp buah maka akan semakin besar peluang terjadinya kontak antara larva dan granula tanin. Senyawa tanin di dalam jaringan tanaman akan bersifat aktif setelah terjadi proses kerusakan atau pun kematian sel tanaman (Brown, 2004)



Gambar 4. Jumlah (atas) dan diameter (bawah) buah klon-klon kakao dengan respon deviasi rerata.

Figure 4. Number (top) and diameter (below) clones with different response to

sehingga aktivitas gerakan larva dapat mendorong proses perusakan tersebut.

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa granula tanin lebih banyak terdistribusi di daerah bagian puncak buah dibandingkan di bagian alur buah. Fenomena serangga PBK yang lebih menyukai bagian alur buah untuk peletakan telur dibandingkan bagian puncak buah diduga terkait dengan perbedaan jumlah granula tanin yang terdistribusi di kedua posisi buah tersebut. Granula tanin yang lebih sedikit terdistribusi di bagian alur buah menyebabkan faktor penghambat pergerakan larva yang terdapat di bagian alur buah relatif lebih kecil dibandingkan di bagian puncak. Keberadaan granula tanin sebagai faktor penghambat tersebut kemungkinan dapat terdeteksi oleh serangga PBK melalui mekanisme kemoreseptor dalam mendeteksi komponen kimia jaringan yang akan digunakan sebagai tempat beraktivitas (Panda & Kush, 1995). Mekanisme kemoreseptor pada buah kakao tersebut diduga melalui bau yang tercium oleh serangga PBK sebelum melakukan aktivitas peletakan telur. Keterkaitannya dengan keberadaan jaringan trikoma dalam ketahanan PBK masih perlu dikaji lebih lanjut.

Lignifikasi jaringan sklerotik buah

Jaringan sklerotik buah merupakan salah satu komponen kulit buah di bawah jaringan mesokarp yang berperan dalam proses penghambatan pergerakan larva PBK. Karakterisasi berdasarkan tingkat lignifikasi jaringan untuk memperoleh gambaran seberapa besar tingkat penghambatan yang terjadi pada jaringan tersebut. Keberadaan bagian jaringan yang tidak terlignifikasi

telah dilaporkan terkait dengan proporsi larva yang berhasil keluar dari dalam buah (Susilo, 2005). Berkenaan dengan ketahanan PBK, tingkat lignifikasi jaringan sklerotik buah merupakan faktor penghalang (*barrier*) terakhir bagi proses pergerakan larva menuju jaringan plasenta biji. Proses penghambatan larva pada jaringan tersebut belum diketahui apakah bersifat fisik atau kimiawi.

Hasil karakterisasi menunjukkan bahwa proses lignifikasi jaringan sklerotik terjadi seiring dengan proses perkembangan umur buah. Hal ini diketahui berdasarkan keragaan tingkat lignifikasi jaringan sklerotik pada sampel buah muda yang belum sempurna dibandingkan tingkat lignifikasi pada sampel buah tua. Jaringan sklerotik pada sampel buah muda terlihat kurang kompak dan ditemukan lebih banyak bagian-bagian yang belum terlignifikasi (Gambar 5). Lignifikasi jaringan sklerotik tersebut tampak menunjukkan keterkaitan dengan ketahanan PBK. Klon-klon tahan, ARDACIAR 10 dan klon KW 514, menunjukkan tingkat lignifikasi yang lebih intensif dan jaringan yang lebih kompak dibandingkan klon RCC 72 (rentan) dan klon KW 411 (moderat tahan). Pada sampel buah muda klon rentan dan moderat tahan tampak lignifikasi jaringan belum seintensif yang terjadi pada klon tahan sehingga dapat diketahui bahwa proses lignifikasi pada klon tahan terjadi lebih awal. Dalam hal ini terlihat bahwa perbedaan karakteristik antara klon tahan dan moderat tahan terletak pada tingkat lignifikasi jaringan sklerotik.

Tingkat lignifikasi jaringan sklerotik tersebut tampak terkait dengan nisbah jumlah lubang keluar terhadap jumlah lubang masuk larva. Nilai nisbah tersebut tampak jelas terkait

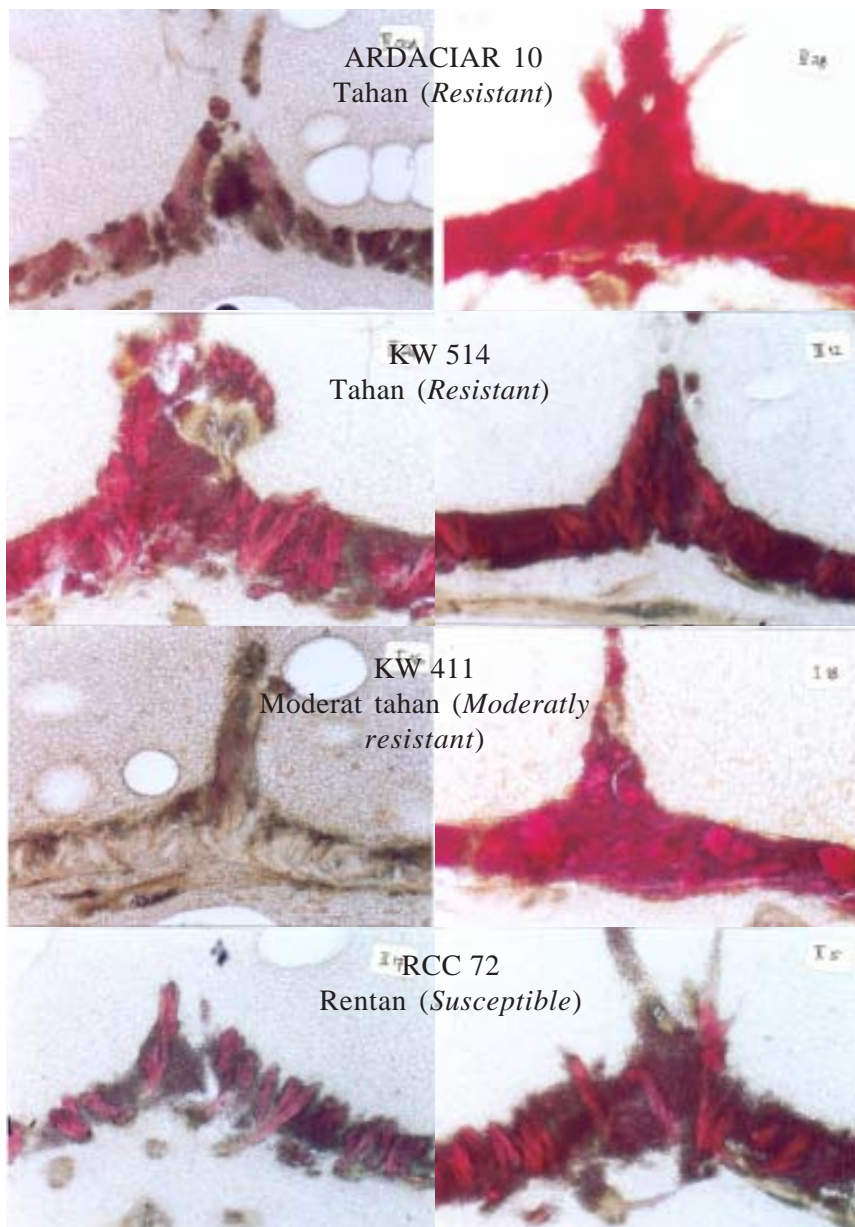
dengan gradasi tingkat lignifikasi jaringan sklerotik pada klon rentan dan moderat tahan. Klon KW 411 (moderat tahan) dengan nisbah tinggi menunjukkan tingkat lignifikasi jaringan yang lebih rendah dibandingkan klon RCC 72 (rentan) dengan nisbah sedang. Susilo (2005) sebelumnya juga melaporkan fenomena serupa dengan hasil penelitian ini. Nisbah tersebut meng-gambarkan seberapa besar tingkat peng-hambatan terhadap pergerakan larva di dalam buah. Dalam hal ini diketahui bahwa penghambatan tersebut terkait dengan lignifikasi jaringan sklerotik.

Meskipun demikian belum dapat diketahui apakah penghambatan tersebut terjadi saat larva bergerak masuk ke dalam buah atau saat larva akan keluar dari dalam buah. Fenomena penghambatan pergerakan larva keluar dari dalam buah pernah terungkap dengan ditemukan larva instar akhir yang mati sebelum berhasil keluar dari dalam buah pada klon rentan dengan lignifikasi jaringan sklerotik tinggi dan nilai nisbah tersebut rendah (Susilo, komunikasi pribadi). Namun demikian apabila penghambatan tersebut terkait dengan mekanisme ketahanan PBK

Tabel 2. Diskripsi kualitatif tingkat lignifikasi jaringan sklerotik buah klon-klon kakao dengan respons ketahanan PBK yang berbeda

Table 2. The qualitative description of lignification of sclerotic layer of cocoa clones with different response to CPB

Klon clone	Kondisi buah pod development	Tingkat lignifikasi lignification rate		Tingkat kekompakan compactness rate	
		Alur (furrow)	Puncak (ridge)	Alur (furrow)	Puncak (ridge)
ARDACIAR 10 (tahan, resistant)	Tua (mature)	Sangat intensif (very intensive)	Sangat intensif (very intensive)	Sangat intensif (very intensive)	Sangat intensif (very intensive)
	Muda (young)	Kurang intensif (less intensive)	Kurang intensif (less intensive)	Kurang intensif (less intensive)	Kurang intensif (less intensive)
KW 514 (tahan, resistant)	Tua (mature)	Jaringan terlignifikasi secara intensif (the tissue were lignified intensively)	Jaringan terlignifikasi secara intensif (the tissue were lignified intensively)	Jaringan terlignifikasi secara intensif (the tissue were lignified intensively)	Jaringan terlignifikasi secara intensif (the tissue were lignified intensively)
	Muda (young)	Jaringan mulai terlignifikasi secara intensif (the tissue start to be lignified intensively)	Jaringan mulai terlignifikasi secara intensif (the tissue start to be lignified intensively)	Jaringan mulai terlignifikasi secara intensif (the tissue start to be lignified intensively)	Jaringan mulai terlignifikasi secara intensif (the tissue start to be lignified intensively)
KW 411 (moderat tahan, moderate resistant)	Tua (mature)	Intensif, sebagian sangat intensif (intensive and some others very intensive)	Intensif, sebagian sangat intensif (intensive and some others very intensive)	Intensif, sebagian sangat intensif (intensive and some others very intensive)	Intensif, sebagian sangat intensif (intensive and some others very intensive)
	Muda (young)	Belum terlignifikasi, sebagian terlignifikasi kurang intensif (tissues were not yet lignified, some others lignified less intensive)	Belum terlignifikasi, sebagian terlignifikasi kurang intensif (tissues were not yet lignified, some others lignified less intensive)	Belum terlignifikasi, sebagian terlignifikasi kurang intensif (tissues were not yet lignified, some others lignified less intensive)	Belum terlignifikasi, sebagian terlignifikasi kurang intensif (tissues were not yet lignified, some others lignified less intensive)
RCC 72 (rentan, susceptible)	Tua (mature)	Kurang intensif (less intensive)	Kurang intensif (less intensive)	Kurang intensif (less intensive)	Kurang intensif (less intensive)
	Muda (young)	Belum terlignifikasi, sebagian terlignifikasi kurang intensif (tissues were not yet lignified, some others less intensive lignified)	Belum terlignifikasi, sebagian terlignifikasi kurang intensif (tissues were not yet lignified, some others less intensive lignified)	Belum terlignifikasi, sebagian terlignifikasi kurang intensif (tissues were not yet lignified, some others less intensive lignified)	Belum terlignifikasi, sebagian terlignifikasi kurang intensif (tissues were not yet lignified, some others less intensive lignified)



Gambar 5. Perbedaan tingkat lignifikasi dan kekompakan jaringan sklerotik buah di bagian alur pada buah muda (kiri) dan buah tua (kanan) beberapa klon kakao dengan respons ketahanan PBK berbeda (perbesaran 4 x 10) .

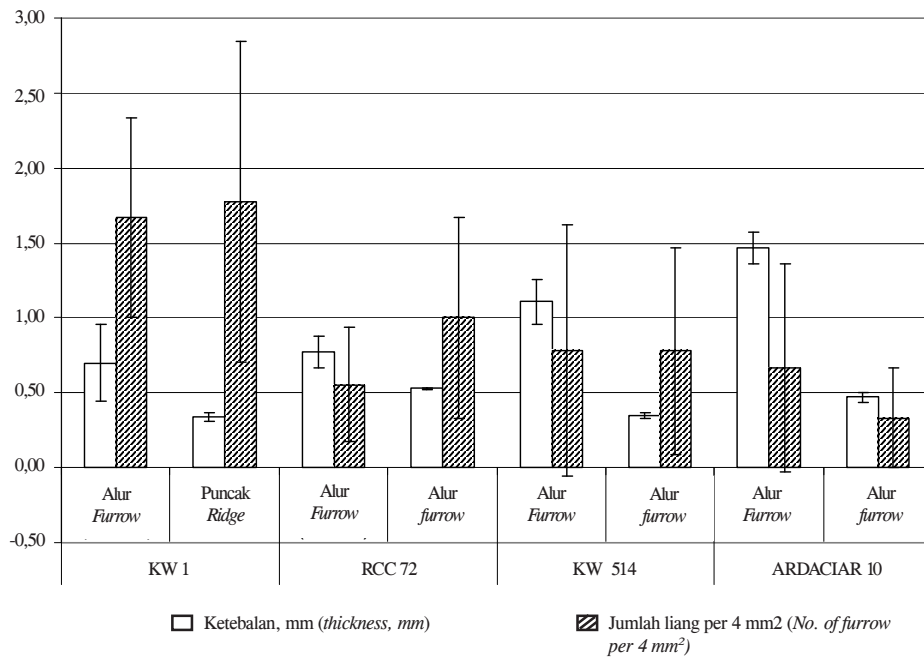
Figure 5. Differences of lignification and compactness of the lignified tissues at the furrow of young pod (left) and mature pod (right) of cocoa clones which different response to CPB (magnified by 4 x 10).

maka penghambatan semestinya terjadi saat larva bergerak masuk ke dalam buah.

Sebagaimana tanin, lignin juga termasuk kelompok senyawa fenolik yang dihasilkan tanaman melalui jalur sintesis asam shikimat atau juga dikenal jalur fenilpropanoid (Goldwasser *et al.*, 1999, Brown, 2004). Fungsinya dalam ketahanan tanaman telah dilaporkan pada tanaman gandum (*Triticum aestivum*) melalui mekanisme hipersensitif terhadap infeksi penyakit busuk batang (*Puccinia graminis* f. sp. *tritici*) (Menden *et al.*, 2007). Goldwasser *et al.* (1999) melaporkan bahwa kandungan lignin pada varietas tahan *Vicia atropurpurea* cv. Popany lebih tinggi dibandingkan pada varietas rentan *Vicia atropurpurea* cv. Yovel. Dilaporkan bahwa melalui infeksi buatan parasit *Orobanche aegyptiaca* di bagian akar varietas tahan *V. atropurpurea* cv. Popany dapat menginduksi peningkatan kandungan senyawa lignin dan enzim peroksidase sebanyak dua kali lipat, serta senyawa fenolik bebas (*free phenolics*) dan fenolik terikat (*bound phenolics*), masing-masing sebanyak empat kali dan delapan kali lipat. Hasil karakterisasi yang menunjukkan bahwa intensitas lignifikasi jaringan sklerotik yang tinggi pada klon tahan diduga sebagai hasil akumulasi proses lignifikasi yang terjadi dini selama perkembangan buah. Adanya intensitas kandungan lignin yang tinggi sejak buah masih muda akan berperan penting dalam penghambatan pergerakan larva menuju jaringan plasenta biji. Dengan demikian dapat diduga bahwa peran lignifikasi jaringan sklerotik dalam ketahanan PBK lebih bersifat kimiawi.

Guna mengetahui gambaran kuantitatif tingkat lignifikasi dan kekompakan jaringan sklerotik dilakukan pengukuran ketebalan lapisan sklerotik dan jumlah liang atau bagian jaringan yang tidak terlignifikasi (*channel*). Pengukuran hanya dilakukan pada sampel buah tua sebab tingkat lignifikasi jaringan yang belum sempurna pada sampel buah muda mempersulit standarisasi pengamatan. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa keragaan ketebalan jaringan sklerotik di bagian alur buah secara nyata terkait dengan perbedaan respons ketahanan PBK klon-klon yang diuji (Gambar 6). Klon-klon tahan, ARDACIAR 10 dan KW 514, masing-masing menunjukkan ketebalan jaringan sklerotik di bagian alur sebesar $1,47 \pm 0,11$ mm, dan $1,11 \pm 0,15$ mm yang lebih tinggi dibandingkan keragaan ketebalan jaringan sklerotik klon rentan RCC 72 dan moderat tahan KW 411, masing-masing sebesar $0,77 \pm 0,11$ mm dan $0,70 \pm 0,26$ mm. Berdasarkan nilai standar deviasi tampak bahwa variasi keragaan jumlah liang antarsampel pengamatan sangat tinggi, menunjukkan bahwa tingkat kekompakan jaringan sklerotik sulit direpresentasikan secara kuantitatif berdasarkan jumlah liang tersebut. Dalam hal ini diketahui bahwa klon KW 411 yang menunjukkan tingkat lignifikasi jaringan terendah, secara relatif menunjukkan jumlah liang yang tertinggi, baik di bagian alur maupun puncak.

Hasil karakterisasi tersebut menunjukkan bahwa di dalam lapisan kulit buah kakao terekspressi beberapa sifat buah yang terkait dengan ketahanan PBK. Sifat-sifat tersebut tampak berperan secara simultan sebab tidak ada satu sifat yang secara dominan menunjukkan keterkaitan dengan sifat ketahanan



Gambar 6. Ketebalan jaringan (mm) dan jumlah liang pada jaringan sklerotik buah klon-klon kakao dengan respons ketahanan PBK yang berbeda (bar menunjukkan standar deviasi rerata).

Figure 6. Sclerotic layer thickness (mm) and number of non-lignified tissue through the layer of cocoa clones which different response to CPB (error bars represent standard deviation of the means).

PBK. Hal ini menunjukkan bahwa mekanisme ketahanan PBK terjadi melalui proses yang relatif kompleks. Ekspresi sifat-sifat ketahanan tersebut tampak dipengaruhi oleh kondisi perkembangan umur buah, dan ekspresinya yang menunjukkan keterkaitan dengan ketahanan PBK terjadi pada sampel buah muda. Ekspresi sifat-sifat tersebut saat kondisi buah masih muda akan berperan penting dalam ketahanan PBK sebab proses infestasi PBK terjadi sejak buah masih muda. Namun demikian masih belum diketahui saat kondisi umur buah yang mencerminkan ekspresi maksimal sifat-sifat ketahanan tersebut. Dalam hal ini masih perlu dikaji pengaruh perkembangan buah terhadap

ekspresi sifat-sifat tersebut terutama selama kurun waktu perkembangan buah karena proses infestasi PBK terjadi (3–5 bulan). Proses identifikasi karakteristik ketahanan PBK harus memperhatikan kondisi perkembangan umur buah.

KESIMPULAN

1. Hasil karakterisasi lapisan kulit buah kakao teridentifikasi adanya jaringan trikoma pada lapisan permukaan kulit buah, granula tanin yang terdistribusi dalam jaringan mesokarp, dan perbedaan tingkat lignifikasi jaringan sklerotik buah yang keragaannya berbeda antarklon.

Keragaan sifat-sifat tersebut juga dipengaruhi oleh kondisi umur buah. Tingkat kepadatan jaringan trikoma pada sampel buah muda menunjukkan keterkaitan dengan ketahanan PBK sebab tingkat kepadatan jaringan trikoma yang ditemukan pada klon-klon tahan, KW 514 ($3,19 \pm 1,56$) dan ARDACIAR 10 ($4,84 \pm 0,25$) dan klon moderat tahan, KW 411 ($5,93 \pm 1,40$) lebih tinggi dibandingkan pada klon rentan, RCC 72 ($1,95 \pm 1,05$).

2. Terdapat perbedaan keragaan jumlah granula tanin yang terdistribusi dalam jaringan mesokarp buah berdasarkan jenis klon, umur buah dan posisi jaringan di bagian buah. Granula tanin lebih banyak ditemukan pada buah muda yang variasi keragaannya menunjukkan keterkaitan dengan ketahanan PBK. Jumlah granula tanin yang ditemukan pada klon tahan (KW 514 dan ARDACIAR 10) dan moderat tahan (KW 411) lebih banyak dibandingkan pada klon rentan (RCC 72), baik yang ditemukan pada jaringan di bagian alur maupun puncak buah. Dalam hal ini granula tanin lebih banyak terdistribusi di bagian puncak daripada di bagian alur buah.
3. Perbedaan karakteristik ketahanan PBK antara klon tahan dan moderat tahan terletak pada tingkat lignifikasi jaringan sklerotik. Klon tahan (ARDACIAR 10 dan KW 514) menunjukkan tingkat lignifikasi yang lebih intensif dan lebih kompak dibandingkan klon moderat tahan (KW 411) dan klon rentan (RCC 72). Pada sampel buah muda, klon moderat tahan belum menunjukkan adanya proses

tingkat lignifikasi yang intensif. Berdasarkan ketebalan jaringan sklerotik di bagian alur buah diketahui bahwa klon tahan, ARDACIAR 10 ($1,47 \pm 0,11$) dan KW 514 ($1,11 \pm 0,15$) menunjukkan tingkat ketebalan yang lebih tinggi dibandingkan klon moderat tahan KW 411 ($0,70 \pm 0,26$) dan klon rentan, RCC 72 ($0,77 \pm 0,11$).

DAFTAR PUSTAKA

- ACIAR (2006). Selection for improved quality and resistance of *Phytophthora* pod rot, cocoa pod borer, and vascular streak dieback in cocoa in Indonesia. *Annual Report, ACIAR-PHT/2000/102 (2006)*.
- Azhar, I. & D.H.K. Lim (1987). An investigation on the use of host plant resistance and crop manipulation in the management of the cocoa pod borer. p. 83–101. *In*: P.A.C. Ooi (Ed.). *Management of the Cocoa Pod Borer*. The Malaysian Cocoa Plant Protection Society, Kuala Lumpur.
- Azhar, I. (2000). Measuring ovipositional preference of the cocoa pod borer, *Conopomorpha cramerella* (Lepidoptera: Gracillariidae) to various cocoa clones. *Proceedings of Incoped 3rd International Seminar. Malaysian Cocoa Board*. p. 57–59.
- Brown, D. (2004). *Toxic agents in plants*. Animal science Webmaster, 02/18/2004.
- Day, R.K. (1986). Population dynamics of cocoa podborer *Acrocercops cramerella*: Importance of host plant cropping cycle. p. 255–263. *In*: Pusparajasah, E. & P.S Chew (Eds.). *Cocoa and Coconuts: Progress and outlook*. Incorporated Society of Planters. Kuala Lumpur.

- Flood; J. D. Guest; K.A. Holmes; P. Keane, B. Padi & E. Sulistyowati (2004). Cocoa under attack. p. 33–53. *In*: J. Flood & R. Murphy (Eds.). *Cocoa Futures: A Source Book of Some Important Issues Confronting the Cocoa Industry*. CABI Commodities, Colombia.
- Goldwasser, Y.; J. Hershenhorn; D. Plakhine; Y. Kleifeld & B. Rubin (1999). Biochemical factors involved in vetch resistance to *Orobanche aegyptiaca*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 54, 87–96.
- Johansen, D.A. (1940). *Plant Microtechnique*. McGraw-Hill Book Company, Inc. New York and London.
- Lim, G.T.; E.B. Tay; T.C. Pang & K.Y. Pan (1982). The biology of cocoa pod borer *Acrocercops cramerella* Sneller and its control in Sabah, Malaysia. *Proc. Int. Conf. Pl. Prot. in Tropics. Malaysian Pl. Prot. Soc. (MAPPSS)*, Kuala Lumpur. p. 275–287.
- Menden, B.; M. Kohlhoff & B.M. Moerschbacher (2007). Wheat cells accumulate a syringyl-rich lignin during the hypersensitive resistance response. *Phytochemistry*, 68, 513–520.
- Nahdy, M.S.; S.N. Silim & R.H. Ellis (1999). Some aspects of pod characteristics predisposing pigeonpea (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) to infestation by *Callosobruchus chinensis* (L.). *J. of Stored Products Research*, 35, 47–55.
- Panda, N. & G.S. Khush (1995). *Host Plant Resistance to Insects*. 1st Ed. CAB International, International Rice Research Institute, Manila.
- Sulistyowati, E.; A.W. Susilo & E. Mufrihati (2002). Laporan hasil eksplorasi klon kakao tahan hama PBK (*Conopomorpha cramerella* Snell.) di Kalimantan Timur. *Laporan Intern Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia*.
- Susilo, A.W.; E. Sulistyowati & E. Mufrihati (2004). Eksplorasi genotipe kakao tahan hama penggerek buah kakao (*Conopomorpha cramerella* Snell.). *Pelita Perkebunan*, 20, 1–12.
- Susilo, A.W. (2005). Relationship between the characteristics of sclerotic layer of cocoa pods and their resistance to cocoa pod borer. *Proc. 4th Malaysian International Cocoa Conference*. Malaysian Cocoa Board (MCB), Kuala Lumpur. p. 176–184.
- Tan, G.Y. (1992). Cocoa breeding in Papua New Guinea and its relevance to pest and disease control. p. 117–128. *In*: P.J. Keane & C.A.J. Putter (Eds.). *Cocoa Pest and Diseases Management in Southeast Asia and Australasia*. FAO, Rome.
- Teh, C.L.; Joe T-Y Pang & C-T. Ho (2006). Variation of the response of clonal cocoa to attack by cocoa pod borer *Conopomorpha cramerella* (Lepidoptera: Gracillariidae) in Sabah. *Crop Protection*, 25, 712–717.
