



**INDUKSI KETAHANAN BIBIT KAKAO (*Theobroma cacao* L.)
TERHADAP *Phytophthora palmivora* MENGGUNAKAN
MUTAGEN ETHYL METHANE SULFONATE (EMS)**

*Induction of Resistance of Cocoa (*Theobroma cacao* L.) seeds to
Phytophthora palmivora with Ethyl Methane Sulfonat (EMS)
as Mutagen*

TESIS

Oleh:

**Ali Muhammad Yusuf Shofa, S.Si.
081520101007**

**PROGRAM STUDI AGRONOMI
PROGRAM MAGISTER
JURUSAN BUDIDAYA PERTANIAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2010**



**INDUKSI KETAHANAN BIBIT KAKAO (*Theobroma cacao* L.)
TERHADAP *Phytophthora palmivora* MENGGUNAKAN
MUTAGEN ETHYL METHANE SULFONATE (EMS)**

*Induction of Resistance of Cocoa (*Theobroma cacao* L.) seeds to
Phytophthora palmivora with Ethyl Methane Sulfonat (EMS)
as Mutagen*

Tesis diserahkan kepada Fakultas Pertanian
Universitas Jember untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar

MAGISTER PERTANIAN

Oleh

**Ali Muhammad Yusuf Shofa, S.Si.
081520101007**

Pembimbing Tesis :

**Dr. Ir. Miswar, M.Si., Pembimbing Utama
Ir. Sri Sukanto S., M.P., Pembimbing Anggota**

**PROGRAM STUDI AGRONOMI
PROGRAM MAGISTER
JURUSAN BUDIDAYA PERTANIAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2010**

PENGESAHAN

Tesis Berjudul *Induksi Ketahanan Bibit Kakao (Theobroma cacao L.) Terhadap Phytophthora palmivora Menggunakan Mutagen Ethyl Methane Sulfonate (EMS)* telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Pertanian Universitas Jember pada:

hari : Selasa

tanggal : 1 Juni 2010

tempat : Fakultas Pertanian Universitas Jember

Tim Penguji

Ketua,

Dr. Ir. Miswar, M.Si.
NIP. 19641019 199002 1 002

Anggota I,

Anggota II,

Ir. Sri Sukamto S., M.P.
NIK. 111 000 173

Dr. Tri Handoyo, S.P.
NIP. 19711202 199802 1 001

Mengetahui/Menyetujui

Ketua Program Studi,

Dr. Ir. Ketut Anom Wijaya
NIP. 19580717 198503 1 002

Dekan Fakultas Pertanian,

Dr. Ir. Bambang Hermiyanto, M.P.
NIP. 19611110 198802 1 001

PERNYATAAN

Saya yang bertandatangan dibawah ini :

Nama : Ali Muhammad Yusuf Shofa, S.Si.

NIM : 081520101007

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya tulis ilmiah yang berjudul : *Induksi Ketahanan Bibit Kakao (Theobroma cacao L.) Terhadap Phytophthora palmivora Menggunakan Mutagen Ethyl Methane Sulfonate (EMS)* adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika disebutkan sumbernya dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 1 Juni 2010

Yang menyatakan,

Ali Muhammad Yusuf Shofa, S.Si.

NIM 081520101007

PERSEMBAHAN

Karya ini kupersembahkan untuk :

- ❖ Bapakku Nur Ali (alm) dan Ibu tercinta Hj. Robiatun yang telah mencurahkan kesabaran, ketabahan, didikan, cinta dan kasih sayang, serta iringan do'a yang senantiasa kau panjatkan sehingga putramu menjadi seperti ini.
- ❖ Kakak – kakakku Mbak Lik, Cacak Tofa, Mbak Udah, Mbak kik, Mbak Bin dan Mbak Al sebagai motivator ulung dalam hidupku.
- ❖ Keponakan – keponakanku : fiki, totos, ari, lia, fifa, nizar, dani, mersa, gilang, nina, trisa, caca, haris, ardi, (*bella*), icha, vira dan Oiy
- ❖ BonchuZ Rangers : Mahapatih *Iryono*, M.P., MangaB *Asriyah F.*, S.P., Mayor *Lyla Wulandari*, S.P., Letkol *Delly Hos Kapila*, S.P., Kopral *Nurhayati Hanifa*, S.TP., M.P.
- ❖ Para tim Dosen Lab. Eks Biomol : Prof. *Bambang S.*, Dr. *Miswar*, Dr. *Didik*, Dr. *Tri Agus*, Dr. *Tri Handoyo*, Dr. *Slameto*, mbak *Arin* dan mas *Yanto*, beserta kawan-kawan eks. biomol yang tak bisa kusebutkan satu persatu, special thanks buat *Yusuf & Marlinda*.
- ❖ Keluarga Bapak *Markayat* Baturaden VI/43 *Terima Kasih* atas kepercayaan yang diberikan selama penulis tinggal di Jember.
- ❖ Temen – temen kost Baturaden VI/43: *Bambroz*, *BroCo2*, *MizukimaR*, *Dicotyle*, *Oglex*, *Judhisch4*.
- ❖ Almamater yang kubanggakan.

Motto

Begitu banyak hal indah dalam dunia ini yang dapat kita peroleh selama kita bersedia bekerja untuk mendapatkannya. Namun karena keraguan dan ketidaktahuan, kita telah kehilangan keberanian untuk mencoba dan kehilangan semua hal yang patut kita dapatkan

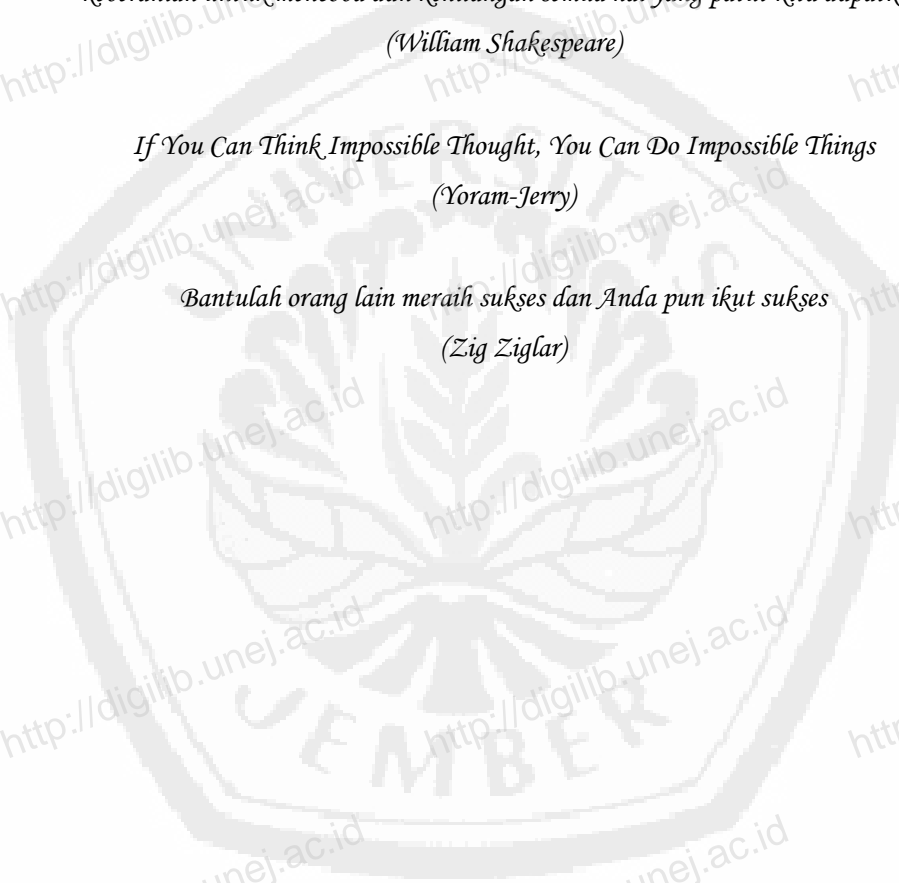
(William Shakespeare)

If You Can Think Impossible Thought, You Can Do Impossible Things

(Yoram-Jerry)

Bantulah orang lain meraih sukses dan Anda pun ikut sukses

(Zig Ziglar)



KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, puji syukur kehadirat Allah SWT, yang telah memberikan rahmat, serta hidayah-Nya atas terselesaikannya Karya Ilmiah Tertulis (Tesis) yang berjudul “*Induksi Ketahanan Bibit Kakao (Theobroma cacao L.) Terhadap Phytophthora palmivora Menggunakan Mutagen Ethyl Methane Sulfonate (EMS)*” ini dengan baik.

Penyelesaian Karya Ilmiah Tertulis (Tesis) ini tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak, oleh karena itu penulis menyampaikan terima kasih atas semua dukungan dan bantuan kepada :

1. Menteri Pendidikan Nasional yang telah memberikan dukungan pembiayaan melalui Program Beasiswa Unggulan hingga penyelesaian tugas akhir Tesis berdasarkan perjanjian kerjasama antara Sekjen Dikti Republik Indonesia dengan Universitas Jember Nomor 60607/A2.5/LN/2008.
2. Bapak Dr. Ir. Miswar, M.Si., selaku Dosen Pembimbing Utama (DPU).
3. Bapak Ir. Sri Sukanto S., M.P., selaku Dosen Pembimbing Anggota (DPA).
4. Seluruh staf Dosen dan Karyawan Pascasarjana dan Fakultas Pertanian Universitas Jember.
5. Kedua orang tua, saudara-saudaraku serta seluruh anggota keluarga besar Nur Ali yang selalu mendukung tanpa lelah dalam hal material juga spiritual.
6. Teman-teman Pascasarjana Agronomi Angkatan 2008 yang telah memberikan dukungan dan motivasinya serta membantu dalam penyelesaian penelitian tesis ini.
7. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang turut serta dalam penyelesaian proposal penelitian tesis ini.

Karya Ilmiah Tertulis (Tesis) ini masih sangat jauh dari sempurna, oleh karena itu segala bentuk kritik dan saran untuk perbaikan karya ilmiah ini sangat penulis harapkan.

Jember, Juni 2010

Penulis

RINGKASAN

Induksi Ketahanan Bibit Kakao (*Theobroma cacao* L.) Terhadap *Phytophthora palmivora* Menggunakan Mutagen *Ethyl Methane Sulfonate* (EMS), Ali Muhammad Yusuf Shofa. 081520101007. 2010; 50 halaman; Program Studi Agronomi Program Magister Jurusan Budidaya Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Jember.

Kakao merupakan salah satu komoditi penting sebagai sumber devisa Negara dari sektor non-migas yang mampu menyumbangkan sekitar USD 1.15 milyar pertahun (Anonim^a, 2009). Namun seiring dengan munculnya penyakit busuk buah kakao oleh *P. palmivora* menyebabkan penurunan produksi kakao pada beberapa daerah sentra penghasil kakao Indonesia. Selama ini pengendalian *P. palmivora* yang paling banyak dilakukan oleh petani kakao adalah aplikasi fungisida, namun berdampak buruk pada keberlangsungan ekologi kebun serta penurunan kualitas biji kakao yang dihasilkan karena residu fungisida yang terkandung di dalam bijinya. Oleh karena itu penggunaan bahan tanam dari klon kakao tahan terhadap *P. palmivora* merupakan salah satu solusi yang paling tepat, namun klon kakao ini masih tergolong langka. *Ethyl Methane Sulfonate* (EMS) merupakan salah satu mutagen kimia yang telah terbukti mampu menginduksi keragaman genetika pada beberapa jenis tanaman pangan. Pada penelitian ini akan dilakukan induksi mutagenesis pada benih kakao dengan EMS, kemudian dilakukan pengujian tingkat ketahanan bibit kakao mutan terhadap *P. palmivora*. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui kemampuan EMS dalam induksi ketahanan tanaman kakao terhadap *P. palmivora*, serta kemampuan EMS dalam menginduksi peningkatan sintesis senyawa fenolik dan perubahan kandungan karbohidrat, protein serta pola pita protein pada daun bibit kakao mutan. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi pada upaya pemuliaan tanaman kakao khususnya untuk mendapatkan klon kakao yang tahan terhadap *P. palmivora* penyebab penyakit busuk buah.

Penelitian ini dibagi dalam empat tahapan. Tahap pertama adalah induksi mutagenesis benih kakao dengan EMS dan uji viabilitas benih pasca mutasi. Pada tahap ini benih kakao diperlakukan dengan dua konsentrasi larutan EMS yaitu 10 mM dan 20 mM selama 6 dan 12 jam, setelah itu dilakukan uji viabilitas benih pada masing-masing perlakuan. Tahap kedua adalah penanaman dan pengamatan tingkat pertumbuhan tanaman kakao mutan di dalam *green house* hingga tanaman berusia 4 bulan. Tahap ketiga adalah seleksi ketahanan kakao mutan dengan miselia *P.*

palmivora. Pada tahap ini diperoleh penggolongan tanaman kakao mutan sesuai dengan tingkat ketahanannya. Tahap keempat adalah uji kandungan total fenol, karbohidrat dan pola pita protein pada masing-masing tingkat ketahanan kakao mutan terhadap *P. palmivora*.

Hasil penelitian menunjukkan tingkat viabilitas benih kakao pasca induksi mutagenesis dengan EMS masih cukup tinggi. Tingkat viabilitas benih terendah 91% pada perlakuan EMS 10 mM selama 12 jam. Hasil pengamatan tingkat pertumbuhan kakao mutan menunjukkan bahwa perlakuan perendaman EMS 20 mM mampu menghasilkan keragaman genetik baru dengan sifat agronomis yang paling baik yang meliputi tinggi tanaman, jumlah daun dan diameter batang. Hasil uji ketahanan kakao mutan terhadap *P. palmivora* diperoleh 14 kakao mutan kategori tahan, 16 kakao mutan kategori moderat-tahan dan 98 kakao mutan kategori peka/rentan. Hasil uji kandungan total fenolik menunjukkan adanya peningkatan kandungan fenolik seiring dengan meningkatnya ketahanan terhadap *P. palmivora*. Kandungan karbohidrat seperti glukosa, sukrosa dan amilum pada kakao tahan dan moderat tahan juga mengalami perubahan. Sedangkan hasil kandungan protein dan uji pola pita protein pada beberapa kakao mutan menunjukkan adanya perubahan pola pita protein sebagai indikasi awal adanya proses mutagenesis pada benih kakao.

Kesimpulan dari penelitian ini bahwa aplikasi EMS mampu menginduksi keragaman genetik tanaman kakao untuk seleksi ketahanan alami bibit kakao terhadap *P. palmivora*. Benih kakao pasca perlakuan mutagenesis dengan EMS masih memiliki viabilitas yang tinggi. Aplikasi EMS mampu menginduksi peningkatan sintesis senyawa fenolik dan perubahan kandungan karbohidrat yang meliputi gula reduksi, sukrosa dan amilum serta perubahan kandungan protein dan pola pita protein pada bibit kakao.

Induksi ketahanan bibit kakao (*Theobroma cacao* L.) terhadap *Phytophthora palmivora* menggunakan mutagen Ethyl Methane Sulfonate (EMS)

Abstrak

Ali Muhammad Yusuf Shofa, S.Si.

Program Studi Agronomi Program Magister Fakultas Pertanian Universitas Jember

Telah dilakukan mutagenesis pada benih kakao (*Theobroma cacao* L.) menggunakan *Ethyl methane sulfonate* (EMS) untuk menginduksi ketahanannya terhadap *P. palmivora* penyebab penyakit busuk buah di dalam pertanaman kakao. Benih kakao diperlakukan dengan larutan EMS dengan konsentrasi 10 mM dan 20 mM selama 6 dan 12 jam. Daun interflush kedua dari bibit kakao mutan yang berumur 4 bulan dipergunakan untuk uji ketahanannya terhadap *P. palmivora*. Hasil penelitian menunjukkan perlakuan EMS dapat menginduksi keragaman genetik bibit kakao yang menghasilkan mutan-mutan dengan tingkat ketahanan yang berbeda. Hasil uji ketahanan bibit kakao terhadap *P. palmivora* menunjukkan 14 kakao mutan termasuk kategori resistan dan 16 kakao mutan tergolong moderat terhadap *P. palmivora*. Kandungan total fenolik pada kakao tahan dan moderat tahan menunjukkan adanya peningkatan. Kandungan karbohidrat seperti glukosa, sukrosa dan amilum pada kakao tahan dan moderat tahan juga mengalami perubahan. Pada beberapa kakao mutan menunjukkan adanya perubahan pola pita protein sebagai indikasi awal adanya proses mutagenesis pada benih kakao.

Kata kunci : Ethyl Methane Sulfonate (EMS), induksi mutagenesis, benih kakao, ketahanan terhadap *P. palmivora*

Induction of Resistance of Cocoa (*Theobroma cacao* L.) seeds to *Phytophthora palmivora* with Ethyl Methane Sulfonat (EMS) as Mutagen

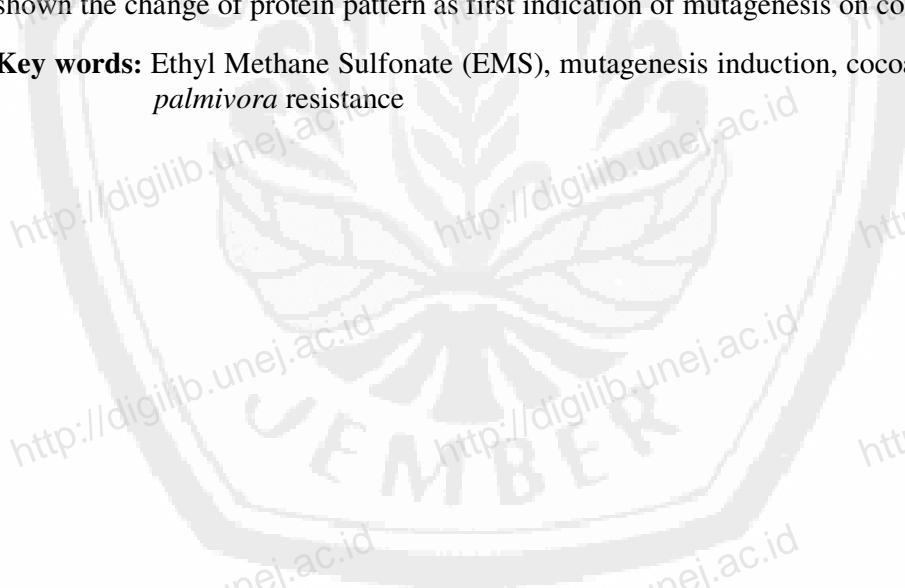
Abstract

Ali Muhammad Yusuf Shofa, S.Si.

Program Studi Agronomi Program Magister Fakultas Pertanian Universitas Jember

Mutagenesis of cocoa (*Theobroma cacao* L.) seeds by Ethyl methane sulfonate (EMS) have been applied to induced its resistance from *Phytophthora palmivora* caused pod rot in cocoa plantation. The cocoa seeds were treated with 10 mM and 20 mM of EMS solution for 6 h and 12 h. The second interflush of leaves of mutanic cocoa seedling were harvested after 4 months old, to perform leaf inoculation test as screening methods of *P. palmivora* resistance. The result shown that EMS treatment could induce genetic variability of cocoa seedling that produced differentiation of mutanics cocoa resistance. There were 14 and 16 mutanic cocoa have leveled as resistant and moderate resistant respectively from *P. palmivora*. Both of resistant and moderate resistant cocoa shown increasing in total phenolic content and changing in carbohydrates content such as glucose, sucrose and amilum. Several mutans of cocoa shown the change of protein pattern as first indication of mutagenesis on cocoa seeds.

Key words: Ethyl Methane Sulfonate (EMS), mutagenesis induction, cocoa seeds, *P. palmivora* resistance



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
HALAMAN MOTTO	vi
KATA PENGANTAR	vii
RINGKASAN	viii
ABSTRAK	x
ABSTRACT	xi
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Permasalahan.....	4
1.3 Tujuan	4
1.4 Manfaat	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Sistematika Tanaman Kakao (<i>Theobroma cacao</i> L.).....	5
2.2 Jenis Klon Kakao yang dibudidayakan di Indonesia	6
2.3 Penyakit Busuk Buah Kakao	7
2.3.1 Gejala dan Tanda Penyakit Busuk Buah Kakao.....	7
2.3.2 Penyebaran penyakit busuk buah kakao	8
2.4 <i>Phytophthora palmivora</i>	8
2.4.1 Siklus hidup <i>P. palmivora</i>	9
2.4.2 Karakteristik morfologi dan patogenitas <i>P. palmivora</i> asal Indonesia.....	10
2.5 Ketahanan Alami Tanaman	11

2.6 Upaya peningkatan ketahanan kakao terhadap serangan penyakit..	12
2.7 Induksi mutagenesis dalam upaya peningkatan ketahanan tanaman	13
2.8 <i>Ethyl methane sulfonate</i> (EMS).....	13
2.9 Seleksi ketahanan bibit kakao terhadap <i>P. palmivora</i>	14
2.10 Hipotesis.....	15

BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	16
3.2 Bahan dan Alat.....	16
3.3 Pembuatan larutan EMS	16
3.4 Induksi mutagenesis benih kakao dengan larutan EMS	17
3.5 Perkecambahan dan Uji viabilitas benih kakao pasca perendaman EMS.....	17
3.6 Penanaman dan perawatan benih kakao pada media polibag.....	17
3.7 Kultur isolat <i>P. palmivora</i>	17
3.8 Inokulasi <i>P. palmivora</i> dengan metode <i>Mycelial Disc Inoculation</i>	17
3.9 Analisis kandungan total fenol daun.....	20
3.10 Analisis Karbohidrat.....	21
3.11 Analisis protein daun.....	22

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Induksi Mutagenesis benih kakao dengan EMS	25
4.2 Viabilitas benih kakao pasca induksi mutagenesis dengan EMS	26
4.3 Pertumbuhan kakao mutan pasca nduksi mutagenesis dengan EMS	27
4.4 Uji ketahanan kakao mutan terhadap <i>P. palmivora</i>	31
4.5 Kandungan total fenol kakao mutan pada masing-masing tingkat ketahanan.....	37
4.6 Kandungan karbohidrat kakao mutan pada masing-masing tingkat ketahanan	39
4.7 Uji Protein daun kakao mutan pada masing-masing level ketahanan	42

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

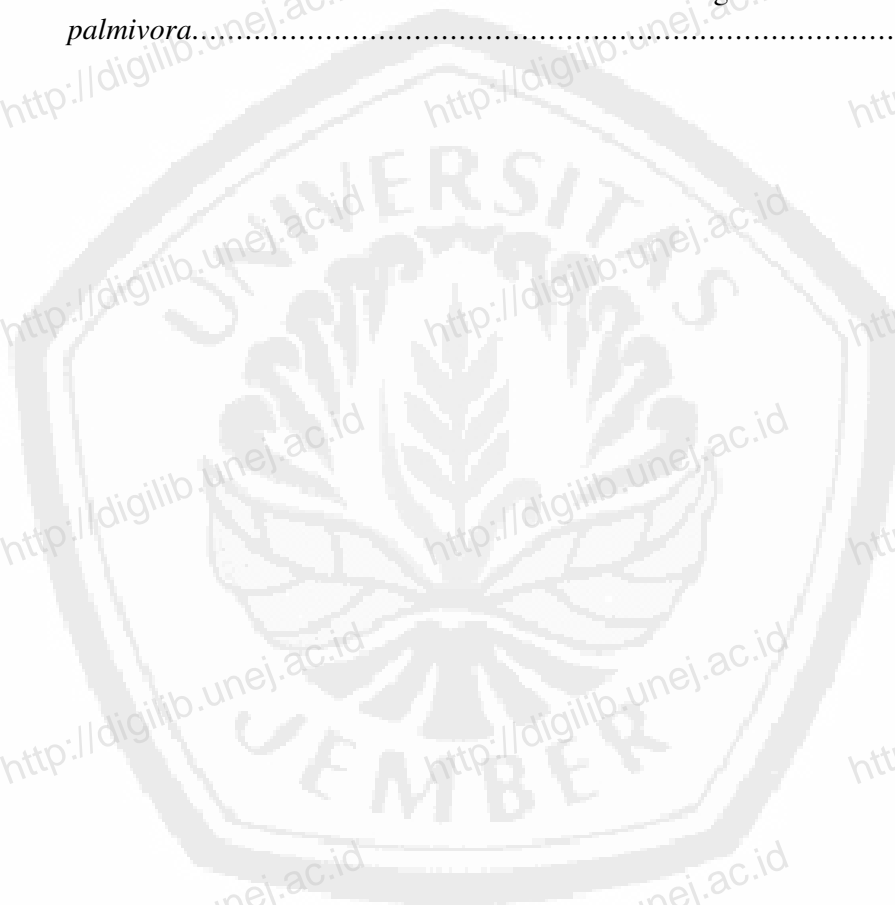
5.1 Kesimpulan.....	46
5.2 Saran.....	46

DAFTAR PUSTAKA

LAMPIRAN

DAFTAR TABEL

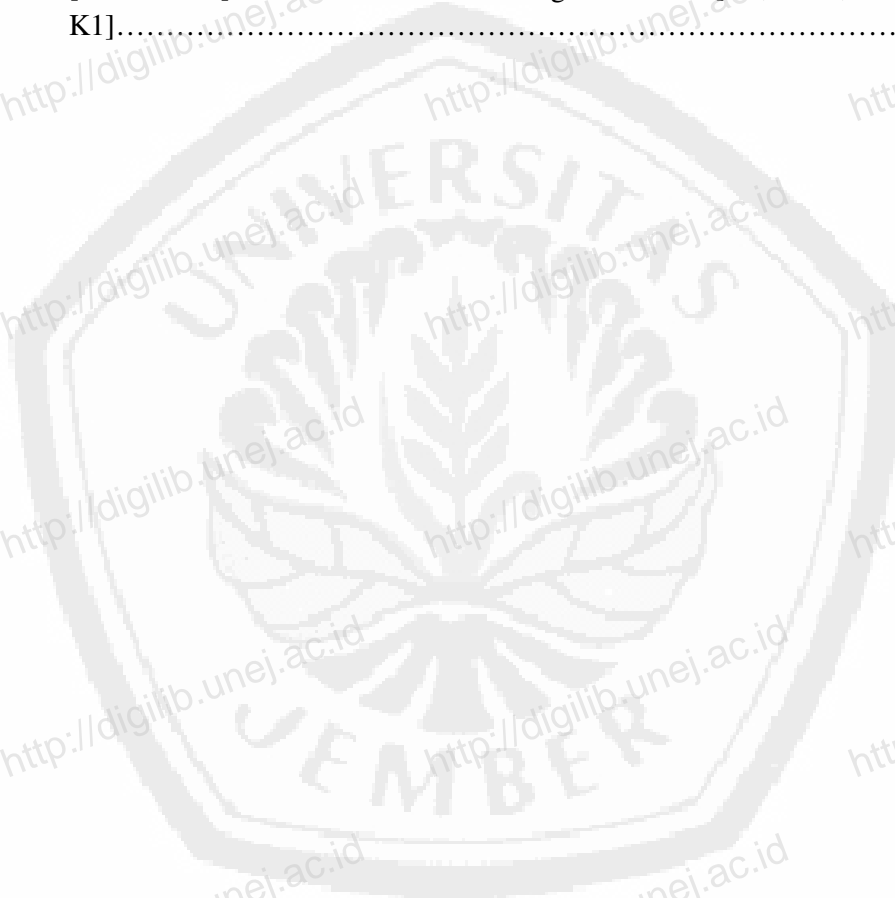
No	Judul	Halaman
2.1	Sifat Fisika <i>Ethyl Methane Sulfonate</i> (EMS).....	14
3.1	<i>Index score</i> pengamatan nekrosis daun kakao pasca inokulasi.....	20
3.2	Komposisi gel elektroforesis untuk uji pola protein sampel daun kakao.....	23
4.1	Hasil seleksi ketahanan aksesi bibit kakao dengan miselia <i>P. palmivora</i>	33



DAFTAR GAMBAR

No	Judul	Halaman
2.1	Penyakit busuk buah kakao yang menyerang perkebunan kakao.....	7
2.2	Siklus hidup <i>P. palmivora</i> (Bult).....	9
2.3	Morfologi isolate <i>P. palmivora</i> (a) Sporangia memiliki papilla yang jelas dengan tangkai pendek panah (b) Klamidiospora.....	11
2.4	Rumus molekul <i>Ethyl methane sulfonate</i> (EMS).....	13
3.1	Proses inokulasi miselia <i>P. palmivora</i> pada aksesi daun kakao. (a) isolat <i>P. palmivora</i> berumur 10 hari (b) bulatan-bulatan miselia pada media <i>oatmeal</i> -agar (c) pengirisan miselia dengan pisau steril (d) inokulasi miselia pada permukaan abaksial daun kakao.....	19
4.1	Kemampuan benih berkecambah pasca perlakuan perendaman EMS.....	27
4.2	Aksesi bibit kakao usia 4 bulan yang ditanam di dalam <i>green house</i> (a) kontrol/tanpa perendaman EMS (b) perlakuan EMS 10 mM selama 6 jam (c) perlakuan EMS 10 mM selama 12 jam (d) perlakuan EMS 20 mM selama 6 jam (e) perlakuan EMS 20 mM selama 12 jam.....	28
4.3	Grafik pertumbuhan tinggi tanaman pada aksesi bibit kakao	29
4.4	Grafik pertambahan jumlah daun pada aksesi bibit kakao.....	30
4.5	Grafik pertumbuhan diameter batang pada aksesi bibit kakao.....	31
4.6	Usia daun menurut <i>stage</i> pada duduk daun aksesi bibit kakao (a) daun flush (b) interflush pertama (c) interflush kedua (d) interflush ketiga.....	32
4.7	Keempat belas Kakao mutan kategori tahan.....	34
4.8	Keenam belas Kakao mutan kategori moderat.....	35
4.9	Beberapa contoh kakao mutan dan kontrol yang termasuk kategori rentan.....	36
4.10	Kandungan total fenolik ekstrak daun aksesi bibit kakao pada masing-masing level ketahanan.....	38
4.11	Kandungan glukosa ekstrak daun aksesi bibit kakao pada masing-masing level ketahanan.....	40

4.12 Kandungan sukrosa ekstrak daun aksesi bibit kakao pada masing-masing level ketahanan.....	40
4.13 Kandungan Amilum ekstrak daun aksesi bibit kakao pada masing-masing level ketahanan.....	42
4.14 Kandungan protein dalam ekstrak daun aksesi bibit kakao pada masing-masing level ketahanan.....	43
4.15 Pola pita protein untuk kakao mutan (a) kategori tahan [A25 – D7] dan kakao mutan kategori moderat [A30 – A28] (b) kategori moderat [B20 – D5] dan kakao mutan kategori rentan [K1, K15, K9, K1].....	44



DAFTAR LAMPIRAN

No	Judul	Halaman
A.	Data Morfologi Kakao mutan Pra <i>Screening</i>	51
B.	Hasil <i>Scoring</i> Hari ke-6 Inokulasi miselia <i>P. palmivora</i>	52
C.	Data Morfologi Kakao mutan Pasca <i>Screening</i>	59
D.	Kandungan Total Fenolik daun Kakao mutan Pasca <i>Screening</i>	60
E.	Kandungan Karbohidrat daun Kakao mutan Pasca <i>Screening</i>	62
F.	Kandungan Protein daun Kakao Mutan Pasca <i>Screening</i>	67

