



**VARIASI GENETIK KLON KAKAO (*Theobroma cacao* L.) DI DESA SAUSU PEORE
KAB. PARIGI MOUTONG**

**GENETIC VARIATION ON CLONES OF COCOA (*Theobroma cacao* L.) IN SAUSU
PEORE VILLAGE OF PARIGI MOUTONG REGENCY**

Rahmansyah^{1*}, Mutmainah¹, Muslimin², I Nengah Suwastika¹

¹Lab. Bioteknologi Jur. Biologi Fakultas MIPA, Universitas Tadulako, Kampus Untad Tondo-Palu 94118

²Lab. Bioteknologi Fakultas Kehutanan, Universitas Tadulako, Kampus Untad Tondo-Palu 94118

ABSTRACT

Description on cacao properties is very important in order to support the breeding program and improvement on productivity of cacao beans. Therefore, it is important to identify the diversity of cacao varieties over the area of cacao production centre. This research was aimed to identify the genetic variation of several cacao clones (45, M 05, 06, Green Local Sausu, and Red Local Sausu) at Sausu Peore village, Parigi Moutong regency. The genetic identification was based on RAPD approach by using 4 different kinds of primers (TCL05, TCH05, AS9870, and TCM20) and phenotype observation on pod morphology. Pod samples were collected during harvesting period of February- May 2014. The result showed that there were genetic variation among the fifth clones. The amplification process was produced 17 DNA bands consisting of 12 polymorphic bands (70,59% polymorphism level). The genetic variation also supported by the differences on pod morphology of each clones.

Key Words : *Cacao, Morphology, RAPD, Genetic Variation.*

ABSTRAK

Informasi tentang keragaman tanaman kakao sangat diperlukan untuk mendukung program pemuliaan dan pengembangan tanaman dalam meningkatkan produktivitas biji kakao. Untuk itu penting dilakukan identifikasi keragaman varietas pada berbagai daerah sentra produksi biji kakao. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui variasi genetik kakao klon 45, M 05, 06, Lokal Hijau Sausu dan Lokal Merah Sausu di desa Sausu Peore, Kab. Parigi Moutong. Identifikasi variasi genetik didasarkan pada teknik RAPD dengan menggunakan 4 macam primer yaitu TCL05, TCH05, AS9870, dan TCM20. Identifikasi juga dilakukan pada morfologi buah. Buah kakao diambil pada musim berbuah bulan Februari-Mei 2014. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kelima klon memiliki variasi genetik. Total pita DNA yang teramplifikasi sebanyak 17 pita. Tingkat polimorfisme sebesar 70,59% (12 pita polimorfic). Variasi genetik ini juga didukung oleh perbedaan morfologi buah pada masing-masing klon.

Kata Kunci : *Buah Kakao, Morfologi, DNA, RAPD.*

1. LATAR BELAKANG

Biji kakao merupakan salah satu komoditas ekspor unggulan pada sektor perkebunan di Indonesia khususnya di Sulawesi Tengah (Dirjen Perkebunan Sulteng, 2012). Hal ini karena biji kakao banyak diminati di pasaran internasional dimana setiap tahunnya terus mengalami peningkatan permintaan (ICCO, 2012). Untuk itulah perkebunan kakao terus mendapat perhatian untuk dikembangkan utamanya mengarah pada peningkatan jumlah produksi, mutu biji dan sedikitnya ke perluasan areal perkebunan (Mertade dan Basri, 2011).

Dalam meningkatkan jumlah produksi dan mutu biji kakao, aspek yang paling diperhatikan adalah penggunaan bibit unggul (Mertade dan Basri, 2011). Oleh karenanya bibit unggul haruslah memiliki ciri berdaya hasil yang tinggi, biji yang berkualitas tinggi, dan resisten terhadap serangan hama dan penyakit. Bibit unggul diperoleh dari hasil eksplorasi langsung di lapangan (perkebunan) tetapi dalam pengembangannya, bibit unggul dirakit dari persilangan tetua-tetua yang memiliki keunggulan yang diinginkan. Keberhasilan usaha perakitan bibit unggul sangat bergantung dari tersedianya informasi yang akurat tentang keragaman varietas/klon

tanaman kakao (Rubiyo, 2009). Maka dari itu, penting untuk dilakukan identifikasi keragaman kakao di berbagai daerah sentra produksi kakao.

Keragaman genetik tanaman dapat diidentifikasi dengan pengamatan langsung pada morfologi maupun dengan menggunakan penanda molekuler. Penggunaan penanda molekuler memiliki beberapa keuntungan dalam membantu pemuliaan, karena dapat digunakan untuk: (1) analisis pautan dan pemetaan genetik, (2) identifikasi genotipe, (3) menduga keragaman genetik dan kekerabatan inter dan intra spesies (varietas) (Kurniasih dkk., 2011).

Salah satu penanda molekuler yang telah diaplikasikan secara luas ialah RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*). Teknik RAPD telah digunakan dalam analisis keragaman genetik kakao (Figueira *et al.*, 1992), identifikasi plasma nutfah jeruk (Karsinah dkk., 2002), dan pemetaan gen letal *Luteus-Pa* tanaman kakao (Rehem *et al.*, 2010).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui variasi genetik kakao di desa Sausu Peore. Hasil penelitian ini juga diharapkan bermanfaat dalam pemuliaan dan menjaga plasma nutfah cacao dari Sulawesi Tengah.

2. BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan pada bulan Februari-Mei 2014 di Lab. Bioteknologi FMIPA UNTAD. Bahan tanaman yang digunakan adalah kakao klon 45, M 05, 06, Lokal Hijau Sausu (LH) dan Lokal Merah Sausu (LM) yang dikoleksi dari Kebun Belajar di desa Sausu Peore.

Identifikasi genetik kakao dilakukan melalui teknik RAPD dengan menggunakan 4 macam primeryaitu 1) TCH05 'AGTCGTC CCC', 2) TCL05 'ACGCAGGCAC', 3) AS9870 'TTCCCCGCC', dan 4) TCM20 'AGGTCTT GGG'. Ekstraksi genom kakao berdasarkan metode yang telah dilakukan oleh Saunders (2004) dan Figueira *et al.*, (1992) yaitu dengan menggunakan daun muda dari setiap klon. Tahapan ekstraksi mengikuti prosedur dalam Handbook *DNeasy® Plant Mini Kit (Qiagen)*.

Amplifikasi PCR dilakukan dengan volume 20 µL yang terdiri dari 1 µL(4ng) DNA template, 10 µL *Quick Taq® HS DyeMix (Toyobo)*, 10 pmol primer RAPD dengan pelarut Milli Q. Proses reaksi PCR terdiri dari: Predenaturation 94°C selama 2 menit; Denaturasi 94°C selama 30 detik, Annealing 30°C selama 30 detik, dan Extension 68°C selama 3 menit. Tahap

perbanyak DNA dilakukan sebanyak 30 siklus.

Pada tahap Elektroforesis pemisahan DNA digunakan gel agarose 1% dengan pewarna Etidium Bromida, larutan buffer TAE, dan DNA ladder Maestrogene (10 – 0,25 Kbp). Mesin elektroforesis dilakukan selama 30 menit. Hasil elektroforesis divisualisasi menggunakan *UV transiluminator* dan dipotret.

Pengamatan morfologi dilakukan pada buah yang telah matang (anthesis). pengamatan meliputi bentuk buah, basal, apeks (Engels *et al.*, 1980), permukaan buah, alur buah, warna buah saat muda dan matang, serta warna kotiledon biji.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa klon kakao di desa Sausu Peore memiliki genetik yang berbeda-beda. Variasi genetik yang diperoleh melalui teknik RAPD didukung oleh adanya variasi pada morfologi buah masing-masing klon (Gambar1 dan 2). Teknik RAPD merupakan salah satu teknik yang efisien dalam melihat kekerabatan atau keragaman genetik antar individu (Figueira *et al.*, 1994;).

Keempat macam primer yang digunakan dapat memperlihatkan dengan baik variasi genetik antar klon 45, M 05, 06,

LH dan LM. Pita DNA yang diperoleh berkisar antara 0,6 Kbp hingga 3 Kbp (Gambar 1). Total pita DNA yang dihasilkan adalah 17 pita dengan pita polymorphic sebanyak 12 pita (70,59%) dan 5 pita yang monomorphik (29,41%). Primer TCH05 menghasilkan pita DNA paling banyak yaitu 5 pita polimorphik dan 1 pita monomorphik (Tabel 1).

Pola pita yang berbeda (polimorphik) menunjukkan adanya variasi genetik pada klon-klon tersebut. Semakin tinggi tingkat polimorfisme menunjukkan tingkat keragaman genetik diantara individu-individu plasma nutfah juga semakin tinggi (Wulandari, 2008). Maka dari itu, semakin banyak primer yang digunakan akan semakin akurat data keragaman yang diperoleh. Hal ini karena genom individu akan semakin terwakili dari berbagai primer yang berpasangan di genom individu tersebut (Karsinah dkk., 2002).

Hasil analisa RAPD kakao menunjukkan bahwa pola pita LH dan LM tidak dapat dibedakan dengan primer AS987, tetapi primer lainnya dapat membedakan kedua klon tersebut (Gambar 1). Pola pita yang berbeda menunjukkan kedua klon kemungkinan berasal dari induk yang berbeda walaupun sama-sama tergolong

Lokal Sausu. Perbedaan juga secara jelas terlihat dari warna buahnya (Gambar 2).

Berdasarkan morfologi buah, klon 45 sangat mudah dibedakan dengan klon lainnya. Karakter morfologi buah yang mencolok adalah ukuran buah yang paling besar, kulit buah paling kasar dan warna buah yang beragam ketika matang (Tabel 2).

Variasi fenotip suatu tanaman dapat dipengaruhi oleh faktor lingkungan. Tanaman dari satu jenis/varietas dapat memperlihatkan morfologi yang berbeda pada lingkungan yang berbeda. Untuk itu, perlu dilakukan identifikasi hingga ke genetiknya sehingga keragaman dapat diketahui secara pasti. Efombagn (2009) melaporkan kakao FA (di Kamerun) yang secara molekuler dengan menggunakan teknik SSRs tidak memperlihatkan perbedaan genetik namun memiliki perbedaan pada morfologi buah dengan geografis yang berbeda.

Dalam penelitian ini, meskipun hanya menggunakan 4 macam primer dengan jumlah pita polimorphik sebanyak 12 pita, tetapi dapat disimpulkan bahwa klon 45, M 05, 06, LH dan LM berbeda secara genetik. Hal ini didukung juga dengan perbedaan pada morfologi buahnya. Pola pita DNA kakao yang diperoleh dari penelitian ini dapat dimanfaatkan sebagai penanda suatu

klon (varietas). Namun demikian, masih perlu juga dilakukan pengujian/ identifikasi terhadap genetik klon-klon kakao yang lain. Selain itu, disarankan untuk melakukan seleksi primer lain yang dapat menghasilkan pita spesifik maupun tingkat polimorfisme yang tinggi.

4. UCAPAN TERIMAKASIH

Penelitian ini disponsori oleh *Bilateral Exchange Program JSPS (Japan Society for the Promotion of Science) – DGHE (Directorate General of Higher Education) Joint Research Project 2013-2016*, Pusat Studi Bioteknologi UNTAD, dan Research grand Kerjasama Luar Negeri dan Publikasi Internasional th 2014. Kami juga berterimakasih kepada Prof. Takashi Shiina and Yoko Ishizaki of Kyoto Prefectural University atas kerjasamanya dalam penelitian, dan ibu Sami Bukang S.P atas pelayanannya di Lab. Bioteknologi FMIPA Untad.

5. DAFTAR PUSTAKA

Dirjen Perkebunan Sulteng, 2012, *Kakao Hasil Perkebunan Yang Menyumbang Devisa Paling Besar*, <http://www.perkebunan.sulteng.com/category/artikel> (Diunduh pada tanggal 3 Juni 2014).

Efombagn, M. I. B., O. Sounigo, S. Nyasse, M. Manzanares-Dauleux, A. B. Eskes. 2009. *Phenotypic variation of cacao (Theobroma cacao L.) on farms and in the gene bank in Cameroon*. Journal of Plant Breeding and Crop Science Vol. 1(6) : 258-264.

Engels, J., Bartley, B. and Enriquez, C. eds., 1980. *Cacao Descriptors, Their States and Modus Operandi*, Turrialba, Costa Rica : CATIE.

Figueira, A., Janick, J., and Goldsbrough, P., 1992, *Genome Size and DNA Polymorphism in Theobroma cacao*, J. Amer. Soc. Hort. Sci, 117(4) :673–677.

Figueira, A., Janick, J., Levy, M., and Goldsbrough, P., 1994, *Reexamining the Classification of Theobroma cacao L. Using Molecular Markers*, J. Amer. Soc. Hort. Sci, 119(5) :1073–1082.

ICCO, 2012, *The World Cocoa Economy: Past and Present*, <http://www.icco.org>(diakses pada tanggal 31 Desember 2013).

Karsinah, Sudarsono, Setyobudi, L., & Aswidinnoor,H., 2002, *Keragaman genetik plasma nutfah jeruk berdasarkan analisis penanda RAPD*, J. Bioteknologi Pertanian, 7(1): 8–16

Kemenperin, 2007, <http://www.kemenperin.go.id/download/290/Paket-Infoformasi-Komoditi-Kakao>,(diakses pada tanggal 1 Januari 2014).

Kurniasih,S., Rubiyo, Setiawan, A., Purwantara, A., dan Sudarsono, 2011, *Analisis*

Keragaman Genetik Plasma Nutfah Kakao (Theobroma cacao L.) Berdasarkan Marka SSR, Jurnal LITTRI, 17(4): 156-162.

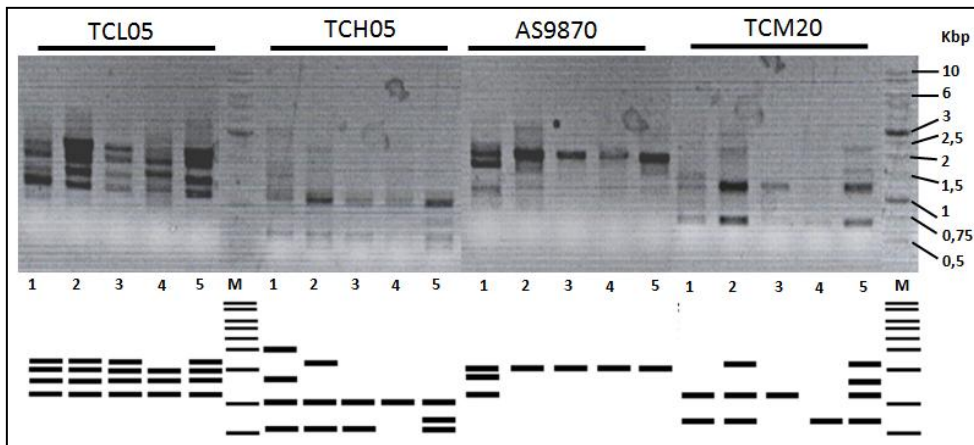
Mertade, N. dan Basri, Z., 2011, *Pengaruh diameter pangkal tangkai daun pada entres terhadap pertumbuhan tunas kako*, Media Litbang Sulteng IV(1): 01-07.

Rehem, B. C., Almeida, A. F., Corrêa, R. X., & Gesteira, A. S., 2010, *Genetic mapping of Theobroma cacao (Malvaceae) seedlings of the Parinari series , carriers of the lethal gene Luteus-Pa*, Genetics and Molecular Research, 9(3):1775–1784.

Rubiyo, 2009, *Kajian Genetika Ketahanan Tanaman Kakao (Theobroma cacao L.) Terhadap Penyakit Busuk Buah (Phytophthora palmivora Butl.) Di Indonesia*, Disertasi, Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.

Saunders, J. A., Mischke, S., and Leamy, E. A., 2004, *Selection of international molecular standards for DNA fingerprinting of Theobroma cacao*, Theor Appl Genet, 110: 41–47.

Wulandari, Y., 2008, *Analisis Keragaman Genetik Kayu Afrika (Maesopsis eminii Engl.) Berdasarkan Penanda Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)*, Skripsi, IPB.

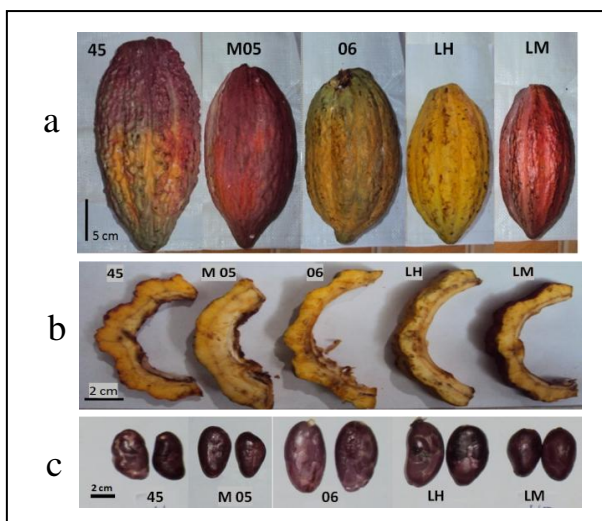


Gambar 1: Profil pita DNA hasil amplifikasi menggunakan primer TCL05, TCH05, AS 9870, dan TCM 20

Ket. : 1= klon M 05; 2= klon 45; 3= klon LM; 4= klon LH; 5= klon 06; M = marker (DNA Ladder Maestrogen, 10 Kbp-0,25 Kbp).

Tabel 1. Jenis primer dan jumlah pita yang teramplifikasi

No.	Primer	Urutan basa	Jumlah pita	monomorpik	polymorpik
1	TCL05	'ACGCAGGCAC'	4	3	1
2	TCH05	'AGTCGTCCCC'	6	1	5
3	AS9870	'TTCCCCGCCC'	3	1	2
4	TCM20	'AGGTCTTGGG'	4	0	4
5	TC330	'CGGTTTCGTA'	-	-	-
6	TC329	'CAAAGTAGCC'	-	-	-
Total pita			17	5	12



Ket.: a. Morfologi buah pada saat matang. Klon 45 memiliki ukuran buah paling besar, kulit sangat kasar dan warna buah yang beragam.
b. Penampang melintang kulit buah. Kulit buah klon 06 paling tipis dan klon 45 paling tebal dan memiliki alur paling dalam.
c. Morfologi biji basah setelah testa dikupas. Semua klon memiliki kotiledon berwarna ungu tua. Klon 06 memiliki ukuran biji paling besar.

Gambar 2. Morfologi buah dan biji klon 45, M 05, 06, LH dan LM.

Variasi Genetik Klon Kakao (*theobroma cacao* L.) di Desa Sausu Peore Kab. Parimo
(Rahmansyah dkk)

Tabel 2. Pengamatan morfologi buah dan biji

Parameter Pengamatan	LH	LM	M 05	06	45
Bentuk Buah	Ellips(lonjong)	Ellips(lonjong)	Ellips (lonjong)	Oblong (memanjang)	Oblong (memanjang)
Apeks Buah	Acute (runcing)	Acute (runcing)	Acute (runcing)	Mammelate (memuting)	Attenuate (meruncing)
Basal Buah	Slight (berlekuk)	Slight (berlekuk)	Intermediate (agak berlekuk) – Slight (berlekuk)	Absent (tidak berlekuk)– intermediate (agak berlekuk)	Strong (sangat berlekuk)
Permukaan Buah	Halus – Agak Kasar	Halus – Agak Kasar	Agak Kasar	Kasar	Sangat kasar
Alur Buah	Dangkal	Dangkal	Agak Dalam	Dalam	Sangat Dalam
Warna Buah Muda	Hijau	Merah	Merah Keabuan	Hijau	Merah dan hijau
Warna Buah Matang	Kuning	Orange	Orange	Kuning	Orange dan Kuning
Warna kotiledon*	Ungu tua	Ungu tua	Ungu tua	Ungu tua	Ungu tua

Ket. : Pengamatan morfologi buah berdasarkan pada kriteria Engels *et al.*(1980).

* warna kotiledon dilihat pada biji basah dengan mengupas kulit ari (testa)