

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia dikenal dengan sebutan negara yang agraris karena memiliki iklim tropis dimana curah hujan yang tinggi dan kesuburan tanah yang baik sehingga memungkinkan sebagian besar penduduknya memilih untuk berprofesi sebagai petani. Kakao atau yang biasa dikenal dengan nama latin *Theobroma cacao*. merupakan salah satu komoditas unggul yang banyak dibudidayakan oleh petani lokal Indonesia. Pada tahun 2020, Indonesia merupakan penyumbang terbesar ke-3 dalam ekspor kakao ke luar negeri setelah Pantai Gading dan Ghana dengan jumlah kontribusi sebesar 10% tiap tahunnya (FAOSTAT, 2022). Adapun wilayah dengan produksi biji kakao terbesar diduduki oleh Provinsi Sulawesi Tengah. Pada tahun 2020, tercatat sekitar 128,62 ribu ton atau 17,85% dari total produksi yang dihasilkan dengan luas areal sebaran perkebunan 278 ribu hektar. Namun di sisi lain Provinsi Sumatera Utara menempati posisi tertinggi dalam segi produktivitasnya dengan kisaran yang dihasilkan sebesar 969 kg/ha (Badan Pusat Statistik, 2020).

Diketahui bahwasanya seiring dengan peningkatan hasil produksi yang didapatkan, tanaman kakao sendiri tidak lepas dengan permasalahan yang dialami oleh petani yakni serangan Organisme Pengganggu Tanaman (OPT). Setiap tahunnya ada berbagai macam kerugian yang ditimbulkan akibat serangan OPT tersebut. Penyakit yang sering dijumpai pada tanaman kakao adalah penyakit yang disebabkan oleh patogen cendawan/cendawan, sedangkan bakteri atau virus jarang dijumpai dan tidak menimbulkan kerusakan yang berarti. Contoh penyakit penting pada tanaman kakao di antaranya yakni busuk buah kakao (*Phytophthora palmivora*), *Vascular Sreak Dieback* (VSD) (*Oncobasidium theoromae*), kanker batang (*Phytophthora palmivora*), antraknosa (*Colletotrichum gloeosporioides*) dan penyakit akar (*Ganoderma pseudoforeum*, *Phellinus noxius*, *Rigidoporus microporus*) (Maryani *et al.* 2019). Adapun gejala berbagai macam hama pada tanaman kakao dapat timbul pada berbagai umur buah, daun, ranting dan juga batang. (Depperin, 2007).

Hama utama pada tanaman kakao yang banyak dijumpai di antaranya yakni kepik penghisap buah (*Helopeltis* spp.), penggerek batang coklat (*Zeuzera coffeaa*), kutu putih (*Planococcus citri*), ulat kilan/ulat jengkal (*Hyposidra talaca*) dan ulat kantong (*Clania* sp., *Mahasena* sp.). Akan tetapi, diantara beberapa hama utama yang disebutkan, hama penggerek buah kakaolah yang dinobatkan sebagai hama yang paling menimbulkan kerusakan tertinggi. Dilaporkan oleh Pertiwi *et al.* (2013), khususnya di Kabupaten Luwu intensitas kerusakan buah akibat serangan hama penggerek buah kakao dengan kategori serangan terberat yakni > 54%.

Kemunculan hama kumbang ambrosia di Indonesia menjadi salah satu hama yang juga dianggap cukup merugikan karena merusak kualitas kayu dari batang pohon. Diduga kemunculan kumbang ini telah masuk di Indonesia sejak

tahun 1980an (Beaver, 2013). Kumbang ambrosia dengan genus *Xyleborus* telah dilaporkan menyerang banyak tanaman hutan dan perkebunan jati di Jawa Timur (Nair, 2007). Selain itu, serangan pada inang lain dengan spesies yang berbeda ditemukan pada tanaman seperti pinus (Sukartana, 1992), kopi (Pramayshela, 2018), dan juga kakao (Asman, 2020).

Kumbang ambrosia sendiri merupakan salah satu hama yang digolongkan sebagai hama penggerek batang. Seluruh aktivitas makannya mereka lakukan di dalam galeri atau bekas gorokan pada batang tersebut. Di dalam galeri terdapat cendawan yang dibudidayakannya secara langsung guna untuk keperluan larvanya sebagai sumber nutrisi (Kirkendall *et al.*, 2015). Tidak banyak juga ditemukan bahwa larva kumbang memakan jaringan pada batang yang sudah terinfeksi pada cendawan tersebut. Adapun cendawan yang dibudidayakan sendiri berasal organ khusus pada kumbang yang disebut dengan *mycangia*. Organ tersebut difungsikan oleh kumbang untuk membawa cendawan simbiotik (Knizek dan Beaver, 2007).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Asman *et al.* (2020), ditemukan kumbang ambrosia dengan spesies *Xylosandrus compactus* yang diduga bersimbiosis dengan beberapa jenis cendawan. Adapun cendawan yang telah berhasil diisolasi dari kumbang ambrosia yakni *Fusarium* spp., *Lasioidiplodia* spp., *Ceratocystis* spp. dan *Diaporthe* spp. Sebagian di antaranya digolongkan sebagai jenis cendawan yang memarasit atau sebagai patogen dan menyebabkan penyakit kanker batang pada pertanaman kakao.

Beberapa contoh kajian penelitian yang telah dilaporkan bahwasanya dampak dari serangan yang dialami oleh tanaman akibat serangan kumbang ambrosia dan hasil simbiosisnya dengan cendawan menimbulkan kerugian yang nyata. Kemunculan kumbang ambrosia seharusnya sudah menjadi hal yang penting untuk menjadi perhatian lebih terkhusus bagi industri tanaman kakao yang memiliki nilai ekonomi yang signifikan (Asman, 2020).

Berdasarkan hasil uraian di atas, maka perlu dilakukannya penelitian terkait identifikasi cendawan patogen yang berasosiasi dengan kumbang ambrosia penyebab penyakit kanker batang khususnya pada tanaman kakao.

1.2 Landasan Teori

1.2.1 Kumbang Ambrosia

Nama kumbang ambrosia merujuk pada sebuah strategi ekologi yang digunakan oleh ribuan spesies kumbang penggerek kayu dari berbagai famili. Istilah dari kumbang ambrosia sendiri pertama kali diperkenalkan oleh Schmidtberger pada tahun 1836, saat ia menemukan larva dari spesies *Xyleborus dispar* (Ordo Coleoptera: Subfamili Scolytinae) di dalam kayu. Namun, ternyata larva kumbang tersebut tidak memakan kayu melainkan bahan yang terdapat di dalam liang gerek yang dibuatnya. Kumbang ambrosia ini awalnya dilaporkan berasal dari Amerika Selatan dan Tengah hingga pada akhirnya diketahui telah menyebar ke Indonesia sekitar tahun 1980 (Beaver, 2013). Kumbang ambrosia merupakan salah satu kelompok kumbang yang menjalin simbiosis dengan cendawan di dalam lubang yang mereka buat di pohon (Farrell *et al.*, 2001). Mereka menyerang tanaman berkayu

atau pohon yang masih hidup, namun beberapa diantara spesies lainnya juga hidup dan berkembang pada pohon-pohon yang telah mati (Bateman dan Hulcr, 2014).

Kumbang ambrosia adalah serangga yang tergolong dalam ordo Coleoptera dan terdiri dari dua sub famili, yaitu Scolytinae dan Platypodinae. Saat ini ada sekitar 6.000 spesies dalam keluarga Scolytidae dan 1.400 spesies dalam keluarga Platypodidae (Kirkendall *et al.*, 2015). Keluarga Scolytidae dikenal memiliki keragaman spesies yang sangat banyak di antara kelompok serangga penggerek batang, mereka dapat ditemukan di berbagai belahan dunia (Raffa *et al.*, 2015). Beberapa genus yang termasuk dalam kelompok kumbang ambrosia meliputi Platypodidae di antaranya seperti *Euplatypus* sp, serta dari Scolytidae mencakup berbagai genus seperti *Xylosandrus* sp., *Xyleborus* sp., *Premnobius* sp., *Eccoptopterus* sp., *Hypothenemus* sp., *Xyleborinus* sp., *Euwallacea* sp., *Arixyleborus* sp., *Diuncus* sp., *Coptodryas* sp., dan *Ambrosiodmus* sp. (Tarno *et al.*, 2022). Keberagaman genus tersebut dapat digambarkan bahwasanya spektrum yang luas dari spesies kumbang ambrosia masing-masing memiliki peran ekologis dan karakteristik yang khas.



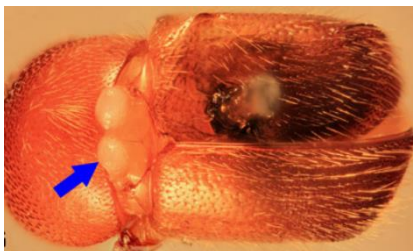
Gambar 1. Kumbang ambrosia *Xylosandrus crassiusculus* (Gomez *et al.*, 2018)

1.2.1.1 Morfologi dan Siklus Hidup Kumbang Ambrosia

Panjang tubuh kumbang ambrosia umumnya berkisar 0,6–5,5 mm (Wood, 2007). Secara melintang, tubuh kumbang ambrosia memiliki bentuk yang silindris. Pada bagian atas tubuh kumbang ambrosia terdapat kepala yang terdiri dari rahang, otot kunyah (mandibula) dan pronotum. Di bagian toraks terdiri 3 bagian di antaranya bagian depan, protoraks yang letaknya pada pangkal elitra hingga ke bagian kepala serta mesotoraks (bagian tengah) terdiri dari permukaan elitra. Ciri khas elitra kumbang ambrosia dapat dilihat dari posisi dan kemiringannya yang dapat berubah secara bertahap. Elitra terletak pada bagian ventral dada dan perut yang memberikan perlindungan tambahan khususnya pada bagian tubuh yang lebih lembut (di bawahnya). Selain itu, bentuk elitra yang khas terdapat duri dan rambut yang tidak hanya memperkuat fungsinya sebagai pelindung tetapi juga memberikan penampilan yang membedakannya dari struktur lainnya. Kumbang ambrosia memiliki mata yang besar pipih dan antena pendek sehingga dapat dilipat ke dalam tubuhnya. Ciri khusus dari rahang kumbang ambrosia lebih besar dibandingkan kebanyakan kumbang lainnya yang dilihat dari mandibula pendek dan tebal serta mempunyai otot-otot yang melekat kuat (Kirkendall *et al.*, 2015). Pada umumnya, kedua famili kumbang ambrosia mempunyai struktur tubuh yang hampir mirip. Akan tetapi pada masing-masing dari kedua famili tersebut masih juga memiliki perbedaan khususnya di bagian ujung anterior (pronotum) dan ujung posterior (posisi kemiringan elitra).

Selain itu, pada kelompok famili Scolytidae di bagian kepala kumbang ambrosia hampir ditutupi seluruhnya, sedangkan famili Platypodidae pronotumnya tidak sampai menutup bagian kepala (Hulcr *et al.*, 2015).

Kumbang ambrosia memiliki bagian organ khusus yang dikenal dengan sebutan *mycangia*. Organ ini difungsikan untuk menyimpan dan mengangkut spora cendawan simbiotik ketika berpindah dari satu inang ke inang lainnya. Letak dan struktur *mycangia* sangat bervariasi pada tubuh kumbang ambrosia tergantung dari spesies kumbang tersebut. *Mycangia* dapat ditemukan di beberapa bagian tubuh kumbang ambrosia seperti mandibular, pronotum atau mesonotum, propleuron, coxal dan juga elitra (Knížek dan Beaver, 2007). Spora dari cendawan yang disimpan di *mycangia* dan berguna bagi kumbang betina dewasa untuk mengebor dan membuat galeri untuk bertelur (Harrington *et al.*, 2008). Setelah menetas menjadi larva, larva membangun galeri tunggal dan bersimbiosis dengan cendawan (Hulcr & Stelinski, 2017).



Gambar 2. Posisi letak *Mycangia* pada *Xylosandrus crassiusculus* (You Li *et al.*, 2018)

Kumbang ambrosia memiliki siklus metamorfosis yang sempurna. Sama seperti dengan kumbang pada umumnya. Perkembangan hidup dari kumbang ambrosia berturut-turut dimulai pada stadia telur, larva, pupa kemudian imago (Furniss & Carolin, 1977). Reproduksi seksual kumbang ambrosia dimulai pada saat kumbang betina dan kumbang jantan dewasa bekerja sama di dalam lubang kulit pohon yang masih hidup. Selama proses tersebut terjadi, kumbang jantan membuat lubang baru yang berfungsi sebagai tempat khusus untuk kumbang betina bertelur dan meletakkan telur di dalamnya. Telur-telur ini diletakkan secara berkelompok dalam ruang kecil yang telah disediakan dan proses peletakkannya dilakukan secara bergantian oleh betina (Wood, 2007; Raffa *et al.*, 2015).

Telur kumbang ambrosia memiliki ciri berbentuk oval, berwarna putih transparan, bertekstur halus serta berbagai macam variasi ukuran di antara kelompok-kelompoknya. Masa inkubasi telur tersebut berlangsung selama 7–10 hari sebelum menetas. Setiap kumbang betina akan meletakkan satu telur di dalam lubang yang sudah disiapkan sebelumnya dan telur tersebut dilindungi dengan fras atau bekas gerakan kayu oleh imago kumbang ambrosia. Proses peletakan telur biasanya dilakukan secara tunggal di dalam relung yang terdapat pada sistem galeri. Pada kondisi lainnya telur juga diletakkan di sepanjang sisi galeri tersebut (Wood, 2007; Raffa *et al.*, 2015). Larva dari kumbang ambrosia memiliki ciri khas berupa warna putih dan bentuk seperti huruf C, tanpa tungkai, tubuh yang sklerotid lunak serta kepala berwarna coklat yang tetap konstan sepanjang pertumbuhannya. Pada

kondisi ideal, perkembangan larva akan memakan waktu hingga 30 – 90 hari. Larva kumbang ambrosia aktif memakan jaringan floem pada pohon yang dapat menyebabkan kerusakan parah bahkan kematian pohon tersebut (Dodds *et al.*, 2001). Setelah penyelesaian tahapan larva, mereka akan bertransformasi menjadi pupa di dalam lubang gerakan yang telah dibuat. Selama fase ini mereka juga mengonsumsi cendawan yang tumbuh di dinding lubang. Dalam proses metamorfosisnya, larva kumbang ambrosia melewati tiga hingga lima instar. Instar terakhir menunjukkan bentuk tubuh yang lebih lurus dan ukuran pronotum yang lebih besar dibandingkan kepala (Silva *et al.*, 2013). Diantara spesies larva lainnya mungkin awalnya beraktivitas di lapisan kulit bagian dalam pohon sebelum berpindah ke bagian kulit luar (Raffa *et al.*, 2015).

Setelah fase larva berakhir, pupa terbentuk di dalam lubang yang telah dibersihkan dari sisa fras dengan ciri berwarna putih dan lebih besar dari imagonya. Lama fase ini berkisar di waktu rata-rata 6 hingga 9 hari untuk menjadi imago. Akan tetapi pada beberapa kelompok dalam famili Scolytidae, fase pupa dapat berlangsung selama 2 hingga lebih dari 30 hari. Pupa biasanya ditemukan di bagian atas dan bawah lubang gerakan pada ujungnya. Setelah periode pupa berlangsung sekitar 5 – 10 hari, pupa akan berubah menjadi imago muda. Pada saat transformasi menjadi imago, imago dewasa akan terbang mencari inang atau tempat yang baru untuk bereproduksi dan kemudian membangun sistem galeri baru pada tanaman inang yang sama kemudian menghasilkan keturunan serupa dengan generasi sebelumnya serta melakukan aktivitas lainnya seperti makan. Sebagian spesies mungkin melakukan hibernasi di dalam lubang galeri sebelum muncul sebagai imago yang kemudian akan menggali kulit kayu untuk mencari tempat baru untuk bereproduksi (Raffa *et al.*, 2015). Sebagian imago kumbang ambrosia akan meninggalkan lubang gerakan untuk mencari rumah baru, sedangkan yang lainnya tetap tinggal di dalam lubang tersebut hingga musim semi berikutnya dan mereka akhirnya mati di dalamnya (Silva *et al.*, 2013).



Gambar 3. Siklus hidup *Xyleborus glabratus* (Buss & Flores, 2014)

1.2.1.2 Asosiasi dengan Kumbang Ambrosia

Simbiosis mutualisme yang terjadi antara kumbang ambrosia dengan cendawan yang dibawanya merupakan suatu hal yang berperan penting dalam tatanan siklus kehidupan bagi kumbang ambrosia itu sendiri. Kumbang ambrosia menyediakan sarana untuk cendawan tumbuh serta cendawan tidak lain merupakan sumber nutrisi bagi larva kumbang. Cendawan berkembang biak di dalam kayu pohon baik yang masih hidup maupun yang sudah mati atau terinfeksi. Mereka akan menguraikan senyawa lignoselulosa untuk menghasilkan nutrisi yang dibutuhkan. Kehadiran cendawan tersebut sangat mempengaruhi kelangsungan hidup dan pertumbuhan larva sehingga siklus hidup dari kumbang ambrosia sangat bergantung pada interaksi simbiotik ini (Hulcr & Stelinski, 2017).

Cendawan ambrosia secara umum dikelompokkan ke dalam empat genus mitosporic utama yaitu *Ambrosiella*, *Raffaelea*, *Monacrosporium*, dan *Phialophoropsis*. Selain itu, juga terdapat berbagai genus lain seperti *Fusarium*, *Acremonium*, *Candida*, dan *Graphium* yang juga terkait dengan kelompok cendawan ini (Henriques *et al.*, 2006). Meskipun cendawan dari genus *Ambrosiella* dan *Raffaelea* termasuk dalam kategori non-patogenik, namun kehadiran cendawan patogenik seperti *Fusarium* dan *Ceratocystis* juga dapat dibawa oleh kumbang ambrosia. Hal ini berpotensi menimbulkan kerusakan serius pada tanaman yang terinfeksi. Selain cendawan-cendawan tersebut, mikroba lain yang berasosiasi dengan kumbang ambrosia meliputi *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp., *Acremonium* sp., *Trichoderma* sp., *Gliocladium* sp. dan *Saccharomyces* sp. serta *Candida* sp. (yeast) (Tarno *et al.*, 2016). Beberapa laporan menunjukkan bahwa kumbang ini juga dapat berasosiasi dengan bakteri salah satunya bakteri *Streptomyces* sp. (Tarno *et al.*, 2016). Gejala kerusakan yang disebabkan oleh aktivitas penggerak kumbang ambrosia dapat dilihat pada dahan dan ranting di mana daun menunjukkan tanda-tanda layu dan menguning. Selain itu, batang dan ranting juga mengalami pengeringan di atas lubang penggerak hingga dapat mempercepat kematian cabang dan ranting akibat infeksi cendawan patogenik. Dengan demikian, interaksi antara kumbang ambrosia dan mikroba yang dibawanya berpotensi menyebabkan dampak yang merugikan bagi kesehatan tanaman (Indriati *et al.*, 2017).

1.2.1.3 Gejala dan Dampak Kerusakan dari Serangan Kumbang Ambrosia

Kumbang ambrosia umumnya mengincar tanaman dalam keadaan stres atau berada dalam kondisi kesehatan yang buruk. Namun, terdapat beberapa spesies yang memiliki perilaku agresif dan dapat menyerang tanaman yang tampak sehat. Beberapa jenis kumbang ambrosia menyerang tanaman pada fase pembibitan yang dapat menyebabkan kerusakan parah, layu dan bahkan kematian pada pohon (Reding *et al.*, 2010). Serangan awal pada kayu sering kali dipicu oleh adanya zat-zat tertentu di dalam kayu yang merangsang kedatangan kumbang melalui sinyal olfaktorik dan mendorong mereka untuk melakukan penggerak dengan rangsangan gustatorik. Zat-zat tersebut diduga terdapat pada kulit kayu atau bagian dalam kayu itu sendiri (Beaver, 2013). Serangan terjadi ketika kumbang ambrosia

membawa cendawan simbiotik ke dalam jaringan tanaman kemudian menyusup hingga ke bagian xilem pada tanaman. Hal ini mengganggu proses pengangkutan air yang sangat penting bagi kelangsungan hidup tanaman. Gangguan yang ditimbulkan oleh cendawan terhadap jaringan pengangkut xilem dapat dikenali melalui perubahan warna yang muncul pada xilem tersebut (Fraedrich *et al.*, 2008). Permukaan pohon yang terinfeksi umumnya menunjukkan lubang-lubang kecil berbentuk lingkaran dengan diameter sekitar 1–2 mm. Saat kumbang ambrosia menggerek kayu, mereka mengeluarkan serbuk gergaji halus yang panjang dan tipis sehingga dapat terlihat dengan jelas di permukaan kayu (Dzurenko & Hulcr, 2022). Dua jenis fras yang dihasilkan oleh kumbang ambrosia yaitu fras berserat dan fras yang menyerupai bubuk dimana hal ini menjadi indikator penting dari aktivitas pergerakan kumbang. Selain itu, pola lubang gerakan pada batang pohon yang terinfeksi biasanya terlihat jelas dan berwarna hitam (Tarno *et al.*, 2014).



Gambar 4. Tanda galeri (sebelah kiri) dan fras (sebelah kanan) bekas gerakan kumbang ambrosia (Kendra *et al.*, 2013)

Kerusakan yang disebabkan oleh kumbang ambrosia bervariasi tergantung pada spesies dan kondisi tanaman yang diserang. Kumbang ambrosia *Xylosandrus crassiusculus* ditemukan menyerang pohon oak pada bagian batang bawah khususnya antara satu hingga tiga meter dari tanah (Atkinson *et al.* 2011). Serangan ini sering kali terlokalisasi pada bagian batang bawah dan dapat membunuh tanaman secara tidak langsung membentuk kanker besar di area yang diserang. Pada beberapa kasus terkait dapat mengakibatkan kematian pohon secara keseluruhan. *Xyleborus affinis* merupakan salah satu spesies kumbang ambrosia yang signifikan juga diketahui dapat menyebabkan kerusakan kayu yang lebih besar dibandingkan dengan spesies kumbang ambrosia lainnya. Berbeda dengan kebanyakan kumbang ambrosia yang menggali galeri sendiri. *Xyleborus affinis* betina ikut berperan dalam memperluas sistem terowongan yang dibangun (Sobel *et al.*, 2015). Rata-rata kerugian akibat serangan kumbang ambrosia pada batang kayu dapat mencapai 77,40 m³ dan berkaitan hal tersebut mengakibatkan penurunan nilai kayu berkualitas tinggi hingga 57% (Orbay dan McLean, 1994). Dengan demikian dampak ekonomi dan ekologis dari serangan kumbang ambrosia terhadap ekosistem hutan dan pertanian sangatlah signifikan.

1.2.2 Penyakit Kanker Batang pada Tanaman Kakao

Kanker batang kakao merupakan salah satu penyakit penting pada tanaman kakao. Gejalanya meliputi kulit pada batang terlihat retak dan terbuka serta warnanya gelap, mengeluarkan cairan merah seperti lapisan karat dan apabila pada lapisan kulit bagian luar dibersihkan maka terlihat lapisan didalamnya membusuk (Wattimena, 2019). Dampak ini terjadi karena pada jaringan batang yang terinfeksi terjadi penghambatan dalam pengangkutan unsur hara dari akar ke daun sehingga mengganggu seluruh proses fotosintesis dan pada akhirnya terjadi penurunan produktifitas tanaman (Agustina *et al.*, 2019). Penyebab penyakit kanker batang dan cabang pada kakao adalah adanya infeksi dari cendawan *Lasiodiplodia* sp. dan *Fusarium* sp. (Defitri, 2019). Selain itu, *Phytophthora palmivora* juga merupakan cendawan yang bertanggung jawab dalam penyebab penyakit kanker batang kakao. Serangannya mengakibatkan batang bagian berwarna coklat dengan tekstur kulit yang basah, terdapat bercak yang berwarna hitam dan tampak membusuk (Defitri, 2024). Akibat dari serangan cendawan tersebut menyebabkan penurunan produksi kakao di seluruh dunia hingga 50% (Widyanta & Puspita, 2015).



Gambar 5. Gejala kanker batang pada tanaman kakao (Akrofi, 2016)

1.3 Tujuan dan Manfaat Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya asosiasi awal hubungan antara cendawan patogen dengan kumbang ambrosia penyebab penyakit kanker batang pada tanaman kakao. Selain itu, penelitian ini juga dijadikan sebagai langkah awal dalam pengendalian secara tepat dari hama kumbang ambrosia serta cendawan yang berasosiasi dengannya. Adapun manfaat dari penelitian ini adalah untuk memberikan informasi kepada para pembaca mengenai cendawan-cendawan terkait yang berasosiasi dengan kumbang ambrosia yang bersifat patogen khususnya pada tanaman kakao.

BAB II

METODOLOGI PENELITIAN

2.1 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Hama Tanaman dan Laboratorium Penyakit Tanaman, Departemen Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Hasanuddin, Sulawesi Selatan. Untuk lokasi pengambilan spesimen kumbang ambrosia di kebun kakao petani, Desa Tarengge, Kec. Wotu, Kab. Luwu Timur. Penelitian ini mulai dilaksanakan dari bulan Februari 2023 sampai selesai.

2.2 Alat dan Bahan

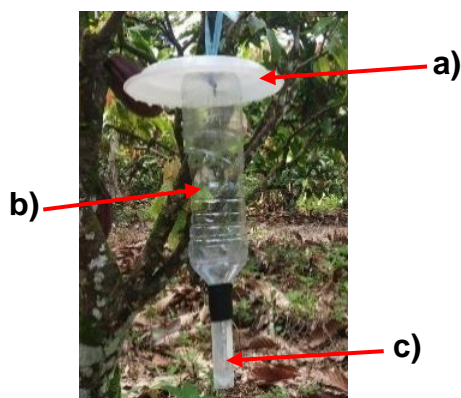
Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu perangkap botol, botol vial, *autoclave*, oven, *Laminary Air Flow* (LAF), timbangan, cawan petri, panci, *hot plate*, bunsen, pinset, batang pengaduk, *cock borer*, jarum preparat, Erlenmeyer, kaca preparat, kuas, mikroskop mikroba, mikroskop stereo, kamera dan alat tulis. Adapun bahan yang digunakan meliputi sampel kumbang ambrosia stadia imago, bibit kakao, agar-agar, kentang, gula pasir, aquadestilata, etanol 70%, antibiotik (kloramfenikol), *parafilm*, *wrapping*, *tissue*, aluminium foil, spiritus, plastik, dan kertas label.

2.3 Metode Penelitian

Metode penelitian ini dilakukan dengan pemasangan perangkap botol untuk menangkap spesimen kumbang ambrosia. Setelah beberapa spesimen terkumpul, media Potato Dextrose Agar (PDA) disiapkan untuk menumbuhkan cendawan yang berasosiasi dengan kumbang tersebut. Cendawan yang berhasil diisolasi dari kumbang ambrosia kemudian diidentifikasi berdasarkan pertumbuhannya pada media PDA. Untuk menguji hubungan antara cendawan dan interaksi yang terjadi pada tanaman, maka dilakukan uji patogenisitas terhadap bibit kakao.

2.3.1 Pembuatan dan Pemasangan Perangkap Botol

Perangkap yang digunakan terbuat dari botol plastik bening berkapasitas 1,5 L yang telah dibersihkan dan tidak berbau sebagaimana yang dilakukan oleh Nafsi *et al.* dalam studinya (2023). Botol plastik tersebut dimodifikasi dengan melubangi salah satu sisinya sehingga membentuk sebuah jendela berukuran 7x12 cm. Untuk menghindari masuknya serasah dan air hujan, sebuah piring plastik ditempelkan pada dudukan botol. Pada bagian mulut botol, dihubungkan tube yang diisi dengan 10 mL alkohol 70%, yang bertujuan untuk menarik dan menangkap serangga yang memasuki perangkap tersebut. Perangkap botol ini digantung pada ranting tanaman pada ketinggian 1 m dari permukaan tanah. Peletakan perangkap dilakukan dengan memilih secara acak pada tiap-tiap pohon yang diduga terkena serangan gejala kumbang ambrosia pada areal kebun. Pengambilan spesimen kumbang ambrosia yang berhasil terperangkap dilakukan di tiap pagi dan sore kemudian dimasukkan ke dalam botol vial untuk diidentifikasi berdasarkan karakteristik dari bentuk kepala, warna, bentuk pronotum, dan juga elitra.



Gambar 6. Perangkat yang terpasang pada dahan kakao; a) Piringan atap perangkat, b) botol plastik yang telah dilubangi pada salah satu bagian sisinya, c) *Tube* berisi alkohol 70%

2.3.2 Pembuatan Media *Potato Dextrose Agar (PDA)*

Media PDA dibuat dari 200 g kentang yang dicuci hingga bersih lalu dipotong kecil-kecil. Memasukkan semua kentang ke dalam panci kemudian ditambahkan aquades sebanyak 1 L, direbus hingga mendidih sehingga ekstrak dari kentang tersebut keluar. Sebanyak 17 g agar-agar, 2 g gula pasir dan 2 kapsul antibiotik (kloramfenikol) dimasukkan ke dalam Erlenmeyer kemudian ditambahkan ekstrak kentang yang telah direbus lalu diaduk menggunakan batang pengaduk hingga semua bahan tercampur dengan rata. Setelah itu, tutup Erlenmeyer menggunakan aluminium foil kemudian direkatkan menggunakan wrapping lalu disterilisasi menggunakan *autoclave* selama 2 jam pada suhu 121 °C. Setelah semua prosedur telah selesai, selanjutnya media dimasukkan ke dalam LAF untuk dilakukan penuangan ke dalam cawan petri yang sebelumnya juga telah disterilisasi menggunakan oven.

2.3.3 Isolasi Cendawan Asal Kumbang Ambrosia

Isolasi cendawan dari jaringan kumbang ambrosia dilakukan dengan menanam langsung pada media PDA. Namun, sebelum itu kumbang disterilisasi permukaan terlebih dahulu menggunakan alkohol 70% selama 1 menit kemudian dibilas menggunakan aquadestilata sebanyak 3 kali. Setelah itu, dikering anginkan di kertas saring kemudian kumbang dipotong menjadi 2 bagian, belahannya menyesuaikan dari letak posisi *mycangia* dari kumbang tersebut di bawah mikroskop stereo. Adapun jumlah kumbang yang akan diisolasi pada media adalah bergantung dari banyaknya keragaman jenis kumbang yang ditemukan pada lokasi pengambilan sampel sehingga diperoleh pula berbagai isolat yang berbeda pada tiap-tiap media cendawan.

2.3.4 Identifikasi Cendawan

Identifikasi yang dilakukan meliputi identifikasi secara makroskopis dan mikroskopis. Identifikasi secara makroskopis, diamati dengan melihat secara langsung warna dan permukaan koloni. Adapun pengamatan secara mikroskopis meliputi adanya ataupun tidaknya septa pada hifa, hifa yang bercabang atau tidak dan keragaman bentuk spora yang dimiliki cendawan. Ciri-ciri yang ditunjukkan pada cendawan tersebut akan dicocokkan dengan buku kunci determinasi identifikasi *Illustrated Genera of Imperfect Fungi* dari Barnett, H.L dan Hunter. BB (1998).

2.3.5 Uji Patogenisitas

Pada penelitian ini, uji patogenisitas ditujukan untuk membuktikan bahwa dari hasil isolasi cendawan yang dibawa oleh kumbang ambrosia merupakan penyebab gejala penyakit pada tanaman yang terinfeksi. Uji patogenisitas yang akan dilakukan melibatkan beberapa tahap, di antaranya dimulai dengan isolasi cendawan dari kumbang ambrosia. Isolat yang telah dimurnikan akan diinokulasikan ke bibit kakao untuk mengamati gejala penyakit yang muncul. Hingga pada tahap akhir dilakukan reisolasi dari bibit kakao ke media PDA.

Isolat murni cendawan yang didapatkan pada media selanjutnya diinokulasikan pada batang bibit kakao dengan cara melukai batangnya menggunakan jarum preparat steril. Setelah itu, mengambil inokulum berupa miselium kemudian ditempelkan pada batang yang telah dilukai, terakhir ditutup menggunakan *parafilm*. Inokulasi dilakukan setiap satu isolat cendawan pada bibit kakao dengan 5 kali ulangan, untuk selanjutnya memastikan perkembangan atau perubahan yang terjadi.

2.3.6 Pengamatan Insidensi Penyakit dan Panjang Nekrotik

Pengamatan dilakukan 1 pekan setelah inokulasi sebanyak 6 kali dengan melihat kejadian penyakit yang terjadi seperti daun yang terkena gejala seperti bercak, kekuningan atau gugur. Kejadian atau insidensi penyakit dihitung menggunakan rumus berikut (Rori *et al.*, 2014):

$$I (\%) = (n)/(N) \times 100 \quad (1)$$

Ket.:

I (%) : Persentase insidensi penyakit

n : Jumlah daun yang bergejala dan gugur

N : Jumlah keseluruhan daun yang diamati

Setelah tampak kemunculan gejala pada bibit kakao, selanjutnya akan dilakukan isolasi kembali pada media PDA dengan cara memotong batang sepanjang 2 cm kemudian melepas kulitnya dan membelahnya menjadi 2 bagian. Setelah itu, dilakukan sterilisasi permukaan terlebih dahulu sebelum ditanam di media PDA. Data yang diperoleh dari hasil penelitian, dianalisis secara statistik

menggunakan analisis sidik ragam (ANOVA), apabila ditemukan data yang berbeda nyata akan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) pada taraf 5%.

2.4 Parameter Pengamatan

Parameter pengamatan pada penelitian ini adalah mengamati adanya asosiasi yang terjadi antara kumbang ambrosia dengan cendawan pada saat dilakukan isolasi di media PDA. Selain itu, menganalisis bahwasanya kumbang ambrosia memiliki peran dalam menyebarkan cendawan patogen penyebab penyakit pada tanaman kakao dengan melihat hasil identifikasi pada cendawan yang didapatkan serta gejala yang tampak setelah inokulasi dan reisolasi isolat cendawan pada bibit tanaman kakao.