

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tanaman kakao (*Theobromae cacao. L*) merupakan salah satu komonitas perkebunan utama di Indonesia yang berkontribusi besar terhadap peningkatan pendapatan negara. Produksi kakao dirancang untuk memenuhi permintaan pasar global, selain memenuhi kebutuhan domestik. Kakao sebagai tanaman tropis yang cocok dengan iklim dan kondisi budidaya Indonesia, karena sebagian besar produksi kakao dikelola oleh petani kecil melalui perkebunan rakyat. Komunitas ini juga memiliki prospek yang menjanjikan dan meningkatkan kesejahteraan masyarakat (Suharyon dan Busra, 2020).

Pulau Sulawesi merupakan sumber produksi kakao terbesar di Indonesia, terutama dibagian provinsi Sulawesi Barat dan Sulawesi Tengah. Pada Sulawesi Barat diidentifikasi sebagai produsen kakao utama di Indonesia, yang memberikan kontribusi substansial terhadap produksi nasional. Akan tetapi, produktivitas kakao di wilayah ini belum optimal jika dibandingkan dengan potensi genetik tanaman yang telah teridentifikasi (Mirsam et al., 2022). Disisi lain, Sulawesi Tengah memegang predikat sebagai provinsi dengan volume produksi kakao terbesar di Indonesia. Berdasarkan informasi dari Badan Pusat Statistik (BPS Sulawesi Tengah), produksi kakao di provinsi ini pada tahun 2023 tercatat sekitar 125,92 ribu ton, yang merepresentasikan sekitar 19,92% dari keseluruhan produksi kakao nasional. Luas lahan perkebunan kakao di Sulawesi Tengah sendiri mencakup 267,25 ribu hektare yang menggaris bawahi peran sentral provinsi ini dalam peta produksi kakao nasional. (Waktu 1 dekade terakhir), produksi kakao di Sulawesi Tengah menunjukkan stabilitas dengan fluktuasi tahunan berkisar antara 100 hingga 130 ribu ton (BPS Sulawesi Tengah, 2024). Sulawesi Selatan juga dikenal sebagai salah satu daerah penghasil kakao utama yang berperan penting dalam mendukung produksi nasional, baik dari sisi luas areal maupun jumlah petani yang terlibat dalam usaha perkebunan kakao. Namun, permasalahan yang dihadapi adalah relatif serupa, yaitu produktivitas yang belum maksimal akibat faktor teknis budidaya, serangan hama dan penyakit, serta pengelolaan kebun yang belum optimal (Darmawan et al, 2023).

Kenaikan permintaan produksi kakao, baik di pasar domestik maupun global, memicu perluasan produksi yang konsisten. Salah satu metode untuk memenuhi permintaan ini adalah melalui ekspansi area tanam dan penerapan praktik budidaya kakao yang lebih efisien. Akan tetapi, ekspansi pertanaman kakao tidak selalu berjalan lancar, karena seringkali terdapat berbagai hambatan di lapangan. Salah satu kendala yang sering terjadi adalah adanya serangan organisme pengganggu tanaman (OPT), yang termasuk hama dan penyakit, yang berpotensi mengurangi hasil panen bahkan mengakibatkan kerugian finansial bagi para petani. Keberadaan OPT ini menjadi elemen pembatas dalam upaya peningkatan *ouput*, sehingga diperlukan pengembangan strategi pengendalian yang lebih maksimal. Penyakit busuk buah kakao menjadi salah satu agen utama penurunan produksi kakao dalam budidaya kakao di berbagai wilayah. Penyakit busuk buah kakao disebabkan oleh serangan berbagai patogen, terutama dari Spesies *L. theobromae* dan *P. palmivora*. Di daerah Manokwari, serangan patogen tersebut cukup merugikan karena menyebabkan kehilangan hasil panen yang signifikan. Selain

itu, terdapat beberapa jenis cendawan lain yang dapat tumbuh pada buah kakao yang menunjukkan gejala busuk pada buah kakao (Tanati et al., 2021).

Penyakit busuk buah kakao adalah salah satu kendala utama dalam budidaya yang menyebabkan kerugian hasil panen yang cukup besar. Penyakit ini disebabkan oleh patogen khususnya *L. theobromae* dan *P. palmivora*. Patogen tersebut dapat menginfeksi berbagai bagian tanaman seperti buah, daun, batang, dan bunga. Tingkat serangan penyakit ini dapat mencapai 85% pada daerah yang memiliki kelembapan tinggi. Oleh karena itu, Untuk menghadapi ancaman tersebut, diperlukan pemahaman luas mengenai variasi dan virulensi isolat patogen yang beredar di lapangan. Uji virulensi dilakukan untuk mengetahui tingkat keparahan serangan yang ditimbulkan oleh patogen terhadap tanaman kakao (Rizka et al., 2021).

Penyakit busuk buah pada kakao masih merupakan tantangan besar dalam budidaya kakao, terutama karena ketersediaan klon kakao yang tahan terhadap patogen penyebab penyakit ini masih sangat terbatas. Oleh karena itu, pengembangan klon kakao unggul dengan ketahanan tinggi terhadap patogen penyebab busuk buah menjadi prioritas utama untuk meningkatkan produktifitas dan keberlanjutan usaha petani kakao. Seleksi dan pemilihan klon kakao yang tahan terhadap berbagai isolat patogen sangat penting, mengingat tingginya keragaman patogen penyebab busuk buah diberbagai wilayah produksi kakao di Indonesia (Putra et. al. 2022).

Berdasarkan uraian diatas, perlu dilakukan penelitian mengenai uji virulensi beberapa patogen yang diisolasi dari penyakit busuk buah kakao dan respon ketahanan klon kakao unggul terhadap infeksi tersebut. Dengan mengetahui tingkat virulensi patogen sekaligus ketahanan klon kakao, diharapkan dapat memberikan informasi untuk mengembangkan klon kakao yang lebih toleran terhadap penyakit busuk buah dan strategi pengelolaan penyakit.

1.2 Teori

1.2.1 Tanaman Kakao

Menurut Suwarto dan Yuke (2010) tanaman kakao digolongkan sebagai tanaman caulifloris karena buah dan bunga kakao tumbuh pada batang dan cabang. Tanaman kakao berdasarkan klasifikasi botaninya sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Ordo	: Malvales
Famili	: Sterculiaceae
Genus	: <i>Theobroma</i>
Spesies	: <i>Theobroma cacao</i> L.

Tanaman kakao (*Theobroma cacao* L.) merupakan spesies yang berasal dari hutan hujan tropis dan memiliki berbagai ciri morfologi termasuk bentuk daun, batang, dan buah. Tanaman kakao dapat tumbuh setinggi 4-8 meter, dengan daun berwarna hijau gelap dan berbentuk oval. Buah kakao memiliki kulit yang keras dan berwarna

kuning hingga ungu kemerahan serta biji di kelilingi pulpa manis. Tanaman kakao juga memiliki sistem akar yang dalam dan luas, yang memungkinkan efisiensi dalam penyerapan nutrisi dan air (Bisma dan Novita, 2022). Kakao adalah jenis tanaman tropis yang dapat tumbuh di dataran rendah dan lembab. Suhu optimum tanaman kakao yaitu 22-29 °C dengan ketinggian 0-600 mdpl (Direktur Jendral Perkebunan, 2014).

1.2.1.1 Klon Kakao Masamba Cacao Clone (MCC-01)

Klon kakao MCC-01 merupakan varietas kakao unggulan yang diperoleh dari proses seleksi di daerah Masamba, Luwu Utara, Sulawesi Selatan. Agronomi dari MCC merujuk pada *Masamba Cacao Clone* dengan menandakan angka 01 untuk menunjukkan bahwa klon kakao pertama yang berhasil dikembangkan di daerah tersebut. Klon ini diakui memiliki tingkat produktivitas yang superior, menghasilkan rata-rata sekitar 3,3 kg per pohon atau 3.672 kg per tahun dengan ukuran biji yang besar. Buah MCC-01 memiliki tekstur kulit yang kasar, berwarna hijau muda saat belum matang, dan akan menjadi hijau kekuningan ketika mencapai kematangan. Meskipun demikian, terlepas dari produktivitasnya, klon ini menunjukkan kerentanan yang signifikan terhadap penyakit *Vascular Streak Dieback* (VSD) dan serangan hama penggerek buah kakao (PBK). Keunggulan utama dari klon ini adalah jumlah buah yang banyak ukuran biji yang substansial, menjadikannya pilihan yang disukai oleh para petani di wilayah Sulawesi Selatan. MCC-01 juga dimanfaatkan sebagai komponen esensial dalam program pemuliaan tanaman untuk menghasilkan varietas kakao yang memiliki resistensi terhadap penyakit sekaligus mempertahankan produktivitasnya (Pusat Penelitian Kopi dan Kakao, 2013).



Gambar 1. Buah Kakao klon MCC-01
(Sumber: Dokumentasi Pribadi)

1.2.1.2 Klon Kakao Sulawesi 2 (S2)

Klon kakao Sulawesi 2 (S2) merupakan jenis kakao unggul yang dihasilkan di Sulawesi. Varietas ini merupakan proses dari seleksi pohon kakao yang superior oleh petani lokal pada awal tahun 2000-an. Klon ini dikenal luas berkat hasil panennya yang berlimpah dan ketahanannya terhadap hama penggerek buah, serta penyakit *Vascular Streak Dieback* (VSD) dan busuk buah kakao. Proses budidaya dari klon ini dilakukan melalui metode sambung samping oleh para petani yang bekerja sama dengan Lembaga Riset dan Pemerintah. Upaya ini merupakan bagian dari program Rehabilitas Kakao Nasional yang telah dilaksanakan sejak 2009 hingga 2013 melalui Gerakan Nasional Kakao klon S2 adalah varietas yang sesuai untuk tumbuh optimal di agroklimate Sulawesi, sekaligus penamaan klon kakao S2 merujuk pada lokasinya yang ditemukan di Sulawesi, dengan

asal usul dari seleksi pohon kakao unggul di daerah Sulawesi Selatan. Klon S2 ini mewakili karakteristik kakao unggul lokal yang tahan terhadap hama dan penyakit serta produktif. Oleh karena itu, klon ini diberikan kode S2 sebagai bagian dari pemuliaan yang bertujuan untuk identifikasi dan diseminasi varietas unggul dalam program budidaya kakao di Indonesia. Klon kakao S2 memiliki ciri utama percabangan semi intensif serta menunjukkan sifat percabangan yang tegak atau vertikal. Buah dari klon ini berbentuk oval, berwarna merah gelap kusam pada fase muda dan beralih menjadi warna orange saat matang. Buah dari klon ini memiliki tekstur permukaan yang kasar, dengan ujung buah yang meruncing dan memiliki alur yang dangkal pada buahnya (Akmal 2022).



Gambar 2. Buah kakao Klon Sulawesi 2
(Sumber: Dokumentasi Pribadi)

1.2.2.3 Klon Kakao Buntu Batu 01 (BB-01)

Klon kakao BB-01 merupakan jenis kakao yang unggul berasal dari Desa Buntu Batu, Kecamatan Buapongrang, Kabupaten Luwu, Sulawesi Selatan. Penemuan klon BB-01 adalah akronim dari nama desa asalnya, dengan penandaan angkatan 01 yang menandakan sebagai hasil seleksi awal dari daerah tersebut. Keunggulan dari klon BB-01 terletak pada produktivitasnya yang tinggi, dengan kapasitas mencapai lebih dari 3 ton biji kering per hektar per tahun, yang secara signifikan melampaui rata-rata produksi nasional. Klon kakao ini menghasilkan biji kering dengan ukuran yang relatif besar, mencapai bobot lebih dari 1 gram per biji, serta menunjukkan resistensi terhadap penyakit busuk buah yang kerap menjadi hambatan utama dalam budidaya tanaman kakao. Ciri khas dari klon BB-01 meliputi buah yang bulat berwarna hijau dengan tekstur halus, ujung tumpul, dan alur dangkal. Daunnya panjang dan sempit dengan warna merah-coklat, sedangkan batang berwarna hijau terang (Akmal, 2022).



Gambar 3. Kakao Klon Buntu Batu 01
(Sumber : Dokumentasi Pribadi)

1.2.2 *Lasiodiplodia theobromae*

Lasiodiplodia theobromae merupakan jamur patogen yang dapat menginfeksi berbagai tanaman inang penting termasuk jeruk, kakao, karet, manggis dan pisang, terutama di wilayah tropis dan subtropis. Spesies ini bersifat oportunistik dan mampu menyebabkan berbagai penyakit seperti busuk buah, hawar daun, busuk ujung batang, dan kanker batang, dengan memanfaatkan luka atau jaringan nekrotik pada tanaman yang terdapat keragaman intra spesifik yang signifikan pada *L. theobromae* yang terlihat dari perbedaan laju pertumbuhan, kapasitas pembentukan struktur reproduktif konidia secara morfologis, dan profil molekuler. Serta isolasi dan tanaman yang berbeda dapat menunjukkan variasi dalam pertumbuhan dan reproduksi pada media kultur yang mengindikasikan kemampuan adaptasi spesies ini terhadap berbagai lingkungan (Sandra et al., 2021).



Gambar 4. Gejala yang diakibatkan oleh cendawan *Lasiodiplodia* sp. (a) Klorosis daun kakao (b) Garis hitam pada jaringan vaskular (Asman et al., 2020)

1.2.3 *Phytophthora palmivora*

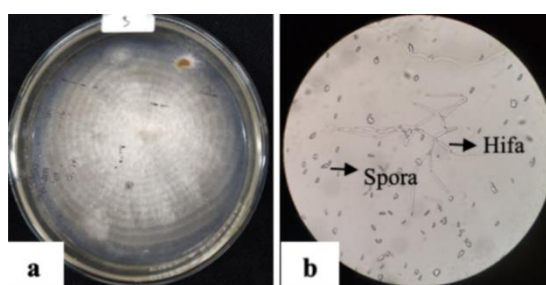
Phytophthora palmivora yang merupakan salah satu spesies dari genus *Phytophthora* sp. yang menyebabkan penyakit busuk buah pada tanaman kakao di Indonesia. Penyakit ini sangat merugikan karena menyerang buah kakao pada berbagai fase pertumbuhan dari buah muda hingga matang, dan dapat menyebar dengan cepat sehingga buah menjadi membusuk dan kualitas biji menurun. Gejala infeksi dimulai dengan munculnya bercak coklat hingga kehitaman pada permukaan buah yang kemudian meluas, seringkali juga menyerang batang sehingga menimbulkan kanker yang memperparah kondisi tanaman. Di daerah penghasil kakao seperti Sulawesi Selatan dan di wilayah lain di Indoensia, tingkat serangan *P. palmivora* dapat mencapai 60% mengakibatkan kerugian produksi yang cukup besar lebih dari 30%. Patogen ini memiliki kemampuan beradaptasi yang tinggi dalam lingkungan tropis dan menunjukkan keragaman genetik yang mempengaruhi tingkat virulensinya (Andi, 2018).



Gambar 5 (a) *Phytophthora palmivora* (b) *Phytophthora megakarya* (Adeniyi, 2023)

1.2.4 *Fusarium* sp.

Fusarium sp. merupakan salah satu patogen yang menyerang tanaman kakao di Indonesia, terutama menimbulkan penyakit *Vaskular Streak Dieback* (VSD). Penyakit ini umumnya muncul pada kakao yang tumbuh di kebun terbuka dan dapat menyebabkan kematian tanaman dengan gejala daun menguning serta kematian pada cabang tanaman. *Fusarium* sp. yang menginfeksi kakao biasanya tampak seperti koloni berwarna putih cream di media kultur dan menyebabkan gejala seperti penguningan daun mulai dari bagian bawah tanaman, pembusukan jaringan vaskular yang berwarna coklat, serta kematian tanaman bila infeksi sudah parah. Penyakit ini cenderung semakin serius pada musim kemarau ketika tanaman mengalami cekaman akibat paparan sinar matahari yang tinggi. Beberapa wilayah penghasil kakao, tingkat serangan *Fusarium* sp. bisa mencapai 77% (Rosmana et.al, 2013).



Gambar 6. Ciri morfologi *Fusarium* sp. (a) Miselium (koloni) (b) Hifa (Perbesaran 1000x) (Tanati et al., 2021)

1.3 Tujuan dan Manfaat

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui tingkat virulensi patogen yang diisolasi dari penyakit busuk buah pada kakao, serta mengevaluasi respons ketahanan pada berbagai klon kakao unggul terhadap patogen tersebut. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai tingkat serangan yang ditimbulkan oleh masing-masing isolat patogen yang di uji.

1.4 Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini adalah diduga adanya perbedaan tingkat virulensi antar patogen hasil isolasi, disertai perbedaan kemampuan ketahanan pada beberapa klon kakao unggul yang di uji.

BAB II METODOLOGI

2.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli 2025 – Desember 2025, di Laboratorium Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian Universitas Hasanuddin, Makassar.

2.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah cawan petri, Erlenmeyer, oven, LAF (*Laminar Air Flow*), *Aluminium Foil*, *Plastik Wrap*, *Hotplate*, kertas saring, wajan, autoklaf, bunsen, spatula, jarum preparat, *corborer*, korek, gunting, cutter, *scapel*, Penggaris digital dan ATK.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kentang, gula, agar-agar tanpa warna, akuades, tissue, *alcohol* 70%, *clorompenicol*, akuades steril, isolat patogen, daun muda kakao, kakao klon MCC-01, kakao klon S2, dan kakao Klon BB-01.

2.3 Prosedur Kerja

2.3.1 Pengambilan sampel

Pengambilan sampel buah kakao klon S2 dilakukan di Kabupaten Enrekang, Sulawesi Selatan. Sampel yang diambil merupakan buah kakao dengan gejala busuk buah, yang selanjutnya diisolasi untuk memperoleh isolat cendawan.

2.3.2. Pembuatan Media Tumbuh Cendawan

Penelitian ini menggunakan dua media sebagai tempat pertumbuhan cendawan yakni media *Water Agar* (WA) dan Media *Potato Dextrose Agar* (PDA). Pembuatan media *Water Agar* (WA) dimulai dengan menyiapkan 20 gram agar-agar tanpa warna dan antibiotik *Chloramphenicol* yang ditambahkan ke dalam erlenmeyer yang berisi 1000 ml aquades, kemudian dihomogenkan dan menutup bagian tabung leher menggunakan *aluminium foil*, rekatkan menggunakan plastik *wrapping* dan sterilisasi menggunakan *Laminar Air Flow* (LAF) selama ± 2 jam pada suhu 121°C. Media yang telah disterilkan kemudian dituangkan ke dalam cawan Petri steril.

Untuk pembuatan media *Potato Dextrose Agar* (PDA) dilakukan dengan cara menyiapkan 200 gram kentang yang telah di potong dadu kemudian direbus dengan 1000 ml aquades hingga mendidih dan mengeluarkan ekstrak. Ekstrak yang dihasilkan dipindahkan ke dalam *Erlenmeyer* yang telah berisi 20 gram agar-agar tanpa warna, 20 gram gula pasir, dan antibiotik *Cloromphenicol* lalu homogenkan hingga tercampur rata, menutup bagian tabung leher *erlenmyer* menggunakan *aluminium foil* dan rekatkan dengan plastik *wrapping* untuk menghindari kontaminasi dan sterilisasi menggunakan *Laminar Air Flow* (LAF) selama ± 2 jam pada suhu 121°C. Media yang telah disterilkan kemudian dituangkan ke dalam cawan Petri steril.

2.3.3 Isolasi Sampel Buah Kakao Bergejala

Isolasi sampel buah kakao dimulai dari penentuan titik pengambilan bagian buah yang memiliki gejala $\frac{1}{2}$ sakit (Bergejala) dan $\frac{1}{2}$ sehat (Tidak bergejala). Memotong bagian buah $\frac{1}{2}$ sakit $\frac{1}{2}$ sehat dengan ukuran 1 cm dan 1,5 cm, melakukan pemotongan menjadi 3 bagian yang kemudian di isolasi atau dimasukkan ke dalam cawan petri yang berisi

media *Water Agar* (WA) lalu direkatkan menggunakan plastik *wrapping*, setelah itu, diinkubasi selama 3-7 hari hingga koloni cendawan tumbuh.

2.3.4 Pemurnian Isolat Cendawan Dari Busuk Buah Kakao

Pemurnian cendawan dilakukan dari hasil isolat awal yang tumbuh. Kemudian dipindahkan ke dalam cawan petri yang berisi media *Potato Dextrose Agar* (PDA) secara aseptik, dengan posisi miselium menghadap ke bawah lalu cawan petri direkatkan menggunakan plastik *wrapping*. Isolat tersebut diinkubasi Kembali selama 3-7 hari hingga isolat memenuhi cawan petri.

2.3.5 Perbanyak Isolat Cendawan Dari Busuk Buah Kakao

Isolat cendawan murni yang telah diperoleh, kemudian diperbanyak kembali dengan cara mengambil koloni miselium, lalu pindahkan pada cawan petri yang berisi media *Potato Dextrose Agar* (PDA) menggunakan spatula dengan posisi miselium menghadap ke bawah lalu cawan petri direkatkan kembali menggunakan plastik *wrapping*. Isolate tersebut diinkubasi selama 3 hari hingga tumbuh miselium muda yang aktif dan selanjutnya akan digunakan untuk pengujian pada daun dan beberapa klon buah kakao sehat.

2.3.6 Uji Daun Cendawan Dari Busuk Buah Kakao

Pengujian ini dilakukan menggunakan daun muda ke-3 tanaman kakao, dengan cara memilih daun tanpa gejala (daun sehat), kemudian mencetak daun berbentuk lingkaran dengan menggunakan cetakan yang tersedia dan memotong kertas saring berbentuk lingkaran dengan ukuran yang sama seperti cawan petri, lalu kertas saring tersebut dimasukkan ke dalam oven selama 20 menit dengan suhu 120°C. Selanjutnya, jenuhkan kertas saring tersebut menggunakan aquades steril. kemudian mencuci daun yang telah di cetak tadi menggunakan aquades steril, terlebih dahulu masukkan kertas saring yang telah jenuh tadi ke dalam cawan petri plastik, lalu timpa kertas saring dengan daun yang telah di cetak tadi. Setelah itu, dilakukan inokulasi isolat ke daun dengan posisi letak dibagian lamina atas kanan daun. Selanjutnya rekatkan cawan petri menggunakan plastik *wrapping*, lalu diinkubasi selama 3 hari pengamatan setiap 24 jam.

Pengamatan dilakukan dengan melihat bagian daun yang mengalami klorosis pada lamina dan pertulangan daun yang diakibat oleh patogen. Pengujian ini dilakukan untuk melihat tingkat virulensi dari cendawan patogen dalam menimbulkan gejala seperti nekrosis pada daun, semua perlakuan masing-masing 3 ulangan.

Parameter pengujian berupa persentase lesi yang diakibatkan setiap isolat. Pengamatan dilakukan selama 3 hari setiap 24 jam setelah inokulasi, perkembangan nekrosis pada daun akan dihitung dalam bentuk persentase (%).

2.3.7 Uji Virulensi Cendawan Pada Beberapa Klon Kakao

Pengujian ini dilakukan terlebih dahulu menyeleksi buah kakao unggul yaitu menggunakan buah kakao yang sehat dari klon MCC-01, Klon S2 dan klon BB-01 berumur 3-4 bulan yang berasal dari Kabupaten Enrekang, Sulawesi Selatan. Pengujian ini dimulai dengan membersihkan buah kakao menggunakan air sabun, digosok perlahan agar kotoran yang menempel terbuang. Kemudian bilas buah kakao menggunakan air bersih, lalu ditiriskan selama 10 menit. Tahap selanjutnya, melakukan sterilisasi menggunakan aquades steril lalu dikeringkan kembali dengan suhu ruang.

Tahap selanjutnya adalah melakukan inokulasi pada buah kakao tersebut. Dalam inokulasi menggunakan dua metode, yaitu metode pelukaan dan tanpa pelukaan.

a) Metode Pelukaan

Metode pelukaan pada buah kakao klon Mcc-01, klon S2 dan Klon BB-01 yang sehat, terlebih dahulu dilakukan dengan mencuci kembali buah kakao menggunakan aquades steril, kemudian dikeringkan dengan suhu ruang. Setelah kering, selanjutnya melubangi bagian tengah buah menggunakan *corkborer*, lalu memasukkan (inokulasi) isolat patogen menggunakan jamur preparat, dengan posisi miselium isolat menghadap ke bawah menyentuh langsung bagian mesokarp buah kakao. Selanjutnya menutup bagian lubang yang berisi isolat menggunakan kertas saring yang telah dijenuhkan dengan aquades steril, lalu rekatkan menggunakan plastik *wrapping* untuk menjaga kelembapan miselium. Lalu berikan label sebagai pendanda isolat.

b) Metode Tanpa Pelukaan

Metode Tanpa Pelukaan pada buah kakao Klon MCC-01, klon S2 dan klon BB-01 yang sehat, dimulai dari mencuci kembali buah kakao menggunakan aquades steril seperti cara awal pada metode pelukaan. Kemudian diletakkan (inokulasi) isolat dibagian permukaan buah tanpa luka menggunakan jarum preparate, dengan posisi miselium menghadap ke bawah dan bersentuhan langsung dengan bagian kulit buah kakao. Selanjutnya menutup atau tampa miselium isolat menggunakan kertas saring, dan direkatkan menggunakan plastik *wrapping* untuk menjaga kelembapan miselium. Kemudian diberikan label sebagai penanda isolat.

c) Uji Sinergitas

Uji sinergitas adalah pengujian yang menggunakan 2 isolat dan mengukur interaksi antar isolat, apakah saling mendukung proses pertumbuhan atau saling menghambat. Metode uji sinergitas pada buah sehat kakao klon S2, dimulai dari mencuci buah kakao menggunakan aquades steril seperti cara awal pada metode pelukaan dan non pelukaan. pada metode pelukaan, terlebih dahulu melubangi bagian permukaan buah kemudin memasukkan atau menginokulasi 2 isolat dalam satu lubang yang sama, dengan posisi tumpang tindih antar isolat. Begitu pula dengan uji sinergitas metode tanpa pelukaan, yaitu menginokulasi 2 isolat pada permukaan buah kakao tanpa di lubangi (tanpa luka). Selanjutnya menutup isolat yang telah diinokulasi menggunakan kertas saring, lalu direkatkan menggunakan plastik *wrapping* untuk menjaga kelembapan miselium.

d) Parameter pengamatan

Pengamatan dilakukan selama 7 hari setiap 24 jam dengan menghitung luas lesi menggunakan penggaris digital. Pengukuran luas lesi dapat di hitung menggunakan rumus:

$$\text{Perkembangan Laju Lesi} = \frac{A + B}{2}$$

Keterangan:

A : Panjang Lesi Horizontal Perhari

B : Panjang Lesi Vertikal Perhari

Selain itu, pengamatan dilakukan juga dengan melihat respon ketahanan dari setiap klon kakao yang telah diinokulasikan. Pengamatan tanda dan gejala dilakukan pada setiap buah. Untuk menghitung persentase infeksi menggunakan rumus menurut (Rubiyo et al, 2010).

$$\text{Persentase infeksi area buah} = \frac{\text{Panjang rata - rata lesi} \times \text{Lebar rata - rata lesi}}{\text{Panjang} \times \text{Lebar buah}} \times 100$$

Luas lesi yang muncul selanjutnya dikelompokkan berdasarkan respons ketahanan buah kakao terhadap infeksi beberapa isolat hasil isolasi berdasarkan tabel berikut (Rubiyo et al, 2010)

No	Skor	Infeksi Area Buah
1	Sangat tahan	0 – 15%
2	Tahan	15,1 % - 25%
3	Resistensi tahan	25,1% - 50%
4	Cukup rentan	50,1% - 75%
5	Rentan	> 75%

2.3.8 Identifikasi Morfologi

Identifikasi cendawan dilakukan berdasarkan dari karakteristik koloni secara makroskopis dan mikroskopis. Untuk pengamatan mikroskopis, cendawan patogen diambil secara aseptik menggunakan jamur preparate kemudian diletakkan pada kaca preparat lalu ditutup menggunakan *deglass*. Spora, hifa, dan konidium dari masing-masing cendawan patogen diamati menggunakan lensa mikroskop perbesaran 10x dan 40x dengan kamera mikroskop compound serta dipotret.

2.3.9 Reisolasi Cendawan

Isolat cendawan yang telah diinokulasi, lalu diisolasi kembali untuk memastikan bahwa patogen yang tumbuh sama dengan patogen awal. Hal ini merupakan bagian dari uji *Postula Kosh* untuk mengkonfirmasi identitas patogen yang murni sebagai agen penyebab penyakit. Reisolasi dilakukan dengan cara bagian buah yang bergejala dipotong kemudian diletakkan pada cawan petri yang berisi media PDA sebanyak 3 potongan setiap cawan, lalu diinokulasi selama beberapa hari.

2.3.10 Analisis Data

Analisis data menggunakan ANOVA (analisis sidik ragam), disusun dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL) untuk menguji perbedaan virulensi antar isolat dan respon ketahanan beberapa klon, yang kemudian dilanjutkan dengan uji BNJ. Hasil penelitian ini dianalisis dengan menggunakan perangkat lunak *Microsoft Excel* dan *IMB SPSS* versi 21.0