

Teknik aplikasi dan efektivitas formula VGR untuk penurunan tingkat layu pentil kakao

Application techniques and effectivity of VGR formulas to reduce cherelle wilt in cacao

D. SANTOSO & A. RAHMAWAN

Unit Penelitian Bioteknologi Perkebunan, Bogor 16151, Indonesia

Summary

Indonesia cacao plantations have relatively low productivity, which actually can be improved by reducing cherelle wilt using vegetative growth retardant (VGR) formula with proper composition. This paper describes research progress aimed to formulate molecular inducer capable of reducing cherelle wilt in cacao plantation. The main constituent of the formula was VGR of chloro choline type with additional component of a acidic buffer. Chemical environment was adjusted for better effectiveness of the formula. The application to examine the affectivity was conducted by several ways with the aqueous solution at 25 to 200 ppm. The observation was recorded twice a week. Examination in experimentation showed that foliar spray at upper side was the best among 6 methods tested. Experiments done in a commercial plantation demonstrated that VGR was able to reduce cherelle wilt in cacao. Addition of acidic buffer improved the performance of VGR formula. At 3 and 4 weeks after the treatments with the VGR formulas, cherelle wilt were decreased to become 18.8% and 39.9%. These numbers were significantly lower than the percentages of cherelle wilt on the trees sprayed only with water, which reached to 48.8% dan 64.6% at 3 and 4 weeks after treatments respectively.

[Key words: *Theobroma cacao*, cherelle wilt, VGR formula]

Ringkasan

Produktivitas perkebunan kakao Indonesia relatif rendah. Usaha peningkatan produktivitasnya dapat ditempuh melalui pengurangan jumlah layu pentil kakao, dengan cara mengaplikasikan formula zat pengatur tumbuh dari jenis penghambat pertumbuhan vegetatif (VGR) berkomposisi sesuai. Makalah ini membahas hasil penelitian tentang pengembangan suatu teknologi praktis untuk menurunkan tingkat layu pentil kakao. Sebagai komponen utama adalah VGR jenis kloro kolin dengan suplemen bufer asam. Kondisi kimiawi tertentu formula tersebut merupakan pertimbangan tambahan dalam mendapatkan keefektifan yang lebih baik. Aplikasinya dilakukan dengan berbagai cara pada tanaman yang sedang berbuah kecil (pentil) dengan konsentrasi VGR bervariasi antara 25 hingga 200 ppm. Pengamatan dilakukan secara periodik dua kali dalam satu minggu. Dari enam cara aplikasi yang diuji, penyemprotan lapis atas daun merupakan cara yang terefektif. Percobaan pada tanaman kakao di kebun percobaan maupun kebun komersial menunjukkan bahwa VGR mampu menekan layu pentil kakao. Formula VGR yang mengandung bufer asam memiliki daya pengurangan layu pentil lebih baik daripada yang tanpa bufer. Pada pengamatan 3 dan 4 minggu setelah aplikasi formula VGR, tingkat layu pentil pada pohon kakao yang disemprot dengan formula VGR berbufer hanya sekitar 18,8% dan 39,9%. Sementara itu pada pohon-pohon yang hanya disemprot dengan air, layu pentil pada waktu pengamatan tersebut mencapai 48,8% dan 64,6%.

Pendahuluan

Produktivitas kebun kakao di Indonesia sangat bervariasi. Sebagai contoh, satu kebun kakao yang pengelolaannya tergolong baik, produktivitasnya bervariasi dari 300 kg/ha hingga 1.580 kg/ha (Santoso *et al.*, 2001). Nilai rata-rata variasi produksi kakao Indonesia tersebut sekitar 900 kg/ha. Angka ini jelas tergolong rendah apabila dibandingkan dengan potensinya yaitu sekitar 3.375 kg/ha (Duke, 1983). Salah satu penyebab rendahnya produktivitas tanaman kakao tersebut adalah adanya kelayuan pentil kakao. Tingkat layu pentil kakao tergolong tinggi, yaitu 70 – 90% dari seluruh buah kakao yang terbentuk pada satu pohon (McKelvie, 1957).

Layu pentil pada kakao yang merupakan penyakit fisiologis ini diduga karena beberapa faktor. Persaingan dalam mendapatkan nutrisi yang ketersediaannya terbatas antara buah muda, buah tua dan tunas-tunas muda merupakan salah satu penyebab (Alvim, 1977). Buah menjadi layu karena kandungan fitohormon di dalam biji/buah rendah sehingga kemampuan untuk menyerap asimilat juga rendah. Studi mengenai IAA pada buah kakao memberikan indikasi bahwa translokasi karbohidrat dari jaringan sumber ke pemakai berkaitan dengan peran fitohormon tersebut (Tjasadihardja, 1987). Selain itu, bahan tanam (kultivar) dan adanya luka pada kulit buah juga dapat menjadi penyebabnya. Luka tersebut memacu aktivitas polifenol oksidase sehingga menghambat aktivitas IAA (Susanto, 1994). Laporan riset fisiologis terkini tentang fenomena layu pentil kakao menyebutkan beberapa hasil (Prawoto, 2000). Trakea tangkai pentil yang layu mengalami penyumbatan oleh lendir (*mucilage*) dan berkas jaringan pengangkut mati lebih awal dari jaringan sekitarnya. Selain itu, kadar giberelin dan auksin pada pentil yang layu cenderung rendah.

Dinyatakan juga bahwa teknologi pengendalian layu pentil kakao masih belum menunjukkan hasil yang konsisten.

Perkembangan organ reproduksi tanaman pada buah dapat dikendalikan dengan zat kimia tertentu terutama zat pengatur tumbuh (ZPT). Hormon GA dan sukrosa menginduksi pembungaan pada tanaman model *Arabidopsis* (Blazquez *et al.*, 1998). Pada tanaman hortikultura, peranan ZPT untuk mengatur perkembangan *sink tissue* dilaporkan dan dibahas dalam beberapa publikasi (Gianfagna, 1990; Rademacher, 1995); Tzoutzoukou *et al.*, 1998). Pada tanaman kakao usaha untuk mempelajari dan memperbaiki perkembangan buah kakao dilaporkan oleh Winarsih & Prawoto (1991), Tjasadihardja (1987), Santoso (1999), dan Prawoto (2000).

Pengaruh ZPT terhadap perkembangan organ reproduksi tergantung pada aktivitas zat tersebut dan kuantitasnya. Kuantitas tersebut pada prakteknya adalah jumlah yang dapat masuk ke dalam sel target. Oleh karenanya praktek aplikasi yang efektif memegang peranan penting. Untuk NAA, efektivitas ini dipengaruhi oleh berbagai faktor formulasi (Schonherr *et al.*, 2000). Laporan terdahulu menyebutkan bahwa teknik aplikasi mempengaruhi efektivitas masuknya ZPT ke dalam sel tanaman kakao (Santoso, *unpublished*).

Penelitian ini bertujuan menguji efektivitas cara-cara yang umum untuk aplikasi VGR, ZPT dari jenis penghambat pertumbuhan vegetatif, ke tanaman kakao dalam kaitannya dengan usaha untuk mengurangi tingkat layu pentil kakao.

Teknik aplikasi tersebut meliputi, penyemprotan langsung ke buah, penyemprotan ke daun, olesan pada kayu dan kulit batang, serta penyiraman di sekitar pohon. Masuknya VGR ke dalam sel dan pengaruhnya terhadap turunnya layu pentil merupakan parameter yang diukur. Selain itu, lamanya VGR dapat bertahan dan

pengaruhnya juga dibahas. Pada tahap awal efektivitas VGR dalam menghambat pertumbuhan vegetatif tanaman diuji secara *in vitro* menggunakan tanaman tembakau.

Bahan dan Metode

Pengujian in vitro

Pengujian efektivitas VGR dilakukan secara *in vitro* menggunakan planlet tembakau. Kondisi kultur jaringan tembakau diuraikan sebelumnya (Santoso *et al.*, 2001). Ke dalam media MS (Murashige & Skoog) hangat 60 °C yang mengandung 0,5 ppm BAP dan 0,2% Fitagel dicampurkan sejumlah larutan stok VGR hingga konsentrasi 2 – 50 ppm. Setelah media menjadi padat dan dingin, potongan-potongan batang planlet tembakau dengan 1-2 helai daun, dikulturkan pada media padat tersebut. Pertumbuhan vegetatif diamati berdasarkan panjangnya batang planlet tembakau.

Aplikasi

Dengan berbagai teknik, aplikasi VGR dilakukan menggunakan larutan stok dalam air pada konsentrasi 400 ppm. Keasaman larutan stok tanpa atau dengan komponen lainnya, diatur hingga pH antara 4,5 – 5,0. Untuk penyemprotan dilakukan langsung ke buah muda kecil (pentil) atau langsung ke daun. Untuk olesan kulit batang, terlebih dahulu kulit batang yang mati kering dihilangkan lalu larutan stok tersebut dioleskan menggunakan kuas yang halus. Cara olesan kayu mirip dengan olesan kulit batang. Penyiraman dilakukan 50 cm di seputar pohon. Aplikasi dilakukan pada keadaan teduh sore hari. Untuk tujuan pengujian efektivitas cara aplikasi dalam memasukkan VGR, parameter yang diamati adalah konsentrasi VGR yang masuk ke dalam jaringan daun. Daun dipilih sebagai

jaringan target, karena sebagian besar metabolisme utama dari tanaman terjadi di daun.

Dalam aplikasi VGR untuk menurunkan layu pentil kakao, parameter yang diamati adalah kuantitas pentil layu atau pentil segar yang berkembang lebih lanjut. Kuantifikasi dilakukan hingga pentil yang segar berkembang seukuran dan bebas kelayuan, yaitu lebih besar dari 10 cm atau hingga empat minggu setelah penyemprotan pertama. Penyemprotan pada buah kakao diulang pada minggu ke 3. Penyemprotan dilakukan pada saat teduh, sore atau pagi hari, dan tidak hujan hingga 3 jam setelah penyemprotan.

Ekstraksi dan analisis VGR

Untuk memastikan bahwa komponen aktif dari formula terserap oleh jaringan tanaman, analisis adanya komponen tersebut dilakukan dengan kombinasi antara ekstraksi dan teknik kromatografi. Kuantitas ZPT yang masuk ke dalam jaringan kakao kemudian dianalisis dengan HPLC. Ekstraksi dilakukan dengan cara merendam jaringan uji yang telah dicuci bersih dengan akuades, menggunakan metanol sebagaimana diuraikan oleh Prawoto (2000) untuk analisis kandungan hormon giberelin dan auksin dalam jaringan tanaman kakao.

Hasil dan Pembahasan

VGR menghambat pertumbuhan vegetatif tanaman.

Pemakaian VGR dapat memberikan pengaruh fisiologis langsung terhadap tanaman dalam penghambatan pertumbuhan vegetatif. Untuk menguji aktivitas VGR telah dilakukan pengujian *in vitro* menggunakan planlet tembakau. Tampak bahwa morfologi planlet yang kerdil oleh aktivitas penghambatan pertumbuhan vegetatif dari



Gambar 1. Pengujian *in vitro* aktivitas VGR terhadap planlet tembakau. Gambar kiri adalah planlet pada media dengan 50 ppm VGR, kanan tanpa VGR

Figure 1. *In vitro* assay of VGR activity to tobacco plantlet. Left panel is the plantlet on the media with 50 ppm VGR, right is without VGR

Tabel 1. Efek level VGR terhadap Pertumbuhan tumbuhan vegetatif planlet tembakau *in vitro*

Table 1. The effect of VGR level on the growth of tobacco plantlet *in vitro*

VGR, ppm	Panjang ruas, cm <i>Internode, cm</i>	Jumlah daun <i>Leaf number</i>
0	1,1	7,5
2	1,1	7,0
5	0,7	4,5
10	0,4	6,0
20	0,3	4,3
50	0,2	3,3

VGR di dalam media kultur (Gambar 1). Secara visual sangat jelas bahwa VGR menghambat pertumbuhan memanjang pada planlet uji. Sementara itu makin tinggi kadar VGR hingga 50 ppm di dalam media kultur makin kuat pengaruh penghambatan ter-

hadap pertumbuhan vegetatif planlet uji. Dengan konsentrasi uji tertinggi, pemanjangan ruas batang terhambat sekitar 81,8% yaitu dari 11 mm pada kontrol menjadi 2 mm pada planlet uji (Gambar 1). VGR juga menyebabkan terjadinya penghambatan pertumbuhan vegetatif antara lain dapat dilihat dari jumlah helai daun pada setiap planlet (Tabel 1). Makin tinggi kadar VGR dalam media kultur, jumlah helai daun dari planlet yang tumbuh pada media tersebut makin sedikit jumlahnya. Pada media yang mengandung 50 ppm VGR, jumlah daun rata-rata hanya 3,3 helai per planlet. Sementara itu pada kultur kontrol tanpa VGR jumlah rata-rata daun 7,5 helai per planlet.

Aktivitas penghambatan vegetatif VGR diduga terjadi melalui penghambatan biosintesis asam giberelat (GA). Menurut Watimena *et al.* (1992) GA memiliki fungsi fisiologis mempengaruhi pemanjangan dan pembesaran sel dari organ. Terhadap jaringan batang menyebabkan penambahan panjang ruas atau batangnya. Di dalam alur biosintesis giberelin, VGR berinteraksi negatif dengan enzim ent-katuren sintetase (Davies, 1995). Interaksi ini menghambat aktivitas enzim tersebut sehingga menyebabkan turunnya kadar GA di dalam sel yang pada akhirnya proses pemanjangan sel dan jaringan juga berlangsung lebih lambat.

Aplikasi VGR

Aplikasi senyawa bioaktif pada tanaman dapat dilakukan dengan berbagai cara, tergantung pada karakteristik baik tanaman maupun senyawa tersebut. Penyiraman di sekitar pohon, cara dan hasilnya diuraikan oleh Winarsih & Prawoto (1991). Pengerokan kulit batang yang diikuti dengan olesan formula, disebutkan efektif dalam menyembuhkan pohon karet yang terserang kering

Teknik aplikasi dan efektivitas formula VGR....

alur sadap (Siswanto, 1995). Demikian juga, penyemprotan pada daun yang sampai saat ini banyak digunakandalam aplikasi bahan kimia terhadap tanaman (Schonherr *et al.*, 2000). Cara-cara tersebut diuji efektivitasnya dalam memasukkan VGR ke dalam sel tanaman kakao. Empat dari enam cara yang diuji menunjukkan adanya efektivitas. Penyemprotan melalui daun bagian atas lebih efektif dibandingkan dengan bagian daun lainnya (Tabel 2).

Efektivitas penyemprotan melalui daun terkait dengan kesesuaian sifat daun dan kondisi larutan VGR-nya. Proses transpor pasif non-ionik dapat dimodifikasi dengan mengatur kondisi larutan bahan aktif (Schonherr *et al.*, 2000). Sedangkan lapisan atas lebih efektif daripada lapisan bawah kemungkinan terkait dengan distribusi stomata pada kedua bagian daun tersebut. Menurut Mayer *et al.* (1973), distribusi dan ukuran stomata pada tanaman sangat bervariasi, tergantung dari spesies dan keadaan lingkungan dimana tanaman tersebut berkembang. Menurut Prawoto (komunikasi pribadi) stomata daun kakao hanya terdapat pada lapisan bawah daun. Oleh karena itu kemungkinan lainnya adalah efektivitas tersebut terkait dengan kesesuaian sifat fisik/kimiawi antara bahan aktif formula dengan lapisan luar organ daun kakao. Pada pH yang lebih rendah dari pKa VGR menyebabkan populasi non-ionik dari molekul VGR meningkat jumlahnya. Kondisi ini memudahkan VGR masuk ke dalam sel di jaringan daun karena kesesuaian hodropobisitas antara jaringan epidermis daun dengan larutan VGR.

VGR yang telah masuk ke dalam sel jaringan daun menjadi encer oleh cairan sitoplasma sel yang membuat kelarutannya lebih baik dan meningkatkan mobilitasnya di dalam jaringan tanaman kakao. Fenomena ini dikuatkan oleh data yang menunjukkan bahwa kandungan VGR yang relatif cukup

tinggi juga ditemukan pada daun yang tidak disemprot atau disebut tetangga (Tabel 2). Mobilitas semacam ini secara logis akan terjadi juga pada jaringan pertunasan.

VGR menurunkan tingkat layu pentil kakao

Pengaruh VGR terhadap penurunan layu pentil kakao mulai terjadi pada satu minggu setelah pengamatan, dan tertinggi pada minggu ke 3. Pada minggu ke 4, pengaruh tersebut mulai melemah (Gambar3). Fenomena fisiologis ini dapat dikaitkan dengan proses molekuler dan sintesis hormon giberelin (GA). Biosintesis GA terhambat oleh masuknya VGR ke dalam sel Penambahan komponen 100 ppm

Tabel 2. VGR terdeteksi dalam jaringan daun kakao setelah aplikasi

Table 2. VGR detected in the cacao leaf tissue after application

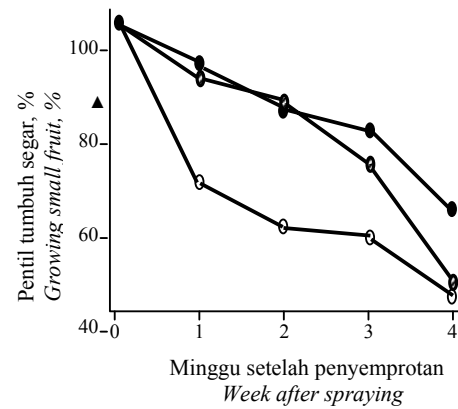
Metode aplikasi <i>Application method</i>	VGR ppm
Kontrol, H ₂ O <i>Control</i>	0,00
Oles kulit batang <i>Bark wiping</i>	0,00
Oles kayu batang <i>Wood wiping</i>	0,00
Semprot daun atas <i>Upper foliar spray</i>	4,07
Semprot daun atas, tetangga <i>Upper foliar spray, next leaf</i>	5,25
Semprot daun bawah <i>Lower foliar spray</i>	0,86
Semprot daun bawah, tetangga <i>Lower foliar spray, next leaf</i>	1,14
Semprot buah <i>Fruit spray</i>	0,18
Siram, 50 cm seputar pohon <i>Watering 50 cm around the tree</i>	0,91

bufer pH 4,5 dapat menekan tingkat layu pentil pada tanaman kakao sehingga level GA-nya menurun. Penurunan ini menyebabkan pertumbuhan vegetatif terhambat atau berlangsung lebih lambat. Oleh sebab itu metabolit yang perlu dialokasikan ke jaringan vegetatif menjadi lebih sedikit, konsekuensinya aliran metabolit ke arah pertumbuhan reproduktif atau buah menjadi lebih banyak. Realokasi ini menyebabkan pertumbuhan buah kakao menjadi lebih baik. Melemahnya pengaruh VGR yang teramati jelas setelah tiga minggu menyebabkan level GA di dalam sel mulai normal kembali.

Pengaruh penambahan bufer larutan asam dalam formulasi terhadap efektivitas VGR dalam menurunkan tingkat layu pentil kakao, diuji pada kakao di kebun. Penambahan komponen 100 ppm bufer 4,5 dapat menekan tingkat layu pentil pada minggu ke 3 sebesar 61,3%, yaitu dari 48,6 % pada VGR tanpa bufer, menjadi 18,8 % pada kadar VGR yang sama dengan bufer. Dari data tersebut diduga bahwa membaiknya kinerja VGR pada pH 4,5 terkait dengan efektivitas masuknya VGR ke dalam jaringan kakao.

Pada tingkat keasaman tersebut, VGR berada dalam bentuk non-ionik. Dalam

keadaan keseimbangan pKa VGR sekitar 5,4. Bentuk ionik tersebut sesuai dengan karakteristik molekuler dari lapisan luar daun kakao, yaitu adanya lapisan lilin menyebabkan daun kakao bersifat sedikit hidropobik. Kesesuaian sifat keduanya ini akan memudahkan larutan VGR yang diaplikasikan di daun, terserap lebih efektif. Kemungkinan tambahan adanya komponen di dalam bufer tersebut melalui mekanisme tertentu meningkatkan aliran fotosintat



Gambar 3. Kinetika penurunan layu pentil oleh penyemprotan air tanpa VGR (○), VGR 25 ppm (▲) dan 100 ppm (●).

Figure 3. Kinetics of cherelle wilt by spraying with water (○), 25 ppm (▲) and 100 ppm VGR (●)

Tabel 3. Pengaruh penambahan bufer asam ke formulasi dengan 50 ppm VGR
Table 3. The effect of acidic buffer addition to the formula with 50 ppm VGR

Perlakuan Treatment	Tingkat kelayuan kumulatif (%) pada minggu Cumulative cherelle wilt (%) at week			
	I	II	III	IV
Tanpa bufer Without buffer	20,7	40,8	48,6	64,6
Dengan bufer With buffer	9,4	15,8	18,8	39,9

Teknik aplikasi dan efektivitas formula VGR....

Tabel 4. Residu VGR pada biji kakao dan ambang batas yang diterima di (AB) beberapa negara.

Table 4. VGR residue in the caca o bean and acceptable maximum limit (AML) in

Perlakuan / ^{some countries} batas di negara Treatment/country limit	VGR, ppm
Perlakuan VGR 500X2 VGR treatment	0,004
Perlakuan VGR 1000 VGR treatment	0,008
AB Australia (AML)	0,750
AB Eropa (Europe AML)	0,500
AB Inggris (UK AML)	0,050
AB Jepang (Japan AML)	1,000
AB Kanada (Canada AML)	0,100

Sumber : Anonim (2002)

ke arah jaringan non-fotosintetik terutama jaringan penyimpanan buah kakao yang sedang berkembang. Tercukupinya kebutuhan metabolit tersebut membuat perkembangan buah, terutama yang muda menjadi lebih baik. Hal tersebut menyebabkan tingkat layu pentil kakao menurun.

Residu VGR di dalam biji kakao

Untuk mengetahui keamanan biji kakao sebagai pangan, dilakukan analisis residu VGR di dalam biji dari pohon kakao yang mendapat perlakuan VGR. Hasil yang

diperoleh menunjukkan bahwa residu VGR yang ditemukan dalam biji kakao sangat rendah, antara 0,004 – 0,008 ppm. Angka ini jauh lebih rendah daripada ambang batas yang ditetapkan di beberapa negara, antara lain di Inggris 0,05 ppm (Tabel 4). Berdasarkan residu VGR dalam

biji kakao dan ambang batas yang diterima di (AB) beberapa negara ternyata residu tersebut ngat rendah yaitu sekitar 8 – 16% dari ambang batas (Anonim, 2002).

Kesimpulan

Penyemprotan pada lapisan atas daun merupakan cara yang paling efektif untuk mengaplikasikan formula VGR dalam menurunkan tingkat layu pentil kakao. Penambahan komponen bufer dalam formulasi dapat meningkatkan pengaruh VGR dalam penurunan tingkat layu pentil kakao.

Ucapan Terima Kasih

Penelitian ini dibiayai dari anggaran proyek PAATP Badan Litbang Departemen Pertanian Nomor PL.420.0103.320/P2KP3 tahun 2001. Penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada PTP Nusantara VIII atas fasilitas tanaman kakao di kebun Rajamandala, Bandung, Jawa Barat dan Koperasi Logistik KOPEL, Jakarta atas segala dukungan kerjasamanya.

Daftar Pustaka

- Alvim, P.T. (1977). Ecological and physiological determinants of cocoa yield. *In. Proc. V Int. Cacao Conf.* 1975. Ibadan Nigeria, p.25-38.
- Anonim (2002). Agrochemicals, maximum recidu limits. [serial online] <http://www.awri.com.au/agrochemicals/mrls/>
- Blázquez, M.A., R. Green, O. Nilsson & M.R. Sussman (1998). Gibberellins promote flowering of Arabidopsis by activating the *LEAFY* promoter. *Plant Cell*, **10**, 791-800.

- Davies, P.J. (1995). *Plant hormones*. Boston, Kluwer Academic Publisher, 833p.
- Duke, J.A. (1983). *Theobroma cacao L. sterculiaceae: chocolate, cacao, cocoa. Handbook of energy crops*. Unpublished (up date from Web site, January 9, 1998).
- Gianfagna, T.J. (1990). Natural and synthetic growth regulators and their use in horticultural and agronomic crops. In P.J. Davis (ed). *Plant hormones and their role in plant growth and development*. London Kluwer Acad. Publ. , p. 614-635.
- Mayer, B.S., D.B. Anderson, R.H. Bohning & D.G. Fratianne (1973). *Introduction to plant physiology*, 2nd edition, New York, Litteron Edu Publ. Inc. p.69-95.
- McKelvie, A.D. (1957). Physiological of fruiting. *Ann. Rep. West African Cacao Res. Inst.*, 1956-1956, 71-76.
- Nilsson, O., I. Lee, M.A. Blázquez & D. Weigel (1998) Flowering-time genes modulate the response to *LEAFY* activity. *Genetics*, **150**, 403-410.
- Prawoto, A.A. (2000). Kajian fenomena layu pentil kakao (*cherelle wilt*) serta perkembangan upaya pengendaliannya. *Dalam Simposium Kakao 2000*, Surabaya, 26-27 September 2000.
- Rademacher, W. (1995). Growth retardants: Biochemical features and application in horticulture. *Acta Horticulturae*, **394**, 57-73.
- Santoso, D. (1999). Metabolic engineering to improve production and quality of cocoa beans. *Jurnal Agribisnis*, **3**, 14-21. Santoso, D., S.Wiryadiputa, T. Chaidamsari & R.A. de Maagd (2001). Development of cacao resistant to pod borer: a prioritized application of plant genetic engineering. In. Koesnandar *et al.* (eds.) *Proc. Int. Biotech. Conf.*, Yogyakarta Oct 23-26, 2001, p. 95-100.
- Schonherr, P. Baur & BA Uhlig (2000). Rates of cuticular penetration of 1-naphthyl-acetic acid (NAA) as affected by adjuvants, temperature, humidity and water quality. *Plant Growth Reg.*, **31**, 61-74.
- Siswanto (1995). Penanda molekul sebagai penduga dini untuk beberapa karakter penting tanaman karet. *Dalam Danimihardja et al.* (eds). *Laporan Tahunan 1995*. Bogor, Puslit Bioteknologi Perkebunan, 33p.
- Susanto, F.X. (1994). *Tanaman kakao, budidaya dan pengolahan hasil* Yogyakarta, Penerbit Kanisus , 33p.
- Tjasadihardja, A. (1987). *Hubungan antara pertumbuhan pucuk, perkembangan buah serta tingkat kandungan asam indol asetat di dalam biji dan layu pentil kakao*. Bogor, Sekolah Pascasarjana IPB, 124p. Disertasi
- Tzoutzoukou, C.G., C.A. Pontikis & A. Tolia-Marioli (1998). Effect of gibberellic acid on bloom advancement in female pistachio (*Pistacia vera* L.). *J. Hort. Sci. & Biotech.*, **73**, 517-526.
- Watimena, G.A., L.W. Gunawan, N.A. Matjik, E. Syamsudin, N.M.A. Wiendi & A. Ernawati (1992). *Bioteknologi Tanaman*. Lab. Kultur Jaringan Tanaman. Bogor, Depdikbud, Dirjendikti. PAU IPB. 309p. Winarsih, S. & A. Prawoto (1991). Pengaruh konsentrasi kultar dan letak aplikasi terhadap daya hasil kakao. *Pelita Perkebunan*, **7**, 74-78.

