

## The Impact of Calcium Supplementation on Physiological Activity and Cherelle Wilt Reduction in Cocoa (*Theobroma cacao* L.)

Yovi Avianto<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Institut Pertanian STIPER Yogyakarta, Departemen Agroteknologi, Sleman, Indonesia;

### Article History

Received : December 30<sup>th</sup>, 2024

Revised : January 04<sup>th</sup>, 2024

Accepted : January 19<sup>th</sup>, 2025

\*Corresponding Author: **Yovi Avianto**, Institut Pertanian STIPER Yogyakarta, Departemen Agroteknologi, Sleman, Indonesia; Email: [yovi@instiperjogja.ac.id](mailto:yovi@instiperjogja.ac.id)

**Abstract:** Cocoa production in Indonesia has been challenged by declining productivity due to various factors, including cherelle wilt. Cherelle wilt, a condition characterized by the premature dropping of cocoa cherelle, is attributed to hormonal imbalances, nutrient deficiencies, and abiotic stresses. Calcium, as an essential nutrient, plays a crucial role in plant growth and can help mitigate the incidence of cherelle wilt. This study aimed to investigate the efficacy of calcium application in enhancing fruit set and reducing cherelle wilt in cocoa trees. The research was conducted from August 2020 to September 2022 at PT Pagilaran's Segayung Utara cocoa plantation, utilizing the RCC70 clone. Calcium chloride (CaCl<sub>2</sub>) was applied at rates of 0, 100, 200, 300, and 400 grams per tree per year. Results indicated that calcium fertilization improved the physiological performance of cocoa trees, as evidenced by enhanced chlorophyll fluorescence (Fv/Fm) and photosynthetic rate. These physiological improvements led to increased flower and fruit production, as well as a reduction in the incidence of cherelle wilt, particularly at application rates of 200-400 grams per tree per year. Consequently, overall yield and productivity were significantly increased at these rates.

**Keywords:** Calcium signaling, calmodulin, cell wall, cherelle wilt, cocoa.

### Pendahuluan

Selama 25 tahun terakhir, industri kakao di Indonesia telah mengalami pertumbuhan yang signifikan. Pertumbuhan ini terjadi berkat peran aktif petani kecil. Sebanyak 95% produksi biji kakao dihasilkan dari lahan yang dimiliki oleh petani kecil di Indonesia. Terdapat sekitar 1,4 juta petani kecil yang menggantungkan hidupnya pada lahan seluas 1,5 juta hektar (Praseptiangga *et al.*, 2020). Agar Indonesia dapat memenuhi permintaan global akan kakao, diperlukan peningkatan produktivitas per hektar. Di sisi lain, terjadi penurunan luas lahan produksi kakao di Indonesia. Rendahnya produktivitas kakao disebabkan oleh beberapa faktor, seperti penggunaan klon yang kurang produktif, perubahan iklim, peningkatan insidensi serangan organisme pengganggu tanaman (OPT), penyakit fisiologis layu pentil, dan penurunan kesuburan tanah.

Layu pentil adalah kondisi fisiologis yang ditandai dengan gugurnya pentil buah kakao (*Theobroma cacao*) pada tahap awal perkembangan buah (Melnick, 2016). Penyakit fisiologis ini seringkali menyebabkan penurunan produktivitas tanaman. Saat ini penyebab layu pentil masih menjadi pro kontra. Layu pentil terjadi akibat terganggunya keseimbangan hormon pertumbuhan, seperti auksin dan gibberellin (Astuti *et al.*, 2011), tidak terekspresinya gen transpor auksin (Astuti *et al.*, 2010), kurangnya pasokan boron (Hasanuddin *et al.*, 2019), serta rendahnya suplai nutrisi dan air ke pentil buah (Bhavishya *et al.*, 2024; Santoso & Rahmawan, 2016). Selain faktor internal, penelitian terdahul juga menunjukkan bahwa stress abiotik seperti suhu tinggi dan defisit air juga meningkatkan kejadian layu pentil (Adet *et al.*, 2024; Daymond & Hadley, 2008). Selain itu, pengelolaan yang tidak optimal, seperti pemangkasan yang kurang tepat atau

minimnya aplikasi kalsium, juga berkontribusi pada tingginya tingkat layu pentil (Esche *et al.*, 2023). Studi-studi sebelumnya juga mencatat bahwa aplikasi hormon tertentu dan pemupukan kalsium dapat membantu mengurangi insiden layu pentil dengan memperbaiki struktur dinding sel, memperkuat jaringan, dan meningkatkan *fruit set* (Bhavishya *et al.*, 2024; Lubis *et al.*, 2022).

Tanaman kakao yang dibudidayakan di perkebunan rakyat sering kali mengalami kekurangan hara, baik makro maupun mikro, yang mengakibatkan produktivitas menurun (Fungenzi *et al.*, 2021). Kalsium (Ca) merupakan salah satu unsur hara penting pada tanaman kakao. Namun, penelitian mengenai kalsium masih terbatas dibandingkan unsur hara lainnya seperti nitrogen (N), fosfor (P), dan kalium (K) (Mulia *et al.*, 2019). Pemenuhan kebutuhan kalsium dapat dilakukan melalui aplikasi kapur pertanian, khususnya dolomit. Namun, ketepatan aplikasi kapur dolomit dalam hal dosis sering kali kurang optimal serta pencampuran yang tidak disengaja dengan unsur hara lain (Van Vliet & Giller, 2017).

Kalsium adalah salah satu unsur hara esensial bagi tanaman yang berfungsi sebagai komponen pembentuk dinding sel dan membran sel (Aras *et al.*, 2021; Thor, 2019). Penelitian oleh Lubis *et al.*, (2022) menunjukkan bahwa kalsium berperan penting dalam pembentukan struktur xilem, floem, stele, gabus, dan korteks sekunder. Fungsi lain kalsium dalam proses fisiologis dan sinyal meliputi peningkatan laju transpirasi (Eticha *et al.*, 2017; Sitko *et al.*, 2019), pengendalian konduktansi stomata (Duan *et al.*, 2020; Eticha *et al.*, 2017; Hu *et al.*, 2018), kadar klorofil dan prolin (Naeem *et al.*, 2018), serta aktivitas enzim antioksidan (Elkelish *et al.*, 2019; Kolupaev *et al.*, 2017). Kalsium mampu meningkatkan aktivitas enzim Pyrroline-5-carboxylate reductase yang berperan dalam mengkatalisis konversi glutamat menjadi prolin (La *et al.*, 2020; Siddiqui *et al.*, 2020). Proses katalisis ini diatur oleh enzim  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase dan kalmodulin (Astegno *et al.*, 2017; Krylova *et al.*, 2023).

Aplikasi kalsium pada tanaman kakao umumnya dilakukan dalam bentuk dolomit yang sekaligus berfungsi memperbaiki pH

tanah. Namun, di Indonesia aplikasi dolomit sering dilakukan tanpa Standar Operasional Prosedur (SOP) yang jelas, sehingga gejala defisiensi kalsium tetap terlihat pada tanaman kakao. Sumber hara kalsium juga bisa didapatkan dari pupuk lain seperti  $\text{CaNO}_3$ ,  $\text{CaCO}_3$ ,  $\text{CaSO}_4$ , dan  $\text{CaCl}_2$ , sehingga hambatan defisiensi kalsium dapat dikurangi. Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan pupuk  $\text{CaCl}_2$  karena tingkat kelarutannya cukup tinggi. Dengan demikian, hara kalsium akan lebih cepat tersedia bagi tanaman kakao. Penelitian yang menggunakan pupuk  $\text{CaCl}_2$  masih belum banyak dilakukan. Lubis *et al.*, (2022) meneliti pengaruh  $\text{CaCl}_2$  dan berfokus pada efeknya di anatomi perakaran kakao.

Penggunaan pupuk  $\text{CaCl}_2$  sudah cukup umum diteliti di tanaman lain, tetapi aplikasinya dilakukan secara foliar. Medan (2020) menemukan bahwa aplikasi  $\text{CaCl}_2$  secara foliar dan tabur dapat memengaruhi produksi dan kualitas buah di tanaman apricot. Penelitian lain dari Ajender *et al.*, (2019), aplikasi  $\text{CaCl}_2$  secara foliar dapat meningkatkan *fruitset* apel. Aplikasi foliar  $\text{CaCl}_2$  juga dapat mengurangi kerontokan bunga dan buah di tanaman persik, sehingga dapat meningkatkan hasil (Shahid *et al.*, 2020). Berdasarkan penelitian-penelitian tersebut masih terdapat kesenjangan metode dan pengetahuan mengenai aplikasi  $\text{CaCl}_2$  secara tabur di tanaman kakao. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pupuk  $\text{CaCl}_2$  secara tabur dalam meningkatkan *fruit set* dan mengurangi layu pentil. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjawab kesenjangan pengetahuan terkait penggunaan pupuk kalsium. Dengan demikian, pupuk kalsium diharapkan dapat diaplikasikan secara lebih efektif untuk meningkatkan produktivitas tanaman dan kualitas hasil panen kakao pada skala luas

## **Bahan dan Metode**

### **Lokasi, pemilihan sampel tanaman dan pengamatan iklim mikro**

Penelitian dilakukan selama 3 tahun dari bulan Agustus 2020 sampai September 2022 di Perkebunan PT Pagilaran, Unit Segayung Utara, Jawa Tengah, Indonesia (lat 6° 56' 32" S; long 109° 48' 9" E) dengan ketinggian tempat 51

mdpl. Jenis tanah pada lokasi penelitian adalah latosol dengan penciri berwarna merah, bertekstur lempung dan memiliki solum horizon. Data cuaca terutama curah hujan, suhu udara, dan kelembaban udara selama periode penelitian didapatkan dari stasiun pengukuran cuaca milik Kebun Produksi. Data kadar lengas tanah diambil di awal aplikasi pupuk, pertengahan dan akhir untuk kemudian dirata-rata dan ditampilkan dengan data iklim mikro.

### Rancangan perlakuan dan aplikasi pupuk

Pohon kakao yang digunakan dalam penelitian ini berumur 15 tahun dengan klon RCC70. Tanaman kakao tersebut ditanam pada kebun seluas 160 hektar. Penelitian ini menggunakan rancangan acak kelompok lengkap (RAKL) dengan 3 blok ulangan dan 5 perlakuan. Blok ulangan didasarkan pada tingkat kandungan kalsium (Ca) di dalam tanah. Pada setiap blok, plot perlakuan dibuat dengan ukuran 180 m<sup>2</sup> yang terdiri atas 5 × 5 baris tanaman kakao dengan jarak tanam 2,5 m × 2 m. Setiap plot terdiri atas 25 pohon, sehingga total terdapat 125 pohon dalam penelitian ini. Baris terluar pohon kakao pada setiap plot digunakan sebagai baris pelindung (16 pohon), sedangkan 9 pohon yang tersisa di tengah plot digunakan untuk evaluasi (total 45 pohon dievaluasi dalam penelitian ini).

Perlakuan pemupukan rutin diterapkan pada tanaman di setiap blok pada awal dan akhir musim hujan. Pupuk yang diaplikasikan per tanaman meliputi 220 gram urea, 180 gram SP-27, 150 gram KCl, dan 120 gram kieserite. Pupuk ini diaplikasikan ke seluruh plot perlakuan dengan metode penaburan tangan (hand broadcasting) sebanyak dua kali dalam setahun. Sementara itu, pupuk kalsium dalam bentuk CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O diaplikasikan dengan dosis 0, 100, 200, 300, dan 400 gram per tanaman. Aplikasi pupuk kalsium dilakukan dengan metode penaburan tangan satu bulan setelah pemupukan rutin (pada bulan Mei dan September).

Semua tanaman kakao dipelihara sesuai standar Good Agricultural Practices yang diterapkan oleh Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia. Tanaman dipangkas secara rutin terutama sebelum musim hujan untuk mengurangi potensi serangan *Phytophthora palmivora*. Gulma pada lingkungan pertanaman dibersihkan secara rutin secara manual. Sebelum perlakuan diberikan, semua buah dan bunga yang

masih menempel di pohon dibersihkan terlebih dahulu. Sisa polong dan bunga dimasukkan ke dalam rorak untuk menambah kadar bahan organik dalam tanah.

### Pengambilan data fisiologis tanaman

Aktivitas fisiologis tanaman diamati pada bulan Agustus 2022 tepat dua tahun setelah aplikasi pupuk CaCl<sub>2</sub>·H<sub>2</sub>O. Parameter fisiologis yang diamati adalah kadar klorofil A, klorofil B, total klorofil, rasio klorofil A/B yang diamati menurut metode (Coombs *et al.*, 1985) dan prolin (Bates *et al.*, 1973). Pengukuran laju fotosintesis menggunakan metode dari Pratt & Mendoza Jr. (1979).

Sampel daun kakao untuk parameter fisiologis diambil dari *flush* (daun muda) yang telah berkembang menjadi daun tua setelah dua tahun aplikasi pupuk. Untuk pengamatan laju fotosintesis, daun disungkup dengan plastik bening dari pukul 05.00 pagi hingga 18.00 sore. Plastik tidak boleh tembus udara dan disungkup rapat ke daun. Pada batas akhir waktu, gas di dalam plastik diambil menggunakan *syringe* sebanyak 10 mL dan diinjeksikan ke *vacuum tube*. Daun kakao diambil kemudian ditimbang bobot segarnya. Gas kemudian direaksikan dengan 0,1 g bromtimol biru dan 2 g natrium bikarbonat per liter air. Udara dialirkan melalui larutan natrium bikarbonat yang mengandung pewarna pH bromtimol biru. Selanjutnya, larutan dianalisis menggunakan spektrometri dengan panjang gelombang 615 nm. Konsentrasi CO<sub>2</sub> dihitung melalui kurva kalibrasi dan dinyatakan sebagai persen transmisi.

Variabel lain yang diamati adalah efisiensi fotosintesis atau fluoresensi klorofil. Efisiensi fotosintesis ditentukan dengan mengukur fluoresensi klorofil menggunakan fluorometer OS-30p (Opti Sciences). Pengamatan fluoresensi dilakukan pada tanaman terpilih yang digunakan untuk pengukuran total CO<sub>2</sub>. Pengukuran dilakukan pada pukul 07.00 dengan cara membungkus daun menggunakan plastik gelap selama 20 menit. Setelah itu, fluoresensi diukur secara langsung dengan intensitas cahaya sebesar 6000 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> selama 2 detik.

### Pengamatan pentil dan produksi

Ekspresi pupuk pada tanaman kakao muncul setidaknya 1 tahun setelah aplikasi. Pada awal tahun kedua, dilakukan

penghitungan jumlah bunga yang terbentuk dalam satu pohon. Setelah itu, tanaman kakao dipasang paranet hitam di bagian bawah tajuk untuk menampung bunga dan pentil yang rontok. Pengamatan bunga dan pentil yang rontok dilakukan tiap minggu dan diakumulasikan di akhir saat pentil terbentuk menjadi polong. Persentase tingkat gugur bunga dan layu pentil dapat diukur dengan rumus pada persamaan 1.

$$BG (\%) = \frac{JBG}{TB} \times 100 \quad (1)$$

BG : Persentase bunga gugur  
JBG : Jumlah bunga gugur  
TB : Total bunga

$$LP (\%) = \frac{JPL}{JPT} \times 100 \quad (2)$$

LP : Persentase layu pentil  
JPL : Jumlah pentil layu  
JPT : Jumlah pentil terbentuk

Pentil yang terbentuk menjadi polong dipanen saat masuk umur siap panen. Polong dan biji kemudian ditimbang untuk menghitung produksi per pohon. Data produksi kemudian dikomversikan ke produktivitas per ha.

#### Analisis data

Data dianalisis dengan menggunakan analisis varians (ANOVA) pada taraf kesalahan 5% dan dilanjutkan dengan HSD Tukey jika terdapat beda nyata antar dosis. Penyajian data dibuat dalam bentuk diagram garis mencantumkan *standard error*. Proses analisis data dilakukan dengan bantuan perangkat lunak *R-software* dan *R-studio* versi 4.4.2.

#### Hasil dan Pembahasan

##### Kondisi iklim mikro lokasi penelitian

Kondisi iklim mikro di lokasi penelitian kakao menunjukkan variasi antar tahun (Tabel 1). Berdasarkan standar Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia (Puslitkoka), kakao memerlukan suhu minimum 21°C dan maksimum 30°C, kelembaban sekitar 80%, serta curah hujan tahunan sekitar 3000 mm. Data penelitian menunjukkan bahwa suhu minimum

pada tahun 2020, 2021, dan 2022 berkisar antara 21,3°C hingga 24,1°C, yang memenuhi syarat suhu minimum. Namun, suhu maksimum yang tercatat (33,5°C hingga 36,0°C) melampaui batas optimal untuk pertumbuhan kakao, sehingga dapat memengaruhi metabolisme dan fisiologi tanaman, seperti penurunan fotosintesis.

Kelembaban harian di lokasi penelitian bervariasi dari 55,8% hingga 72,4%, yang berada di bawah standar kelembaban optimal (80%) menurut Puslitkoka (Tabel 1). Hal ini menunjukkan bahwa tanaman kakao di lokasi penelitian kemungkinan mengalami stres akibat kondisi udara yang relatif kering, terutama pada tahun 2021 dengan kelembaban terendah (55,8%). Curah hujan tahunan tercatat cukup tinggi, yaitu 3403–3655 mm selama tiga tahun penelitian, yang sudah memenuhi standar minimum 3000 mm untuk pertumbuhan kakao. Namun, distribusi hujan yang tidak merata sepanjang tahun juga berpotensi memengaruhi produktivitas tanaman kakao.

##### Aktivitas fisiologis tanaman kakao

Kalsium (Ca) memiliki peran vital dalam berbagai proses fisiologis tanaman, mulai dari pertumbuhan hingga adaptasi terhadap stres lingkungan. Di dalam sel, kalsium membentuk kalsium pektat di lamela tengah. Struktur ini memberikan kekuatan pada sel untuk tetap turgid dalam kondisi tercekam maupun normal. Selain itu, kalsium juga memperkuat membran sel dengan menstabilkan fosfolipid. Dengan struktur ini, kalsium dapat menjaga fluiditas dan mencegah kebocoran ion penting seperti kalium (K<sup>+</sup>).

Klorofil adalah molekul esensial yang berperan penting dalam menangkap energi foton (cahaya matahari) dan sebagai pengangkut elektron dalam sistem antena kloroplas. Metabolisme klorofil berlangsung melalui proses yang dikatalisis oleh banyak enzim (Tanaka dan Tanaka, 2006). Kalsium merupakan nutrisi yang memiliki peran penting dalam biosintesis klorofil. Meskipun demikian, Tabel 2 menunjukkan bahwa pemberian pupuk kalsium tidak meningkatkan kandungan klorofil A, klorofil B, maupun rasio klorofil A/B pada daun tanaman kakao. Hasil ini berbeda dengan penelitian yang dilakukan di tanaman mentimun (He *et al.*, 2018); teh (Malyukova *et al.*, 2021); dan cabai (Akladious & Mohamed, 2018).

Perbedaan hasil ini kemungkinan disebabkan tanaman kakao pada penelitian ini tidak mengalami cekaman yang berlebih. Hal ini dapat dilihat dari kondisi lingkungan mikro yang cukup sesuai bagi tanaman kakao terutama curah hujan yang mencukupi.

Data pada Tabel 2 memiliki kandungan prolin yang nyata lebih tinggi ditemukan pada tanaman yang tidak diaplikasikan  $\text{CaCl}_2$  dan pada dosis 100 gram/pohon. Dengan nilai prolin tersebut, secara kenampakan tanaman tidak menunjukkan gejala cekaman. Akan tetapi di dalam jaringan, terdapat kemungkinan kalsium yang diaplikasikan minimal 200 gram/pohon dapat mengurangi cekaman yang terjadi pada tanaman kakao. Tabel 2 juga menunjukkan fluoresensi klorofil tanaman kakao. Parameter  $F_v/F_m$  sering digunakan untuk mengukur efisiensi kuantum maksimum Fotosistem II. Nilai  $F_v/F_m$  yang tinggi menunjukkan efisiensi penggunaan energi cahaya yang optimal untuk menghasilkan energi kimia (Goltsev *et al.*, 2016). Kakao tanpa pemupukan kalsium dan dengan 100 gram/pohon (0,63 dan 0,67) memiliki nilai yang nyata lebih rendah dibandingkan perlakuan lain. Nilai pada dosis 200 gram, 300 gram dan 400 gram tidak berbeda nyata (0,83; 0,81 dan 0,82). Nilai optimal  $F_v/F_m$  pada tanaman sehat biasanya berkisar antara 0,75 hingga 0,85. Hal ini menunjukkan bahwa dosis kalsium 200 gram merupakan dosis optimal untuk mendukung efisiensi maksimum transfer energi cahaya di Fotosistem II (PSII). Sementara itu, peningkatan dosis lebih dari 200 gram tidak memberikan peningkatan signifikan.

Efisiensi fotosintesis ditunjukkan di dalam Tabel 2 dalam parameter laju fotosintesis. Sesuai dengan fluoresensi klorofilnya, tanaman kakao yang tidak dipupuk kalsium dan dipupuk dengan dosis 100 gram memiliki laju fotosintesis yang nyata lebih rendah dibanding dosis di atasnya (1,12 dan 1,18 dibandingkan 1,37; 1,31 dan 1,43). Kalsium ( $\text{Ca}^{2+}$ ) memainkan peran penting dalam fotosintesis. Hal ini terutama dalam menjaga stabilitas dan efisiensi Fotosistem II melalui perannya di kompleks penghasil oksigen (*oxygen-evolving complex*, OEC) (Ifuku & Noguchi, 2016). Kompleks ini berperan dalam fotolisis air dan produksi oksigen. Selain itu, kalsium mengatur aktivitas enzim fotosintesis seperti  $\text{NAD}^+$  kinase (Tai *et al.*, 2019), mengatur buka tutup stomata untuk mengoptimalkan difusi

$\text{CO}_2$  (Yamano *et al.*, 2018), dan bertindak sebagai molekul sinyal dalam kloroplas untuk merespons perubahan lingkungan (Ranty *et al.*, 2016). Hasil di penelitian ini sesuai dengan Galeriani *et al.* (2022) dimana tanaman kedelai yang diaplikasikan kalsium dan boron mengalami peningkatan laju fotosintesis yang signifikan. Beberapa tanaman dalam kondisi tercekam juga mengalami peningkatan laju fotosintesis akibat pengaplikasian kalsium, seperti padi (Roy *et al.*, 2019) dan mentimun (Zhang *et al.*, 2020).

### Perkembangan bunga dan pentil kakao

Bunga kakao berkembang dalam bentuk majemuk pada bantalan bunga (*cushion*) yang terletak di batang atau cabang utama. Perkembangan bunga kakao ditampilkan dalam Tabel 3. Dari parameter total bunga yang terbentuk tidak ada perbedaan signifikan di semua perlakuan. Berdasarkan Tabel 2, jumlah bunga gugur pada tanaman kakao menunjukkan adanya perbedaan yang nyata antar beberapa perlakuan dosis  $\text{CaCl}_2$ . Pada perlakuan tanpa pupuk kalsium, jumlah bunga gugur adalah 1119 dengan persentase bunga gugur sebesar 81,32% yang menunjukkan bahwa tanpa aplikasi  $\text{CaCl}_2$ , bunga cenderung lebih banyak mengalami gugur. Sebaliknya, dosis 300 gram menghasilkan jumlah bunga gugur terendah (604) dengan persentase bunga gugur paling rendah juga, yaitu 48,39%.

Dosis 100, 200, dan 400 gram memiliki jumlah bunga gugur masing-masing 869, 791, dan 942 dengan persentase bunga gugur berturut-turut 65,14%, 61,41%, dan 67,62%. Ketiga perlakuan ini tidak berbeda nyata satu sama lain, tetapi memiliki persentase bunga gugur yang lebih rendah dibandingkan perlakuan tanpa pupuk kalsium. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian  $\text{CaCl}_2$  dapat mengurangi jumlah dan persentase bunga gugur, dengan efektivitas tertinggi pada dosis 300 g/pohon/tahun. Penurunan persentase bunga gugur ini dapat mengindikasikan peran kalsium dalam memperkuat dinding sel bunga, sehingga mengurangi kerontokan. Pemberian kalsium pada tanaman dapat mengurangi kerontokan bunga dengan cara memperkuat dinding sel, menjaga stabilitas membran sel, dan mengatur keseimbangan hormon yang memengaruhi gugurnya bunga (Gao *et al.*, 2019).



Bunga akan berkembang menjadi pentil (buah muda) yang merupakan fase awal pembentukan buah kakao. Menurut Tabel 3, pemberian dosis  $\text{CaCl}_2$  memengaruhi jumlah pentil terbentuk, jumlah pentil layu, jumlah pentil sehat, dan persentase layu pentil pada tanaman kakao secara signifikan. Jumlah pentil terbentuk tertinggi diperoleh pada dosis 300 gram (643,67 pentil), yang berbeda nyata dengan semua perlakuan lainnya. Dosis 200 dan 100 gram menghasilkan jumlah pentil terbentuk lebih rendah (497,67 dan 465,14 pentil), tetapi

keduanya tidak berbeda nyata satu sama lain. Sementara itu, dosis kontrol menghasilkan jumlah pentil terbentuk paling rendah (257,00 pentil). Jumlah pentil layu terendah juga dicapai pada dosis 300 grsm (208,67 pentil), yang berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Sebaliknya, dosis kontrol menghasilkan jumlah pentil layu tertinggi (485,67 pentil), yang berbeda nyata dengan dosis 100, 200, dan 400 gram secara berturut-turut (345,47; 346; dan 297,66).

**Tabel 2.** Aktivitas Fisiologis Tanaman Kakao pada Berbagai Dosis  $\text{CaCl}_2$  (g/pohon/tahun)

| Dosis  | KA     | KB     | RK     | Pro    | Fv/Fm  | F      |
|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 0      | 1,27 a | 2,12 a | 0,59 a | 0,32 a | 0,63 b | 1,12 b |
| 100    | 1,45 a | 2,26 a | 0,64 a | 0,36 a | 0,67 b | 1,18 b |
| 200    | 1,41 a | 2,24 a | 0,62 a | 0,14 b | 0,83 a | 1,37 a |
| 300    | 1,38 a | 2,27 a | 0,61 a | 0,15 b | 0,81 a | 1,31 a |
| 400    | 1,43 a | 2,27 a | 0,63 a | 0,16 b | 0,82 a | 1,43 a |
| BNJ    | 0,27   | 0,14   | 0,06   | 0,06   | 0,06   | 0,09   |
| KK (%) | 6,79   | 5,17   | 7,89   | 9,50   | 13,20  | 14,71  |

Ket: Nilai yang ditampilkan adalah rerata yang diikuti notasi berdasarkan uji lanjut BNJ Tukey 5%. KA: Klorofil A ( $\mu\text{g/g}$  daun); KB: Klorofil B ( $\mu\text{g/g}$  daun); RK: Rasio Klorofil A/B; Pro: Prolin ( $\mu\text{mol/g}$  Daun); Fv/Fm: Fluoresensi Klorofil; F: Laju Fotosintesis; BNJ: Beda Nyata Jujur; KK: Koefisien Keragaman.

**Tabel 3.** Perkembangan Bunga dan Pentil Tanaman Kakao pada Berbagai Dosis  $\text{CaCl}_2$  (g/pohon/tahun)

| Dosis  | TB     | JBG    | BG      | JPT      | JPL      | JPS      | LP        |
|--------|--------|--------|---------|----------|----------|----------|-----------|
| 0      | 1376 a | 1119 a | 81,32 a | 257,00 c | 208,67 c | 48,33 b  | 81,34 a   |
| 100    | 1334 a | 869 ab | 65,14 b | 465,14 b | 345,47 b | 119,67 a | 74,23 abc |
| 200    | 1288 a | 791 ab | 61,41 b | 497,67 b | 346,00 b | 151,67 a | 69,35 bc  |
| 300    | 1248 a | 604 b  | 48,39 c | 643,67 a | 485,67 a | 158,00 a | 75,41 ab  |
| 400    | 1393 a | 942 ab | 67,62 b | 451,09 b | 297,66 b | 153,43 a | 66,12 c   |
| BNJ    | 325    | 341    | 7,08    | 73,97    | 57,01    | 40,5     | 8,78      |
| KK (%) | 8,68   | 13,98  | 10,93   | 5,66     | 13,13    | 11,38    | 4,24      |

Ket: Nilai yang ditampilkan adalah rerata yang diikuti notasi berdasarkan uji lanjut BNJ Tukey 5%. TB: Total Bunga; JBG: Jumlah Bunga Gugur; BG: Persentase Bunga Gugur (%); JPT: Jumlah Pentil Terbentuk; JPL: Jumlah Pentil Layu; JPS: Jumlah Pentil Sehat; LP: Persentase Layu Pentil (%); BNJ: Beda Nyata Jujur; KK: Koefisien Keragaman.

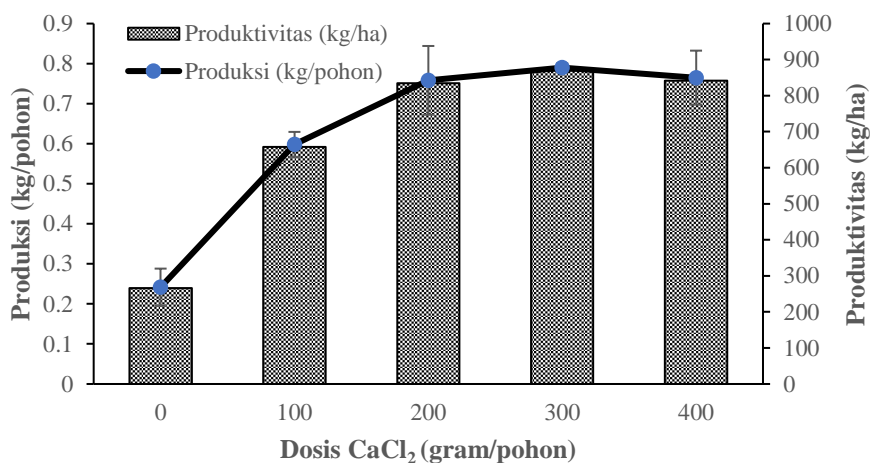
Jumlah pentil sehat meningkat seiring pemberian dosis  $\text{CaCl}_2$  hingga mencapai dosis optimal (Tabel 3). Dosis 100, 200, 300 dan 400 gram menghasilkan jumlah pentil sehat yang sama jumlahnya secara statistik. Sebaliknya, dosis kontrol menunjukkan jumlah pentil sehat terendah (48,33 pentil) yang nyata berbeda dengan pemberian pupuk kalsium. Persentase layu pentil menurun secara signifikan dengan pemberian dosis  $\text{CaCl}_2$  tertentu. Dosis 400 gram

menghasilkan persentase layu pentil terendah (66,12%), berbeda nyata dengan dosis 300 gram, tetapi tidak berbeda dengan dosis 100 dan 200 gram. Sementara itu, dosis kontrol memiliki persentase layu pentil tertinggi (81,34%), berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Dengan kata lain, pemberian pupuk kalsium dapat mengurangi persentase layu pentil di tanaman kakao. Secara berturut-turut pengurangan layu pentil di dosis 100, 200, 300 dan 400 gram adalah

7,11; 11,99; 5,93; dan 15,22%. Dari angka penurunan persentase ini, terlihat bahwa dosis 400 gram adalah dosis terbaik untuk menurunkan layu pentil di tanaman kakao.

Hasil penelitian sesuai dengan penelitian Bhavishya *et al.*, (2024) dimana pembentukan buah kakao berkorelasi positif dengan kadar kalsium di dalam tanaman. Pembentukan buah ini juga memiliki hubungan yang terbalik dengan

persentase layu pentil. Pada tanaman tomat yang tercekam salinitas, kalsium dapat memperbaiki *fruit set* dan meningkatkan hasil melalui mekanisme penguatan dinding sel (Islam *et al.*, 2023). Sementara itu, di tanaman pistachio, kalsium tidak hanya meningkatkan jumlah buah saja tetapi juga mengurangi kerontokan buah dengan mekanisme yang sama (Pourahmadi *et al.*, 2019).



**Gambar 1.** Produksi dan produktivitas kakao pada berbagai dosis CaCl<sub>2</sub> (g/pohon/tahun)

### Produksi dan Produktivitas

Produksi dan produktivitas tanaman kakao ditentukan dari *fruit set* yang dibentuk. Dengan efek positif yang diberikan oleh kalsium pada parameter pembentukan bunga maupun pentil, maka produksi tanaman kakao akan ikut meningkat. Gambar 1 menunjukkan pola produksi dan produktivitas dipengaruhi oleh pengaplikasian pupuk kalsium. Terdapat perbedaan nyata produksi tanaman kakao yang diberikan pupuk kalsium dan kontrol. Perbedaan kontrol dengan dosis 100 gram menghasilkan perbedaan produksi sebesar 0,35 kg per pohon. Sementara, perbedaan produksi antara dosis 100 gram dengan dosis 200, 300, dan 400 gram berkisar antara 0,15 – 0,18 kg per pohon. Produktivitas memiliki pola yang sama dengan produksi per pohon. Tingkat produktivitas tertinggi tercapai pada dosis 200, 300, dan 400 gram yang tidak berbeda nyata satu sama lain. Di sisi lain, ketiga dosis ini memiliki perbedaan rentang produktivitas sebesar 176 hingga 210 kg/ha dengan perlakuan dosis 100 gram, dan 392 kg/ha dengan kontrol. Hasil ini menunjukkan bahwa pupuk kalsium berperan sangat penting untuk peningkatan potensi produksi tanaman

kakao di Indonesia.

### Kesimpulan

Aplikasi kalsium dalam bentuk CaCl<sub>2</sub> memengaruhi aktivitas fisiologis, perkembangan bunga, dan produktivitas tanaman kakao. Dosis optimal berada pada 300 dan 400 gram/pohon. Pada dosis ini, tanaman menunjukkan fisiologi yang lebih optimal, yaitu nilai fluoresensi klorofil (Fv/Fm) mendekati efisiensi maksimum, laju fotosintesis yang meningkat, serta kandungan prolin yang lebih rendah. Dosis ini juga mampu mengurangi persentase bunga gugur dan layu pentil, sekaligus meningkatkan jumlah pentil terbentuk. Dengan pemberian dosis ini, terjadi peningkatan produksi dan produktivitas tanaman.

### Ucapan Terima Kasih

Penulis menyampaikan apresiasi yang sebesar-besarnya kepada PT Pagilaran Unit Segayung Utara yang telah mengizinkan penelitian ini dilakukan.

## Referensi

- Adet, L., Rozendaal, D. M. A., Tapi, A., Zuidema, P. A., Vaast, P., & Anten, N. P. R. (2024). Negative effects of water deficit on cocoa tree yield are partially mitigated by irrigation and potassium application. *Agricultural Water Management*, 296, 108789. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2024.108789>
- Ajender, Thakur, B., & Chawla, W. (2019). Effect of calcium chloride on growth, fruit quality and production of apple. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2019(1), 588–593.
- Akladios, S. A., & Mohamed, H. I. (2018). Ameliorative effects of calcium nitrate and humic acid on the growth, yield component and biochemical attribute of pepper (*Capsicum annum*) plants grown under salt stress. *Scientia Horticulturae*, 236, 244–250. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.03.047>
- Aras, S., Keles, H., & Bozkurt, E. (2021). Physiological and histological responses of peach plants grafted onto different rootstocks under calcium deficiency conditions. *Scientia Horticulturae*, 281, 109967. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.109967>
- Astegno, A., Bonza, M. C., Vallone, R., La Verde, V., D'Onofrio, M., Luoni, L., Molesini, B., & Dominici, P. (2017). Arabidopsis calmodulin-like protein CML36 is a calcium (Ca<sup>2+</sup>) sensor that interacts with the plasma membrane Ca<sup>2+</sup>-ATPase isoform ACA8 and stimulates its activity. *Journal of Biological Chemistry*, 292(36), 15049–15061. <https://doi.org/10.1074/jbc.M117.787796>
- Astuti, Y. T. M., Kumala, D., Santosa, S., & Prawoto, A. A. (2010). Kajian Molekuler Layu Buah Muda Kakao (*Theobroma cacao* L.): Ekspresi TcPIN1 Like Gene. *Biota: Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*, 15(3), 363–368.
- Astuti, Y. T. M., Prawoto, A., & Dewi, K. (2011). Pengaruh Keberadaan Tunas, Aplikasi Naphthalene Acetic Acid dan Gibberellic Acid Terhadap Perkembangan Buah Muda Kakao. *Pelita Perkebunan*, 27(1), 11–23.
- Bates, L. S., Waldren, R. P., & Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39(1), 205–207. <https://doi.org/10.1007/BF00018060>
- Bhavishya, Bhat, R., Apshara, S. E., Pushpa, T. N., Prasad, D. S., Nayana, H., Thube, S. H., Pandian, R. T. P., & Ramesh, S. V. (2024). Genotypic variation in flowering, fruit set, and cherelle wilt, and their relationship with leaf nutrient status in cocoa (*Theobroma cacao* L.) grown in humid tropics of India. *Innovations in Agriculture*, 7, 1–5. <https://doi.org/10.3897/ia.2024.124253>
- Coombs, J., Hall, D. O., Long, S. P., & Scurlock, J. M. O. (1985). *Techniques in Bioproductivity and Photosynthesis*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/C2013-0-06092-6>
- Daymond, A. J., & Hadley, P. (2008). Differential effects of temperature on fruit development and bean quality of contrasting genotypes of cacao (*Theobroma cacao*). *Annals of Applied Biology*, 153(2), 175–185. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2008.00246.x>
- Duan, S., Wu, Y., Zhang, C., Wang, L., Song, S., Ma, C., Zhang, C., Xu, W., Bondada, B., & Wang, S. (2020). Differential regulation of enzyme activities and physio-anatomical aspects of calcium nutrition in grapevine. *Scientia Horticulturae*, 272, 109423. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109423>
- Elkelish, A. A., Alnusaire, T. S., Soliman, M. H., Gawayed, S., Senousy, H. H., & Fahad, S. (2019). Calcium availability regulates antioxidant system, physio-biochemical activities and alleviates salinity stress mediated oxidative damage in soybean seedlings. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 258-266 Pages. <https://doi.org/10.5073/JABFQ.2019.092.036>
- Esche, L., Schneider, M., Milz, J., & Armengot, L. (2023). The role of shade tree pruning in cocoa agroforestry systems: Agronomic and economic benefits. *Agroforestry*



- Systems*, 97(2), 175–185.  
<https://doi.org/10.1007/s10457-022-00796-x>
- Eticha, D., Kwast, A., Chiachia, T. R. D. S., Horowitz, N., & Stützel, H. (2017). Calcium nutrition of orange and its impact on growth, nutrient uptake and leaf cell Wall. *Citrus Research & Technology*, 38(1). <https://doi.org/10.4322/crt.ICC096>
- Fungenzi, T., Sakrabani, R., Burgess, P. J., Lambert, S., & McMahon, P. (2021). Medium-term effect of fertilizer, compost, and dolomite on cocoa soil and productivity in Sulawesi, Indonesia. *Experimental Agriculture*, 57(3), 185–202. <https://doi.org/10.1017/S0014479721000132>
- Galeriani, T. M., Neves, G. O., Santos Ferreira, J. H., Oliveira, R. N., Oliveira, S. L., Calonego, J. C., & Crusciol, C. A. C. (2022). Calcium and Boron Fertilization Improves Soybean Photosynthetic Efficiency and Grain Yield. *Plants*, 11(21), 2937. <https://doi.org/10.3390/plants11212937>
- Gao, Q., Xiong, T., Li, X., Chen, W., & Zhu, X. (2019). Calcium and calcium sensors in fruit development and ripening. *Scientia Horticulturae*, 253, 412–421. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.04.069>
- Goltsev, V. N., Kalaji, H. M., Paunov, M., Bāba, W., Horaczek, T., Mojski, J., Kociel, H., & Allakhverdiev, S. I. (2016). Variable chlorophyll fluorescence and its use for assessing physiological condition of plant photosynthetic apparatus. *Russian Journal of Plant Physiology*, 63(6), 869–893. <https://doi.org/10.1134/S1021443716050058>
- Hasanuddin, E. S. D., Prapto Yudono, Eka Tarwaca Susila Putra, & Benito Heru Purwanto. (2019). Physiological, biochemical activities of cherelle wilt on three cocoa clones (*Theobroma cacao*) under two levels of soil fertilities. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 21(1). <https://doi.org/10.13057/biodiv/d210124>
- He, L., Yu, L., Li, B., Du, N., & Guo, S. (2018). The effect of exogenous calcium on cucumber fruit quality, photosynthesis, chlorophyll fluorescence, and fast chlorophyll fluorescence during the fruiting period under hypoxic stress. *BMC Plant Biology*, 18(1), 180. <https://doi.org/10.1186/s12870-018-1393-3>
- Hu, W., Tian, S. B., Di, Q., Duan, S. H., & Dai, K. (2018). Effects of exogenous calcium on mesophyll cell ultrastructure, gas exchange, and photosystem II in tobacco (*Nicotiana tabacum* Linn.) under drought stress. *Photosynthetica*, 56(4), 1204–1211. <https://doi.org/10.1007/s11099-018-0822-8>
- Ifuku, K., & Noguchi, T. (2016). Structural Coupling of Extrinsic Proteins with the Oxygen-Evolving Center in Photosystem II. *Frontiers in Plant Science*, 7. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00084>
- Islam, Md. M., Jahan, K., Sen, A., Urmi, T. A., Haque, M. M., Ali, H. M., Siddiqui, M. H., & Murata, Y. (2023). Exogenous Application of Calcium Ameliorates Salinity Stress Tolerance of Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) and Enhances Fruit Quality. *Antioxidants*, 12(3), 558. <https://doi.org/10.3390/antiox12030558>
- Kolupaev, Yu. E., Firsova, E. N., Yastreb, T. O., & Lugovaya, A. A. (2017). The Participation of calcium ions and reactive oxygen species in the induction of antioxidant enzymes and heat resistance in plant cells by hydrogen sulfide donor. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 53(5), 573–579. <https://doi.org/10.1134/S0003683817050088>
- Krylova, V. V., Zartdinova, R. F., & Izmailov, S. F. (2023). pH and pCa—Factors Controlling the Action of Calmodulin on Ca<sup>2+</sup>-ATPase in the Symbiosome Membrane from Broad Bean Root Nodules. *Russian Journal of Plant Physiology*, 70(4), 77. <https://doi.org/10.1134/S1021443722602233>
- La, V. H., Lee, B.-R., Islam, Md. T., Mamun, Md. A., Park, S.-H., Bae, D.-W., & Kim, T.-H. (2020). Characterization of Glutamate-Mediated Hormonal Regulatory Pathway of the Drought Responses in Relation to Proline

- Metabolism in *Brassica napus* L. *Plants*, 9(4), 512.  
<https://doi.org/10.3390/plants9040512>
- Lubis, S. T., Putra, E. T. S., & Kurniasih, B. (2022). Anatomical characteristics of cocoa plant roots as affected by the levels of calcium fertilization. *Ilmu Pertanian (Agricultural Science)*, 7(2), 68.  
<https://doi.org/10.22146/ipas.69842>
- Malyukova, L., Pritula, Z., Kozlova, N., Velikiy, A., Rogozhina, E., Kerimzade, V., & Samarina, L. (2021). Effects of calcium-containing natural fertilizer on *Camellia sinensis* (L.) Kuntze. *Bangladesh Journal of Botany*, 50(1), 179–187.  
<https://doi.org/10.3329/bjb.v50i1.52686>
- Medan, R. A. (2020). Effect of foliar application of potassium and calcium on vegetative growth, yield, and fruit quality of “Royal” apricot trees. *Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology*, 21(34), 106–112.
- Melnick, R. L. (2016). Cherelle Wilt of Cacao: A Physiological Condition. In B. A. Bailey & L. W. Meinhardt (Eds.), *Cacao Diseases* (pp. 483–499). Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-24789-2\\_15](https://doi.org/10.1007/978-3-319-24789-2_15)
- Mulia, S., McMahon, P. J., Purwantara, A., Bin Purung, H., Djufry, F., Lambert, S., Keane, P. J., & Guest, D. I. (2019). Effect of organic and inorganic amendments on productivity of cocoa on a marginal soil in Sulawesi, Indonesia. *Experimental Agriculture*, 55(1), 1–20.  
<https://doi.org/10.1017/S0014479717000527>
- Naem, M., Naem, M. S., Ahmad, R., Ihsan, M. Z., Ashraf, M. Y., Hussain, Y., & Fahad, S. (2018). Foliar calcium spray confers drought stress tolerance in maize via modulation of plant growth, water relations, proline content and hydrogen peroxide activity. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 64(1), 116–131.  
<https://doi.org/10.1080/03650340.2017.1327713>
- Pourahmadi, E., Mohamadkhani, A., Roshandel, P., & Momenyan, S. (2019). Evaluating Foliar Application of Calcium Nitrate, Calcium Chloride and Boric Acid on Physiological Disorders of ‘Kaleh—Ghoochi’ Pistachio. *Journal of Nuts*, 10(2).  
<https://doi.org/10.22034/jon.2019.570460.1049>
- Praseptiangga, D., M. Guevara Zambrano, J., Pitara Sanjaya, A., Rahadian Aji Muhammad, D., 1 Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Universitas Sebelas Maret, Jl. Ir. Sutami 36A Kentingan, Jebres 57126, Surakarta, Indonesia, & 2 Centre for Food and Microbial Technology, Department of Microbial and Molecular System, KU Leuven, Kasteelpark Arenberg 22-box 2463 Leuven 3001 Belgium. (2020). Challenges in the development of the cocoa and chocolate industry in Indonesia: A case study in Madiun, East Java. *AIMS Agriculture and Food*, 5(4), 920–937.  
<https://doi.org/10.3934/agrfood.2020.4.920>
- Pratt, H. K., & Mendoza Jr., B. M. (1979). Colorimetric Determination of Carbon Dioxide for Respiration Studies. *HortScience*, 14(2), 175–176.
- Ranty, B., Aldon, D., Cotelle, V., Galaud, J.-P., Thuleau, P., & Mazars, C. (2016). Calcium Sensors as Key Hubs in Plant Responses to Biotic and Abiotic Stresses. *Frontiers in Plant Science*, 7.  
<https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00327>
- Roy, P. R., Tahjib-Ul-Arif, Md., Polash, M. A. S., Hossen, Md. Z., & Hossain, M. A. (2019). Physiological mechanisms of exogenous calcium on alleviating salinity-induced stress in rice (*Oryza sativa* L.). *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 25(3), 611–624.  
<https://doi.org/10.1007/s12298-019-00654-8>
- Santoso, D., & Rahmawan, A. (2016). 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. *E-Journal Menara Perkebunan*, 70(1).  
<https://doi.org/10.22302/iribb.jur.mp.v70i1.131>
- Shahid, M. O., Muhmood, A., Ihtisham, M., Ur Rahman, M., Amjad, N., Sajid, M., Riaz, K., & Ali, A. (2020). Fruit yield and quality of “Florida King” peaches subjected to foliar calcium chloride sprays

- at different growth stages. *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*, 19(1), 131–139. <https://doi.org/10.24326/asphc.2020.1.12>
- Siddiqui, M. H., Alamri, S., Nasir Khan, M., Corpas, F. J., Al-Amri, A. A., Alsubaie, Q. D., Ali, H. M., Kalaji, H. M., & Ahmad, P. (2020). Melatonin and calcium function synergistically to promote the resilience through ROS metabolism under arsenic-induced stress. *Journal of Hazardous Materials*, 398, 122882. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.12.2882>
- Sitko, K., Gieron, Z., Szopiński, M., Zieleźnik-Rusinowska, P., Rusinowski, S., Pogrzeba, M., Daszkowska-Golec, A., Kalaji, H. M., & Małkowski, E. (2019). Influence of short-term macronutrient deprivation in maize on photosynthetic characteristics, transpiration and pigment content. *Scientific Reports*, 9(1), 14181. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-50579-1>
- Tai, L., Li, B.-B., Nie, X.-M., Zhang, P.-P., Hu, C.-H., Zhang, L., Liu, W.-T., Li, W.-Q., & Chen, K.-M. (2019). Calmodulin Is the Fundamental Regulator of NADK-Mediated NAD Signaling in Plants. *Frontiers in Plant Science*, 10, 681. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00681>
- Thor, K. (2019). Calcium—Nutrient and Messenger. *Frontiers in Plant Science*, 10, 440. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00440>
- Van Vliet, J. A., & Giller, K. E. (2017). Mineral Nutrition of Cocoa. In *Advances in Agronomy* (Vol. 141, pp. 185–270). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/bs.agron.2016.10.017>
- Yamano, T., Toyokawa, C., & Fukuzawa, H. (2018). High-resolution suborganellar localization of Ca<sup>2+</sup>-binding protein CAS, a novel regulator of CO<sub>2</sub>-concentrating mechanism. *Protoplasma*, 255(4), 1015–1022. <https://doi.org/10.1007/s00709-018-1208-2>
- Zhang, Z., Wu, P., Zhang, W., Yang, Z., Liu, H., Ahammed, G. J., & Cui, J. (2020). Calcium is involved in exogenous NO-induced enhancement of photosynthesis in cucumber (*Cucumis sativus* L.) seedlings under low temperature. *Scientia Horticulturae*, 261, 108953. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108953>