

PENGARUH *Methylobacterium* spp. TERHADAP VIABILITAS BENIH KAKAO (*Theobroma cacao* L.)

Irfan Sadikin¹, Eny Widajaty², Selly Salma³

1Mahasisiwa Departemen Agronomi dan Hortikultura, IPB

2Staf pengajar Departemen Agronomi dan Hortikultura, IPB

3Staf Peneliti Balai Besar Bioteknonogi dan Sumber Daya Genetik (BB Biogen Cimanggu)

Abstract

Theobroma Cacao seed is a recalcitrant seed which is very difficult to handling. This is because it character , the high water content, the low teracity of drying, sensitive eith low temperature, have not dormancy period, and short time storage period. Some research was held, but the result just enough for short conservation. The alternative technology to upgrade seed quality of cacao is by using biological agent (microorganism). Methylobacterium is one of microorganism which assumed able to use as biological agent to upgrade cacao seed quality. This research using statistic design complete random design with two factor, first is seed treatmentand second is seed stororage period. The seed treatment consist of control, medium, tokoferrol, TD-J2, TD-TPB3, TD-J7, TD-J10 dan TD-L2. The seed storage period consist of 0, 1, 2, 3 and 4 week. The medium show the best result in viability and vigour performance. The Methylobacterium also able to more increase Viability seed than treatment by tokoferrol and control.

Keyword: Recalcitrant, *Methylobacterium*, Storage

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Kakao (*Theobroma cacao* L.) merupakan salah satu komoditi utama nasional Indonesia dan memiliki kontribusi dalam menghasilkan devisa negara. Seiring dengan bertambahnya jumlah penduduk dunia, permintaan pasar untuk kakao juga akan meningkat. Ini merupakan peluang bagi Indonesia untuk terus meningkatkan produksi kakao.

Peningkatan produksi kakao dapat dilakukan antara lain dengan usaha intensifikasi dan ekstensifikasi. Usaha intensifikasi merupakan salah satu cara untuk meningkatkan produksi kakao dengan memperbaiki sistem budidaya pertanaman kakao. Sedangkan usaha ekstensifikasi dilakukan dengan memperluas lahan penanaman. Hal ini mungkin untuk dilakukan karena masih banyak lahan yang dapat dimanfaatkan untuk usaha perkebunan kakao di Indonesia.

Benih merupakan alat perbanyak tanaman kakao, sehingga diperlukan upaya untuk menjaga benih tetap berkualitas baik saat penanaman dengan mencegah penurunan viabilitas benih serendah mungkin. Benih kakao bermutu merupakan salah satu faktor produksi yang sangat menentukan keberhasilan dalam usaha perluasan areal penanaman.

Usaha mempertahankan viabilitas benih kakao dapat dihubungkan dengan upaya mempertahankan daya simpan benih. Daya simpan yang rendah pada benih kakao menjadi masalah, terutama bila benih harus melalui periode konservasi sebelum ditanam. Hal ini sering dialami petani atau pihak perkebunan ketika menerima benih dari tempat produksi benih yang jauh, benih sudah menurun viabilitasnya sehingga menimbulkan kerugian yang cukup besar. Oleh karena itu diperlukan perencanaan dan pengelolaan yang baik dalam usaha mempertahankan viabilitas selama periode konservasi.

Berbagai penelitian untuk mempertahankan viabilitas benih kakao telah dilakukan, tetap hasil penelitian tersebut hanya terbatas pada konservasi benih yang singkat. Sadjad (1997) menyatakan bahwa penanganan benih rekalsitran harus berinovasi tinggi agar benih yang dihasilkan dapat dipertahankan viabilitasnya dengan baik.

Penyimpanan benih kakao dewasa ini yang cukup berhasil adalah dengan menggunakan PEG (Poly ethilene glycol) 4000 28.6% untuk melembabkan media simpan benih kakao (Suwarno *et al.*, 1990). Pada kondisi penyimpanan demikian, benih dikondisikan seperti dalam keadaan dorman dengan kelembaban yang tetap. Akan tetapi penyimpanan dengan metode ini tidak dapat mencegah laju penurunan viabilitas benih.

Pemanfaatan mikroorganisme yang berasosiasi dengan tanaman, serta berperan dalam meningkatkan kebugaran dan pertumbuhan tanaman tersebut dapat digunakan sebagai suatu teknologi dalam pengadaan benih dan bibit kakao bermutu. Salah satu mikroorganisme tersebut adalah bakteri *Methylobacterium* spp, karena bakteri ini menghasilkan fitohormon yang dapat merangsang perkecambahan benih dan pertumbuhan tanaman

(Holland dan Polacco, 1992). Selanjutnya Morris *et al.* (1994) menyatakan bahwa *Methylobacterium* spp memiliki tujuh gen yang dapat mensintesis PQQ (Pyrroloquinoline Quinon). He *et al.* (2003) menyatakan bahwa dimana PQQ tersebut memiliki karakteristik sebagai antioksidan yang dapat mencegah penuaan sel.

Methylobacterium spp dalam menghasilkan PQQ diduga memiliki potensi untuk mempertahankan viabilitas benih kakao. Selain itu *Methylobacterium* spp menghasilkan hormon pertumbuhan tanaman yang dapat meningkatkan viabilitas benih. Pada akhirnya, penyediaan benih kakao bermutu diharapkan dapat meningkatkan produksi kakao.

Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah mempelajari pengaruh *Methylobacterium* spp terhadap viabilitas benih kakao.

Hipotesis

1. Terdapat pengaruh keragaman jenis isolat *Methylobacterium* spp terhadap viabilitas benih kakao.
2. Terdapat pengaruh periode konservasi terhadap viabilitas benih kakao.
3. Terdapat pengaruh interaksi isolat *Methylobacterium* spp dan periode konservasi terhadap viabilitas benih kakao.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan pada bulan Mei hingga bulan September 2008, di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, Bogor dan Bagian Ilmu dan Teknologi Benih, Institut Pertanian Bogor.

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan adalah buah kakao varietas Upper Amazon Hybrid (UAH) dari PTP XII Rajamandala Bandung, 5 Isolat *Methylobacterium* spp koleksi Laboratorium Mikrobiologi BB-Biogen Bogor, antioksidan tokoferol, serbuk gergaji, pasir dan kantong plastik berlubang.

Alat yang digunakan dalam penelitian adalah *erlenmeyer*, *shaker*, *autoklaf*, *magnetik stirer*, *laminar air flow*, pipet mikro, timbangan, termometer, oven, wadah pengecambahan dan penggaris.

Rancangan Percobaan

Rancangan lingkungan percobaan ini adalah rancangan acak kelompok, yang disusun secara faktorial yang terdiri atas dua faktor, yaitu periode konservasi simpan yang terdiri atas 3 taraf yaitu 0, 1 dan 2 minggu, dan perlakuan benih yang terdiri atas 8 taraf, yaitu perendaman media AMS (Amonium Mineral Salt), tokoferol 200 ppm, isolat *Methylobacterium* TD-TPB3,

TD-J2, TD-J10, TD-L2 dan TD-J7 selama 12 jam dan tanpa perendaman (kontrol).

Model rancangan yang digunakan sebagai berikut :
Yijk = μ + αi + βj + γk + (αβ)ij + ∑ijk
Analisis data dilakukan dengan uji F. Jika uji F menunjukkan pengaruh perlakuan yang nyata maka dilanjutkan dengan *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) untuk melihat perbedaan antar perlakuan.

Pelaksanaan Penelitian

Isolat *Methylobacterium* spp. diperbanyak pada media AMS. Inkubasi pada inkubator goyang dengan kecepatan 120 rpm selama 7 hari. Untuk menghindari kesalahan dalam pendugaan, buah kakao dipisahkan berdasarkan tingkat kemasakan buah, yang kemudian digunakan sebagai kelompok. Setelah semua benih selesai diekstraksi, benih diberikan perlakuan yaitu perendaman media, tokoferol 200 ppm, inokulan TD-J2, TD-TPB3, TD-L2, TDJ7 dan TD-J10 selama 12 jam dan tanpa perendaman sebagai kontrol. Benih kemudian ditiriskan dengan cara diletakkan pada wadah keranjang plastik berlubang dan dibiarkan selama kurang lebih 12 jam. Benih disimpan dalam kantong plastik berlubang dengan media simpan serbuk gergaji lembab.

Setiap periode konservasi, dilakukan pengujian kadar air benih dan penanaman benih. Penanaman dilakukan di dalam rumah kaca pada media tanam pasir steril yang selanjutnya dilakukan kegiatan pemeliharaan dan pengamatan.

Pengamatan

Untuk parameter viabilitas setiap periode simpan, meliputi:

- Benih tumbuh
- Benih tidak tumbuh
- Kadar air benih
- Daya berkecambah benih
- Kecepatan tumbuh
- Panjang akar
- Tinggi tajuk
- Bobot Kering Akar dan Bobot Kering Tajuk

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rekapitulasi hasil analisis ragam (Tabel Lampiran 3 sampai 11) pengaruh periode konservasi dan perlakuan benih serta interaksinya disajikan dalam Tabel 2.

Tabel 2. Rekapitulasi Hasil Analisis Ragam Pengaruh Faktor Periode Konservasi (T), Perlakuan Benih (P) dan Kelompok Benih (K) serta Interaksi Kedua Faktor terhadap Viabilitas Benih Kakao

Tolok ukur	T	P	K	T*P
Benih tumbuh	tn	*	**	tn
Benih tidak tumbuh	tn	*	**	tn
Kadar air	**	**	tn	tn
Daya berkecambah	tn	**	**	tn
Kecepatan tumbuh	tn	**	**	tn
Panjang akar	tn	*	tn	tn
Tinggi tajuk	tn	*	**	tn
Bobot kering akar	tn	tn	*	tn
Bobot kering tajuk	tn	**	**	tn
Keterangan :				
tn = tidak berpengaruh nyata				
* = berpengaruh nyata pada taraf 5%				
** = berpengaruh sangat nyata pada taraf 5%				

Dari data di atas dapat ditelaah bahwa periode konservasi berpengaruh pada kadar air benih. Perlakuan benih menunjukkan pengaruh nyata terhadap viabilitas benih yang ditunjukkan pada semua tolak ukur, kecuali bobot kering akar. Interaksi antara periode konservasi dan perlakuan benih tidak berpengaruh terhadap viabilitas benih.

Kelompok menunjukkan pengaruh nyata pada viabilitas benih, kecuali pada tolak ukur kadar air benih dan panjang akar. Hal ini disebabkan perbedaan tingkat warna kemasakan buah kakao mempengaruhi viabilitas benih. Supriadi (1996) menyatakan bahwa buah dengan tingkat warna kemasakan buah

hijau kuning ≥80 pada kadar air 35% memiliki daya berkecambah (72%), kecepatan tumbuh (3.08%/etmal) dan bobot kering kecambah normal (2.513 g) lebih rendah dari tingkat kemasakan buah hijau kuning 60%. Selanjutnya Wahyudi (2003) menyatakan bahwa tingkat kemasakan buah kakao yang dipilih untuk sumber benih yaitu buah yang telah berwarna kekuningan apabila warna kulitnya merah pada saat muda, atau telah berwarna kuning tua untuk buah yang warna kulitnya hijau kekuningan pada saat masih muda.

Penelitian Wirawan (1992) menunjukkan benih kakao akan mencapai masak fisiologis pada umur buah 5 bulan setelah pembungaan (BSP). Selanjutnya Supriadi (1996) menyatakan bahwa buah dengan tingkat kemasakan 5 BSP yang disimpan selama 45 hari menunjukkan benih berkecambah sebanyak 40.02%, lebih banyak dibanding buah dengan tingkat kemasakan 6 BSP dengan benih berkecambah sebanyak 27.61%.

Pengaruh Perlakuan Benih terhadap Kadar Air dan Viabilitas Potensial Benih

Sadjad *et al.* (1999) menyatakan bahwa viabilitas benih merupakan daya hidup benih yang diindikasikan oleh pertumbuhan atau gejala metabolismenya, mencakup viabilitas total, viabilitas potensial, dormansi dan vigor. Viabilitas potensial adalah kemampuan benih untuk menumbuhkan tanaman normal dan mampu memproduksi normal pada kondisi alam yang optimum.

Pengaruh perlakuan benih terhadap kadar air dan viabilitas potensial benih disajikan pada Tabel 3. Kadar air perlakuan tokoferol, media, isolat TD-TPB3, TD-J2, TD-J10, TD-L2 dan TD-J7 lebih tinggi secara nyata dibanding perlakuan kontrol. Perlakuan isolat TD-TPB3 menunjukkan kadar air tertinggi yaitu 42.27% berbeda dari perlakuan kontrol dan TD-L2, namun tidak berbeda dengan perlakuan media, isolat TD-J2, TD-J10 dan TD-J7.

Kadar air rata-rata benih sebelum perlakuan yaitu 34.44% (Tabel 1) dan setelah perlakuan meningkat menjadi 36.64%, yang ditunjukkan oleh kadar air rata-rata pada periode konservasi 0 minggu. Peningkatan kadar air benih kakao yang diberi perlakuan perendaman media, tokoferol, isolat TD-TPB3, TD-J2, TD-J10, TD-L2 dan TD-J7 menyebabkan peningkatan persentase jumlah benih yang tumbuh selama periode konservasi.

Bewley and Black (1985) menyatakan bahwa perendaman benih menyebabkan air masuk ke dalam benih dan merupakan proses awal benih untuk mengalami perkecambahan yang biasanya diawali dari pemanjangan radikula. Budiarti (1990) menyatakan bahwa peningkatan kadar air benih dapat menstimulir perkecambahan benih kakao pada saat penyimpanan. Selanjutnya Esrita (2000) menyatakan bahwa benih kakao pada kadar air lebih dari 35% menunjukkan perkecambahan lebih tinggi dibanding kadar air lebih rendah dari 35% yang ditunjukkan dengan kecepatan tumbuh, tinggi bibit dan bobot kering kecambah normal.

Tabel 3. Pengaruh Perlakuan Benih terhadap Rata-rata Kadar Air dan Viabilitas Potensial Benih.

Perlakuan benih	Kadar air (%)	Benih tumbuh (%)	Benih tidak tumbuh (%)	Daya berkecambah (%)
Kontrol	34.42c	36.22 (32.18)b	63.78 (57.82)a	44.44 (40.75)bc
Tokoferol	40.73ab	66.39 (57.42)a	33.61 (32.64)b	43.11 (38.69)c
Media	40.17ab	82.18 (65.95)a	17.83 (23.90)b	81.33 (65.09)a
TD-TPB3	42.27a	74.12 (59.70)a	25.88 (30.31)b	73.78 (61.83)a
TD-J2	40.21ab	84.72 (70.58)a	15.26 (19.45)b	64.44 (55.52)ab
TD-J10	40.54ab	70.50 (59.05)a	29.50 (30.98)b	68.44 (56.59)ab
TD-L2	39.36b	60.50 (51.68)a	39.51 (38.32)b	63.11 (53.58)abc
TD-J7	40.20ab	65.90 (55.44)a	34.10 (34.43)b	65.78 (54.75)ab
Koefisien keragaman	6.66	31.44 (21.15)	65.51 (45.88)	35.82 (29.05)

Keterangan :
- Angka dalam kurung merupakan hasil transformasi arcsin √%
- Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5%

Perlakuan perendaman tidak dapat mempertahankan viabilitas benih. Hal ini ditunjukkan pada perlakuan tokoferol, media, isolat TD-TPB3, TD-J2, TD-J10, TD-L2 dan TD-J7 yang memiliki persentase jumlah benih yang tumbuh lebih tinggi secara nyata dibandingkan perlakuan kontrol. Sadjad *et al.* (1999) menyatakan bahwa pada benih rekalsitran apabila disimpan pada kondisi kadar air tinggi dapat menyebabkan perkecambahan dalam penyimpanan.

Perlakuan kontrol memiliki jumlah benih tumbuh (36.22%) dan daya berkecambah (44.44%) terkecil dari semua perlakuan. Hal ini menunjukkan bahwa viabilitas benih yang digunakan dalam percobaan rendah. Sadjad *et al.* (1999) menyatakan bahwa viabilitas potensial yang ditunjukkan dengan tolak ukur daya berkecambah kurang dari 60% tidak dapat dijadikan sebagai benih.

Pada perlakuan isolat *Methylobacterium* spp, isolat TD-J2 menunjukkan persentase jumlah benih tumbuh selama konservasi tertinggi yaitu 70.58% walaupun kadar airnya lebih kecil dari isolat TD-TPB3. Perlakuan isolat TD-L2 yang memiliki kadar air yang berbeda secara nyata dari kadar air isolat TD-TPB3, tetapi menunjukkan jumlah benih tumbuh yang tidak berbeda dari isolat TD-TPB3. Hal ini diduga karena isolat *Methylobacterium* spp menghasilkan hormon tumbuh yang dapat menstimulir perkecambahan dengan jumlah yang berbeda untuk setiap jenis isolat *Methylobacterium* spp.

Pendugaan bahwa isolat *Methylobacterium* spp memproduksi PQQ (pyrroloquinoline quinon) ternyata tidak dapat menekan jumlah benih tumbuh selama periode konservasi. Hal ini diduga karena hormon tumbuh yang dihasilkan isolat lebih berperan dalam menstimulir perkecambahan dibanding PQQ untuk memperpanjang viabilitas benih. Holland dan Polacco (1992) menyatakan bahwa *Methylobacterium* spp menghasilkan fitohormon yang dapat menstimulir perkecambahan benih dan pertumbuhan tanaman. Penelitian Nkpwatt *et al.* (2006) menunjukkan bahwa perlakuan *Methylobacterium* spp dari daun strawberi menghasilkan hormon pertumbuhan tanaman yang mampu meningkatkan viabilitas potensial benih tembakau.

Viabilitas potensial benih ditunjukkan oleh tolak ukur daya berkecambah terlihat pada Tabel 3. Daya berkecambah perlakuan media (81.33%), TD-TPB3 (73.78%) dan TD-J10 (68.44%) lebih tinggi dari perlakuan kontrol, tokoferol, isolat TD-J2, TD-L2 dan TD-J7. Perlakuan isolat TD-J2, TD-L2 dan TD-J7 menunjukkan daya berkecambah lebih tinggi dari tokoferol dan kontrol.

Pada Tabel 3, perlakuan tokoferol menunjukkan viabilitas terendah yang ditunjukkan oleh daya berkecambah (43.11%). Hal ini diduga karena pelarut aseton yang digunakan untuk melarutkan tokoferol bersifat meracuni benih. Sahala (2006) menyatakan bahwa sifat aseton sebagai senyawa pereduksi dapat merusak permeabilitas dan meningkatkan kebocoran benih sehingga dapat meningkatkan benih abnormal pada benih pepaya.

Pengaruh Periode Konservasi terhadap Kadar Air Benih

Kadar air pada periode konservasi 0, 1 dan 2 minggu berturut-turut adalah 36.64%, 40.66% dan 41.92%. Kadar air benih meningkat secara nyata pada periode konservasi minggu ke 1 dan 2 minggu. Hal ini disebabkan kondisi simpan memiliki kelembaban yang lebih tinggi dari kadar air benih, sehingga periode konservasi akan meningkatkan kadar air benih.

Justice dan Bass (2002) menyatakan bahwa kadar air benih meningkat cepat pada hari-hari pertama penyimpanan dan kemudian menurun pada penyimpanan selanjutnya. Benih untuk mencapai kadar air kesetimbangan memerlukan waktu, hal ini ditentukan dari waktu yang dibutuhkan uap air untuk menembus kulit benih dan menembus ke dalam benih. Uap air tersebut menembus masuk ke dalam benih melalui rongga udara antar benih. Selanjutnya Jahuri (1999) menyatakan bahwa peningkatan kadar air benih kakao yang disimpan pada kadar air media simpan 50%, lebih cepat meningkat pada selang periode konservasi 0-4 minggu dibanding selang periode konservasi 4-8 minggu.

Kecepatan peningkatan kadar air diduga karena pengaruh ekstraksi benih. Pada percobaan, ekstraksi benih

dilakukan dengan dua tahap yaitu menggunakan serbuk gergaji kering steril dan perendaman air kapur. Ekstraksi diduga menimbulkan kerusakan mekanis pada kulit benih kakao yang merupakan benih lunak sehingga kadar air kesetimbangan dapat dicapai dengan waktu cepat.

Pengaruh Perlakuan Benih terhadap Vigor Kekuatan Tumbuh Benih

Sadjad *et al.* (1999) menyatakan bahwa vigor kekuatan tumbuh benih adalah kemampuan benih untuk tumbuh normal dalam keadaan lapang suboptimum atau kemampuan benih untuk disimpan dalam kondisi simpan suboptimum. Benih yang memiliki vigor kekuatan tumbuh yang tinggi dapat menghasilkan tanaman yang tegar di lapang meski kondisi optimum atau lingkungan tumbuhnya tidak optimum.

Pengaruh perlakuan benih terhadap vigor kekuatan tumbuh ditunjukkan oleh rata-rata kecepatan tumbuh benih panjang akar, tinggi tajuk dan bobot kering tajuk yang disajikan pada Tabel 4. Perlakuan media, isolat TD-TPB3, TD-J2, TD-J10, TD-L2 dan TD-J7 menunjukkan vigor kekuatan tumbuh lebih baik dari kontrol dan tokoferol.

Tabel 4. Pengaruh Perlakuan Benih terhadap Rata-rata Kecepatan Tumbuh Benih (K_{CT}), Panjang Akar, Tinggi Tajuk dan Bobot Kering Tajuk.

Perlakuan Benih	K _{CT} ¹ (%/etmal)	Panjang akar (cm)	Tinggi tajuk (cm)	Bobot kering tajuk ² (g)
Kontrol	0.106 (1.59)b	6.82ab	13.20bc	2.47 (1.59)b
Tokoferol	0.114 (1.63)b	5.54b	12.20c	2.29 (1.61)b
Media	0.230 (2.72)a	8.08a	15.88a	4.87 (2.31)a
TD-TPB3	0.200 (2.52)a	6.78ab	14.89ab	4.21 (2.14)a
TD-J2	0.180 (2.39)a	6.78ab	14.57ab	3.94 (2.10)a
TD-J10	0.183 (2.43)a	7.84a	15.10ab	3.97 (2.10)a
TD-L2	0.168 (2.24)a	7.10ab	13.99abc	3.53 (1.94)ab
TD-J7	0.181 (2.46)a	7.72a	14.64ab	3.75 (2.04)a
Koefisien keragaman	37.07 (23.79)	21.93	14.05	39.44 (19.96)

Keterangan : - Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5%.
- ¹ Angka dalam kurung merupakan hasil transformasi arcsin √%
- ² Angka dalam kurung merupakan angka hasil transformasi √g

Perlakuan isolat *Methylobacterium* spp meningkatkan vigor kekuatan tumbuh. Hal ini diduga karena *Methylobacterium* spp dapat menghasilkan zat pengatur tumbuh tanaman yang dapat menstimulir perkecambahan dan pertumbuhan bibit. Lindstrom dan Chistoserdova (2002) menyatakan bahwa *Methylobacterium* spp memproduksi hormon sitokinin yang dapat menstimulir perkecambahan benih.

Media dalam menstimulir perkecambahan benih diduga karena mengandung unsur hara yang dibutuhkan untuk pertumbuhan tanaman, seperti unsur hara makro dan mikro (Tabel Lampiran 1). Bahan yang digunakan untuk media kultur isolat *Methylobacterium* spp sebagian merupakan unsur yang diperlukan dalam pertumbuhan dan perkembangan tanaman, sehingga mampu meningkatkan perkecambahan benih dan pertumbuhan bibit.

Diduga pula pada benih kakao terdapat *Methylobacterium* spp indigenous sehingga dengan penambahan media maka bakteri dapat hidup dan berkembang dengan baik. Hal ini karena *Methylobacterium* spp dapat hidup pada hampir semua bagian tanaman dan tanah (Lindstrom dan Chistoserdova, 2002). Riupassa (2003) menyatakan bahwa *Methylobacterium* spp terdapat pada daun sayuran lalapan yang ada di pasar tradisional di Bogor. Selanjutnya Salma *et al.* (2005) menyatakan bahwa *Methylobacterium* spp terdapat pada daun tanaman durian lay, anggrek hitam, ulap doyo dan kantung semar.

Selain itu diduga pada saat perkecambahan, air nonsteril yang digunakan untuk menyiram benih mengandung *Methylobacterium* spp, sehingga bakteri dapat hidup dan

berkembang pada benih yang telah direndam media kultur. Riupassa (2003) menyatakan bahwa air yang digunakan pada perkecambahan kacang hijau mengandung bakteri *Methylobacterium* spp sehingga pada kecambah kacang hijau (tauge) didapatkan jumlah bakteri sebesar 8.75×10^2 cfu/g daun. Penelitian Galego *et al.* (2005) menunjukkan bahwa *Methylobacterium* spp terdapat pada sumber air yang banyak mengandung oksigen.

Pengaruh perlakuan benih terhadap vigor kekuatan tumbuh yang ditunjukkan oleh rata-rata bobot kering tajuk terlihat pada Tabel 4. Perlakuan media menunjukkan bobot kering tajuk tertinggi dibanding perlakuan isolat *Methylobacterium* spp, tokoferol dan kontrol.

Perlakuan isolat *Methylobacterium* spp dalam meningkatkan bobot kering tajuk terlihat pada Tabel 4. Perlakuan isolat TD-TPB3, TD-J2, TD-J10 dan TD-J7 menunjukkan bobot kering tajuk (4.21%) lebih tinggi secara nyata dibanding perlakuan kontrol (2.47%) dan tokoferol (2.29%). Bobot kering tajuk perlakuan isolat TD-L2 lebih tinggi dari perlakuan tokoferol. Kemampuan isolat *Methylobacterium* spp untuk meningkatkan pertumbuhan bibit kakao diduga karena isolat menghasilkan zat pengatur tumbuh. Holland (1997) dalam Riupassa (2003) menyatakan bahwa inokulasi *Methylobacterium* spp dapat meningkatkan pertumbuhan benih kedelai yang telah mengalami kemunduran karena menghasilkan hormon sitokinin, vitamin dan asam amino esensial.

Pengaruh media menunjukkan bobot kering tajuk tertinggi dibandingkan perlakuan isolat *Methylobacterium* spp, tokoferol dan kontrol (Tabel 4). Hal ini disebabkan perlakuan media menunjukkan daya berkecambah tertinggi. Nilai daya berkecambah berbanding lurus dengan bobot kering tajuk, semakin tinggi nilai daya berkecambah maka bobot kering biomassa yang dihasilkan akan semakin besar.

Perlakuan tokoferol menunjukkan nilai terkecil pada komponen vigor kekuatan tumbuh benih kakao, yang terlihat pada tolok ukur kecepatan tumbuh, panjang akar, tinggi tajuk dan bobot kering tajuk (Tabel 4). Hal ini diduga karena aseton yang digunakan sebagai pelarut tokoferol bersifat meracuni benih. Penelitian Khan *et al.* (1973) menyatakan bahwa aseton dapat digunakan sebagai pelarut dalam perlakuan benih akan tetapi hasilnya ditentukan oleh bahan perlakuan benih sendiri. Pencucian benih *Lactuca sativa* L. dengan aseton selama 1 jam yang sebelumnya telah diberikan perlakuan perendaman dengan GA₃ dengan pelarut aseton menunjukkan perkecambahan 81%, sedangkan perlakuan perendaman dengan ABA dengan pelarut aseton menunjukkan perkecambahan 28%. Selanjutnya Tao and Khan (1974) menyatakan bahwa aseton yang digunakan dalam hormon IAA yang dilarutkan dalam aseton dapat menurunkan pertumbuhan benih *Cucumis sativus* L.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Perlakuan isolat *Methylobacterium* TD-TPB3, TD-J2, TD-J10, TD-L2 dan TD-J7 dapat meningkatkan viabilitas benih kakao. Kelima isolat tersebut memberikan pengaruh yang sama, tetapi isolat TD-TPB3 memberikan pengaruh terbaik dibanding perlakuan isolat lainnya yang ditunjukkan oleh daya berkecambah (73.78%), kecepatan tumbuh (0.2%/etmal) dan bobot kering tajuk (4.21 g). Periode konservasi selama 2 minggu tidak menunjukkan pengaruh terhadap viabilitas dan vigor benih.

Saran

Penelitian tentang aplikasi invigorasi benih perlu dilakukan karena ternyata *Methylobacterium* spp dapat menstimulir perkecambahan benih kakao.

DAFTAR PUSTAKA

Budiarti, T. 1990. Konservasi benih rekalsitran. Keluarga Benih 1(1):56-68.

—————, E. Widajati dan A. Qadir. 1993. Penggunaan Zat Pengatur Tumbuh Tanaman pada Beberapa Benih Rekalsitran untuk Meningkatkan Daya Simpan dan Vigor Bibit. Laporan Penelitian. Fakultas Pertanian. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 63 hal.

Bewley, J. D. and M. Black. 1985. Seeds Physiology of Development and Germination. Plenum Press. New York. 367 p.

Buettner, G. R. 1993. The pecking order of free radicals and antioxidants: lipid peroxidation, alpha-tocopherol, and ascorbate. Arch. biochem. biophys. 300(2):535-43.

Burhanudin. 1996. Pengaruh Metode Ekstraksi dan Tingkat Kadar Air Benih terhadap Viabilitas Benih Kakao (*Theobroma cacao* L.). Skripsi. Jurusan Budidaya Pertanian. Fakultas Pertanian. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 44 hal.

Chistoserdova L., S. W. Chen, A. Lapidus and M. E. Lidstrom. 2003. Methyloleotrophy in *Methylobacterium extorquens* AM1 from a genomic point of view. Journal Bacteriol. 185(10): 2980–2987.

Duffus, C. and C. Slaughter. 1980. Seeds and Their Uses. John Wiley and Sons Ltd. New York. 154 p.

Esrita. 2000. Pengaruh Kecepatan Pengerangan dan Tingkat Kadar Air terhadap Viabilitas dan Tingkat Kadar Air Kritis Benih Kakao (*Theobroma cacao* L.). Tesis. Program Pascasarjana. Fakultas Pertanian. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 60 hal.

Fahriah. 1998. Pengaruh Perlakuan NAA dan GA₃ terhadap Viabilitas Benih Kakao (*Theobroma cacao* L.) pada Berbagai Tingkat Kemunduran Benih. Skripsi. Jurusan Budidaya Pertanian. Fakultas Pertanian. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 55 hal.

Galego, V., M. T. Garcia and A. Ventosa. 2005. *Methylobacterium hispanicum* sp. nov. and *Methylobacterium aquaticum* sp. nov. isolated from drinking water. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology (55):281-287.

He, K., H. Nukada, T. Urakami and M. Murphy. 2003. Antioxidant and prooxidant of pyrroloquinoline-quinon (PQQ): implication for its function in biological syste. Biochem. Pharmacol. 65:67-74.

Heddy, S. 1990. Budidaya Tanaman Cokelat. Penerbit Angkasa. Bandung. 125 hal.

Holland, M. A. and J. C. Pollaco. 1992. Urease-null and hydrogenase-null phenotypes of phylloplane bacterium reveal altered nickel metabolism in two soybean mutants. Plant Physiol. (98):942-948.

Jahuri. 1999. Pengaruh Penundaan Ekstraksi, Kadar Air Media Simpan dan Lama Penyimpanan terhadap Viabilitas Benih Kakao (*Theobroma cacao* L.). Skripsi. Fakultas Pertanian. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 44 hal.

Justice, O. L. dan L. N. Bass. 2002. Prinsip dan Praktek Penyimpanan Benih. Edisi 1 (3). Roesly, R. (Pentj.). Raja Grafindo Persada. Jakarta. 446 hal.

Kasahara, T. and T. Kato. 2003. Nutritional biochemistry: A new redox-cofactor vitamin for mammals. Nature 422(6934):832.

Khan A. A., K. L. Tao and C. H. Roe. 1973. Application of chemicals in organic solvents to dry seeds. Plant Physiol. (52):79-81.

Lidstrom, M. E. and L. Chistoserdova. 2002. Plants in the pink: cytokinin production by *Methylobacterium*. Journal of Bacteriology 7(184):1818.

Morris C. J., F. Bivelle, E. Turlin, E. Lee, K. Ellermann, W. H. Fan, R. Ramamoorthi, A. L. Springer and M. E. Lindstrom. 1994. Isolation, phenotypic characterization, and complementation analysis of mutants of *Methylobacterium extorquens* AM1 unable to synthesize pyrroloquinoline quinone and sequences of pqqD, pqqG, and pqqC. Journal of Bacteriology 176(6):1746-1755.

Nkpwatt, D. A., M. Mu’sch, J. Tschiersch, M. Boettner and W. Schwab. 2006. Molecular interaction between *Methylobacterium extorquens* and seedlings: growth promotion, methanol consupction, and localization of the methanol emission site. Journal of Exprerimental Botany 57(15):4025-4032.

- Riupassa, P. A. 2003. Kelimpahan dan Keragaman Genetik Bakteri Pink Pigmented Methylophilic dari Beberapa Daun Sayuran Lalapan. Tesis. Sekolah Pasca Sarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 31 hal.
- Robi, A. 1996. Pengaruh Kadar Air Awal terhadap Penurunan Vigor dan Upaya Invigorasi Benih Kakao (*Theobroma cacao* L.). Skripsi. Fakultas Pertanian. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 63 hal.
- Sadjad. S. 1997. Membangun Industri Benih dalam Era Agribisnis Indonesia. Grasindo. Jakarta. 164 hal.
- _____, E. Murniati dan S. Ilyas. 1999. Parameter Pengujian Vigor Benih dari Komparatif ke Simulatif. Grasindo. Jakarta. 185 hal.
- _____. 2008. The Philosophy of Seed. IPB Press. Bogor. 350 p.
- Saenong, S. 1986. Kontribusi Vigor Awal Terhadap Daya Simpan Benih Jagung (*Zea mays* L.) Dan Kedelai (*Glycine max* L. Merr.). Disertasi. Fakultas Pasca Sarjana, Institut Pertanian Bogor. Bogor. 200 hal.
- Sahala, S. O. L. 2006. Pengaruh Pemberian Antioksidan Sebelum Simpan terhadap Viabilitas dan Vigor Benih Pepaya (*Carica papaya* L.). Skripsi. Fakultas Pertanian. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 40 hal.
- Salma, S., A. Suwanto, A. Tjahjoleksono dan A. Meryandini. 2005. Keanekaragaman Bakteri Filosfer dari Beberapa Tanaman Asal Kalimantan Timur. Forum Pascasarjana 28(1):1–10.
- Schmidt, J. dan G. Rule. 1950. A Text Book of Organic Chemistry. Campbell, N. (editor). D Van Nostrand Company, Inc. New York. 947 p.
- Siregar, T.H.S., S. Riyadi, dan L. Nuraeni. 1989. Budidaya, Pengolahan, dan Pemasaran Cokelat. Penebar Swadaya. Jakarta. 168 hal.
- Sudaryono, U. S. Nugraha dan D. S. Damardjati. 1990. Hubungan antara berat jenis dengan viabilitas dan vigor benih. Keluarga Benih 1(1):21-30.
- Sulistyowati. 2000. Kontaminasi Jamur pada Biji Kakao: Pengaruhnya terhadap Mutu dan Metode Penentuannya. Warta Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia 16(1):11-20.
- Sunanto, H. 1992. Cokelat Budidaya, Pengelolaan Hasil dan Aspek Ekonominya. Kanisius. Jakarta. 130 hal.
- Supriadi, D. 1996. Pengaruh Lama Konservasi Buah terhadap Rekalsitransi Benih Kakao (*Theobroma cacao* L.). Skripsi. Fakultas Pertanian. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 95 hal.
- Suwarno, F., S. Sadjad, S. Solahuddin dan S. Tahardi. 1990. Pengaruh "enforced dormancy" terhadap periode viabilitas benih coklat (*Theobroma cacao* L.). Keluarga Benih 1(1):31-43.
- Tao, K. L. and A. A. Khan. 1974. Penetration of dry seeds with chemicals applied in acetone. Plant Physiol. 54:956-958.
- Wahyudi, T. 2003. Standar operasional prosedur (SOP) penanganan biji kakao di tingkat petani, pedagang pengumpul dan eksportir. Warta Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia 19(3):156-167.
- Wetherell, D. F. 1982. Pengantar Propagasi Tanaman Secara in Vitro. Koensoemardiyah S. (pentj.). Avery Publishing Group Inc. New Jersey. 110 hal.
- Winarno F.G. dan M. Aman. 1981. Fisiologi Lepas Panen. Sastra Hudaya. Jakarta. 97 hal.
- Wirawan, B. 1992. Dessication of Recalcitrant and Orthodox Seed in Relation to The Stage of Seed Development and Germination. Thesis. Univ. of the Philippines at Los Banos. Philippines. 163 p.
- Wood, G.A.R. and R.A. Lass. 1985. Cocoa. Longman Scientific and Technical. New York. 618 p.