

APLIKASI *METHYLOBACTERIUM* spp. UNTUK MENINGKATKAN VIABILITAS BENIH DAN PERTUMBUHAN BIBIT PADI (*Oryza sativa* L.)

The application of Methylobacterium spp to increase seed viability and growth on paddy (Oryza sativa L.)

Era Kurniati¹, Eny Widajati², Selly Salma³

¹ Mahasiswa Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor

² Staf Pengajar Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor

³ Staf Peneliti Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian

Abstract

The goal of this research was to studied the effect of Methylobacterium spp to increase seed viability and growth on paddy (Oryza sativa L.) and it's application in field. This researchs have been conducted at Microbiology Laboratory, green house of Indonesian Center for Agricultural Biotechnology and Genetic Resources Research and also Development and Division of Seed Science and Technology, Department of Agronomy and Horticulture, Faculty of Agriculture, Bogor Agricultural University. This researchs consist of two experiments that is experiment of high and middle seed viability. Every experiment consist of two test. The first test was isolated TD-L2 ,TD-TPB3 and TD-G3 strain to increase the viability on high and middle paddy seed viability. The second test was the effect of TD-L2,TD-TPB3 and TD-G3 strain aplication to increase the paddy growth at different viability. The result of first test showed that TD-L2,TD-TPB3 and TD-G3 strain were most effective treatment in increasing high and middle seed viability germination. TD-L2,TD-TPB3 and TD-G3 strain was increased the germination speed and germination value on high seed viability. TD-TPB3 strain was increased dried biomassa of high seed viability germination. TD-TPB3 strain was increased the germination speed and vigour index on middle seed viability. The result of second test showed that seedling germination value, shoot length and shoot dried biomassa increases for seed imbibitions and phyllosphere application with TD-L2 and TD-TPB3 strain on middle seed viability.

Keyword: *Methylobacterium, Viability, Seedling, Paddy*

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Padi merupakan kebutuhan pangan utama penduduk Indonesia. Permintaan terhadap komoditas ini bertambah setiap tahunnya seiring dengan peningkatan jumlah penduduk Indonesia. Diperkirakan pada tahun 2025 jumlah penduduk Indonesia mencapai 273 juta jiwa dan kebutuhan beras mencapai 38,85 juta ton beras. Jumlah tersebut belum dapat memenuhi kebutuhan penduduk Indonesia, dengan menghitung rata-rata konsumsi beras 139,15 kg per kapita setiap tahun. Sehingga perlu peningkatan produksi sebesar lima juta ton atau naik 15% dari total produksi sebelumnya (Suryana, 2008). Salah satu program pemerintah yang telah dilakukan antara lain melalui program intensifikasi dengan melakukan perbaikan mutu benih dan bibit yang dapat meningkatkan produksi padi.

Perbaikan mutu benih dan bibit dapat dilakukan dengan memanfaatkan potensi mikroorganisme salah satunya adalah bakteri *Methylobacterium* spp. Menurut Sadjad (1993) kemunduran benih merupakan penurunan viabilitas benih baik secara alami (deteriorasi) maupun secara buatan (devigorasi). Pada saat masak fisiologis bobot kering benih dan vigor benih mencapai maksimum. Sejak itu, benih perlahan-lahan kehilangan vigor dan akhirnya mati. *Methylobacetrium* spp. dapat digunakan sebagai substitusi giberelin dan senyawa-senyawa anti jamur maupun anti bakteri pada pelapisan benih (*seed coating*) untuk meningkatkan mutu benih, seperti yang dilakukan pada benih import. Penggunaan *Methylobacetrium* TD-L2, PPU-K10 dan TD-J7 secara efektif dapat mematahkan dormansi padi varietas Ciherang pada periode *after-ripening* 5 minggu dan mempersingkat persistensi dormansi (Amin,2008). *Methylobacetrium* spp. diduga dapat dilakukan sebagai perlakuan benih (*seed treatment*) sebelum di semaikan dan sekaligus sebagai pupuk hayati yang dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman.

Benih yang telah mengalami kemunduran dapat ditingkatkan performansinya dengan memberi perlakuan invigorasi (Ilyas, 1994). Menurut Taylor *et al.* (1998) *seed enhancements* adalah perlakuan pasca panen untuk memperbaiki perkecambahan, atau memfasilitasi benih dan materi lain yang diperlukan saat tanam. Berdasarkan hasil penelitian Fitiriarini (2008) menunjukkan bahwa perlakuan invigorasi dengan menggunakan isolat *Methylobacterium* TD-G3 dapat meningkatkan kecepatan tumbuh benih padi pada viabilitas 70% dan juga dapat meningkatkan kecepatan tumbuh benih padi secara nyata pada viabilitas 82% dengan menggunakan isolat TD-L2, TD-TPB3, TD-J7, TD-J10, TD-G3.

Bakteri *Methylobacterium* spp. yang dikenal sebagai *Pink Pigmented Facultative Methylotroph* (PPFM) merupakan mikrobiota normal pada filosfer hampir semua tanaman, lumut, dan paku-pakuan. Menurut Widajati *et al.* (2008) kultur *Methylobacterium* spp. menghasilkan kombinasi hormon auksin, giberelin dan sitokinin yang bervariasi sehingga berpengaruh pada kemampuannya untuk meningkatkan vigor benih padi.

Potensi *Methylobacterium* spp. menjadi perhatian utama dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman. Berdasarkan penelitian Fitriarini (2008) diperoleh informasi bahwa masing-masing isolat *Methylobacterium* memiliki potensi dalam meningkatkan vigor benih padi. Sehingga pada penelitian ini perlu diteliti bagaimana cara pengaplikasian isolat *Methylobacterium* di lapangan.

Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pengaruh *Methylobacterium* spp. terhadap peningkatan viabilitas benih dan pertumbuhan bibit padi serta aplikasinya di persemaian.

Hipotesis

1. *Methylobacterium* spp. dapat meningkatkan viabilitas benih di laboratorium.
2. Dampak aplikasi di laboratorium akan terbawa sampai di persemaian.
3. Untuk mendapatkan pertumbuhan bibit yang lebih baik diperlukan penyemprotan *Methylobacterium* spp. di persemaian.

BAHAN DAN METODE

Tempat dan Waktu

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi, Rumah Kaca Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian (BB-Biogen), dan Bagian Ilmu dan Teknologi Benih Institut Pertanian Bogor (IPB). Penelitian dimulai dari bulan Maret 2009 sampai dengan bulan Juni 2009.

Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan adalah benih padi varietas Ciherang dengan dua tingkat viabilitas awal 88% dan 72%. Tiga isolat bakteri *Methylobacterium* TD-L2, TD-TPB3 dan TD-G3 yang merupakan koleksi dari Laboratorium Mikrobiologi, BB-Biogen. Bahan-bahan lainnya yang digunakan antara lain adalah media *Amonium Mineral Salt* (AMS) yang telah dimodifikasi, alkohol 70%, kertas merang sebagai media perkecambahan

Alat-alat yang digunakan adalah *laminar air flow cabinate*, *hand sprayer*, *rotary shaker*, *autoclaf*, jarum ose, timbangan analitik, oven, bak plastik, alat pengepres kertas IPB 75-1, dan alat pengecambah benih IPB 73-2B.

Metode Penelitian

Rancangan Penelitian

Penelitian terdiri dari delapan percobaan. Percobaan I (Aplikasi isolat *Methylobacterium* terhadap peningkatan viabilitas benih pada benih viabilitas tinggi) menggunakan benih padi varietas Ciherang dengan daya berkecambah awal 88% yang disusun secara RKL^T faktor tunggal faktor tunggal yang terdiri dari empat taraf dengan tiga ulangan sehingga total keseluruhan adalah 12 satuan percobaan. Percobaan II, III dan IV (Teknik Aplikasi isolat *Methylobacterium* TD-L2, TD-TPB3 dan TD-G3 terhadap pertumbuhan bibit padi pada benih viabilitas tinggi). Masing-masing percobaan TD-L2/TD-TPB3/TD-G3 dilakukan secara Rancangan Kelompok Lengkap Teracak (RKL^T) faktor tunggal yang terdiri dari empat taraf yaitu: 1) tanpa perendaman benih dengan isolat TD-L2/TD-TPB3/TD-G3 dan tanpa penyemprotan lanjutan di persemaian (kontrol)/A1; 2) tanpa perendaman benih dengan isolat TD-L2/TD-TPB3/TD-G3 tetapi dilanjutkan dengan penyemprotan di persemaian (A2); 3) perendaman benih dengan isolat TD-L2/TD-TPB3/TD-G3 tanpa penyemprotan lanjutan dengan isolat TD-L2/TD-TPB3/TD-G3 di persemaian (A3); 4) perendaman benih dan penyemprotan dengan isolat TD-L2/TD-TPB3/TD-G3 di persemaian (A4). Percobaan TD-L2/TD-TPB3/TD-G3 dilakukan dengan tiga ulangan sehingga total keseluruhan adalah 12 satuan percobaan.

Percobaan V (Aplikasi isolat *Methylobacterium* terhadap peningkatan viabilitas benih pada benih viabilitas sedang), menggunakan benih padi varietas Ciherang dengan daya berkecambah awal 72% yang disusun secara RAL faktor tunggal yang terdiri dari empat taraf dengan tiga ulangan sehingga total keseluruhan adalah 12 satuan percobaan. Percobaan VI, VII dan VIII (Aplikasi isolat *Methylobacterium* TD-L2, TD-TPB3 dan TD-G3 terhadap pertumbuhan bibit padi pada benih viabilitas sedang) Percobaan dilakukan secara Rancangan Kelompok Lengkap Teracak (RKL^T) faktor tunggal yang terdiri dari empat taraf, sama halnya pada percobaan II, III dan IV. Jika seluruh percobaan hasil sidik ragam diperoleh pengaruh nyata, selanjutnya dilakukan uji lanjut *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf 5%.

Pelaksanaan Penelitian

Pembuatan suspensi kultur isolat *Methylobacterium* spp. diawali dengan kegiatan rejuvenasi isolat *Methylobacterium* spp. dan pembuatan inokulan. Rejuvenasi dilakukan pada media agar *Amonium Mineral Salt* (AMS) yang telah dimodifikasi (Corpe,1985) untuk pertumbuhan *Methylobacterium* spp. Hasil dari rejuvenasi tersebut, sebanyak satu ose dari masing-masing isolat diinokulasikan pada 100 ml media cair AMS yang telah dimodifikasi secara aseptik.

Pengaruh Aplikasi Isolat *Methylobacterium* TD-L2, TD-TPB3 dan TD-G3 terhadap Peningkatan Viabilitas Benih Viabilitas Tinggi dan Sedang.

Benih yang terpilih direndam dengan masing-masing suspensi kultur bakteri selama 24 jam dan tanpa perendaman (kontrol). Benih yang telah direndam dengan isolat bakteri kemudian ditanam dengan menggunakan metode Uji Kertas Digulung didirikan dalam plastik (UKDdp) dengan alat pengecambah benih IPB 73-2B.

Pengaruh Teknik Aplikasi Isolat *Methylobacterium* TD-L2, TD-TPB3, dan TD-G3 terhadap Pertumbuhan Bibit Padi pada Benih Viabilitas Tinggi dan Sedang

Benih direndam terlebih dahulu dengan isolat TD-L2/TD-TPB3/TD-G3 selama 24 jam dan tanpa perendaman dengan isolat tersebut. Benih yang telah direndam dan tidak direndam kemudian disemai pada bak plastik yang berisi tanah sawah, diperoleh dari Instalasi Penelitian Padi Muara, Bogor. Setelah umur bibit 10 hari dilakukan penyemprotan dengan 75 ml/bak suspensi kultur isolat TD-L2/TD-TPB3/TD-G3 dan tanpa penyemprotan isolat bakteri.

Pengamatan

Tolok ukur yang diamati pada percobaan I, yaitu: Daya Berkecambah (DB), Potensi Tumbuh Maksimum (PTM), Kecepatan Tumbuh (K_{CT}), Indeks Vigor (IV), Bobot Kering Kecambah (BKK). Tolok ukur yang diamati pada percobaan II,

yaitu: Daya Tumbuh Bibit, Keserempakan Tumbuh Bibit, Tinggi Tajuk Bibit dan Bobot Kering Tajuk Bibit.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Aplikasi Isolat TD-L2, TD-TPB3 dan TD-G3 terhadap Peningkatan Viabilitas Benih

Berdasarkan analisis ragam dapat dilihat adanya pengaruh perlakuan invigorasi pada benih tingkat viabilitas tinggi dan sedang yang nyata terhadap beberapa peubah yang diamati (Tabel 1 dan 2)

Tabel 1. Rekapitulasi Hasil Analisis Ragam Pengaruh Aplikasi Isolat *Methylobacterium* pada Benih Viabilitas Tinggi terhadap Daya Berkecambah (DB), Kecepatan Tumbuh (K_{CT}), Indeks Vigor (IV), Bobot Kering Kecambah (BKK) dan Potensi Tumbuh Maksimum (PTM) benih.

Peubah	I	Pr>F	KK (%)
DB	*	0.0161	1.17
K _{CT}	**	0.0103	9.68
IV	tn	0.0813	4.34
BKK	*	0.0329	9.23
PTM	tn	0.4547	1.16

Keterangan: I = Isolat *Methylobacterium*; tn = tidak berpengaruh nyata; * = berpengaruh nyata pada taraf α = 5%; ** = berpengaruh sangat nyata pada taraf α = 1%

Tabel 2. Rekapitulasi Hasil Analisis Ragam Pengaruh Aplikasi Isolat *Methylobacterium* pada Benih Viabilitas Sedang terhadap Daya Berkecambah (DB), Kecepatan Tumbuh (K_{CT}), Indeks Vigor (IV), Bobot Kering Kecambah (BKK) dan Potensi Tumbuh Maksimum (PTM) benih.

Peubah	I	Pr>F	KK (%)
DB	tn	0.7736	11.74
K _{CT}	**	0.0058	7.46
IV	**	0.0001	12.06
BKK	tn	0.3065	17.17
PTM	tn	0.2642	4.66

Keterangan: I = Isolat *Methylobacterium*; tn = tidak berpengaruh nyata; ** = berpengaruh sangat nyata pada taraf α = 1%

Pada Tabel 3. menunjukkan bahwa perlakuan dengan menggunakan isolat TD-L2, TD-TPB3 dan TD-G3 secara nyata mampu meningkatkan daya berkecambah benih tingkat viabilitas tinggi dari 96% menjadi 100%, 98.67% dan 100%. Pada benih tingkat viabilitas sedang perlakuan dengan isolat TD-TPB3 cenderung dapat meningkatkan daya berkecambah benih dari 78.67% menjadi 82.67%, meski secara statistik tidak berbeda nyata. Berdasarkan hasil penelitian Nasution (2003) perlakuan invigorasi dengan menggunakan hormon tumbuh GA3 150 ppm mampu meningkatkan viabilitas benih semangka yang telah disimpan selama 3 bulan dengan daya berkecambah awal 76% menjadi 92%. Benih dengan tingkat viabilitas 88% masih memiliki organel sel dan cadangan makanan yang relatif baik (Widajati *et al.*, 1990), sehingga dengan perlakuan invigorasi viabilitas benih dapat diperbaiki.

Menurut Holland (1997) bakteri PPFM berperan dalam perkecambahan biji kering. Keberadaan PPFM memicu viabilitas biji. Viabilitas tersebut dapat pula dipicu oleh produksi hormon sitokinin yang dihasilkan oleh bakteri PPFM selain itu bakteri ini juga dapat memproduksi IAA (*Indole Acetic Acid*) (Ivanova *et al.*, 2001). Pernyataan ini juga didukung oleh hasil penelitian Widajati *et al.* (2008) bahwa *Methylobacterium* spp. dapat memproduksi fitohormon IAA, GA3 dan sitokinin yang diduga dapat meningkatkan perkecambahan benih yang telah mengalami kemunduran. Pemberian GA3 merangsang pembentukan enzim-enzim hidrolisis. Menurut Watkins *et al.* (1985) larutan GA3 dapat meningkatkan aktivitas enzim yang berimplikasi terhadap perombakan endosperma, sehingga menghilangkan hambatan mekanis saat pertumbuhan embrio.

Tabel 3. Pengaruh Aplikasi Isolat *Methylobacterium* pada Benih Tingkat Viabilitas Tinggi dan Sedang terhadap Daya Berkecambah Benih Padi.

Perlakuan Invigorasi	Benih Viabilitas Tinggi		Benih Viabilitas Sedang	
	...%...		...%...	
Kontrol	96 b		78.67	
TD-L2	100 a		78.67	
TD-TPB3	98.67 a		82.67	
TD-G3	100 a		74.67	

Keterangan: angka-angka pada kolom yang sama diikuti dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji DMRT taraf 5%.

Pada Tabel 4 menunjukkan bahwa perlakuan dengan menggunakan isolat TD-L2, TD-TPB3 dan TD-G3 sangat nyata meningkatkan kecepatan tumbuh benih viabilitas tinggi dan sedang. Isolat TD-TPB3 memproduksi GA3 sebesar 129.83 ppm, angka yang cukup tinggi dibanding TD-L2 (98.36 ppm) dan TD-G3 (20.28 ppm). Giberelin memiliki peranan dalam perombakan cadangan makanan dan sebagai penginduksi enzim perombakan endosperm, sampai tersedianya energi untuk pertumbuhan embrio (Andreoli and Khan, 1999)

Perlakuan dengan menggunakan isolat TD-L2 dan isolat TD-G3 mampu meningkatkan kecepatan tumbuh benih padi tingkat viabilitas tinggi mencapai rata-rata 23.95% KN/etmal yang tidak berbeda nyata dengan isolat bakteri lainnya tetapi berpengaruh sangat nyata pada kontrol yang rata-rata 16.21%. Kecepatan tumbuh benih padi viabilitas sedang sangat nyata meningkat dengan perlakuan isolat bakteri TD-L2, TD-TPB3, dan TD-G3 sebesar 3.52% KN/etmal, 5.11% KN/etmal, dan 2.67% KN/etmal dibanding kontrol 13.55% KN/etmal. Isolat TD-TPB3 merupakan perlakuan terbaik diantara isolat bakteri lainnya pada benih viabilitas sedang, karena isolat TD-TPB3 memproduksi GA3 paling tinggi yang kemudian diikuti oleh isolat TD-L2 dan TD-G3.

Hasil penelitian Fitriarini (2008) menunjukkan bahwa perlakuan invigorasi dengan menggunakan isolat TD-G3 dapat meningkatkan kecepatan tumbuh benih padi tingkat viabilitas 70% secara nyata, karena isolat TD-G3 memproduksi kombinasi hormon GA3 (20.28 ppm) dan sitokinin (69.36 ppm). Perlakuan isolat TD-L2, TD-TPB3, TD-J7, TD-J10 dan TD-G3 dapat meningkatkan kecepatan tumbuh benih secara nyata pada benih tingkat viabilitas 82%.

Menurut Jawal *et al.* (1996) penggunaan zat pengatur tumbuh hanya dapat berpengaruh terhadap proses fisiologi pada perkecambahan benih apabila kandungan hormon endogen di dalam jaringan benih merupakan faktor pembatas.

Kecepatan tumbuh (K_{CT}) benih merupakan salah satu tolok ukur yang dapat digunakan untuk mengetahui vigor kekuatan tumbuh (V_{KT}) benih. Benih yang memiliki kekuatan tumbuh yang tinggi dapat menghasilkan tanaman yang tegar di lapang meski lingkungan tumbuh yang tidak optimum (Sadjad *et al.*,1999).

Tabel 4. Pengaruh Aplikasi Isolat *Methylobacterium* pada Benih Tingkat Viabilitas Tinggi dan Sedang Terhadap Kecepatan Tumbuh (K_{CT}) Benih Padi.

Perlakuan Invigorasi	K_{CT}	
	Benih Viabilitas Tinggi	Benih Viabilitas Sedang
...% KN/etmal...		
Kontrol	16.21 b	13.55 c
TD-L2	23.95 a	17.07 ab
TD-TPB3	23.52 a	18.66 a
TD-G3	23.95 a	16.22 b

Keterangan: angka-angka pada kolom yang sama diikuti dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji DMRT taraf 5%

Benih tingkat viabilitas tinggi memiliki respon yang baik pada tolok ukur indeks vigor dengan perlakuan invigorasi isolat TD-L2. Indeks vigor pada benih tingkat viabilitas tinggi meningkat sebesar 10.67% dari kontrol 89.33% (Tabel 5). Perlakuan dengan isolat TD-L2, TD-TPB3 dan TD-G3 sangat nyata meningkatkan indeks vigor pada benih tingkat viabilitas sedang dengan delta indeks vigor sebesar 45.33%, 48%, dan 36% dibanding kontrol 22.67%.

Hal ini juga didukung dengan hasil penelitian Fitriarini (2008) yang menunjukkan bahwa perlakuan invigorasi dengan menggunakan isolat TD-TPB3, TD-J7, TD-G3 dan PPU-K10

dapat meningkatkan indeks vigor benih padi pada tingkat viabilitas 70%, 82% dan 87%.

Benih yang berkecambah lebih lambat dan mempunyai perbedaan yang besar antara hitungan pertama dan terakhir mempunyai vigor yang rendah (Bryd,1983).

Tabel 5. Pengaruh Aplikasi Isolat *Methylobacterium* pada Benih Tingkat Viabilitas Tinggi dan Sedang terhadap Indeks Vigor (IV) Benih Padi.

Perlakuan Invigorasi	IV	
	Benih Viabilitas Tinggi	Benih Viabilitas Sedang
....%....		
Kontrol	89.33	22.67 b
TD-L2	100	68.00 a
TD-TPB3	97.33	70.67 a
TD-G3	97.33	58.67 a

Keterangan: angka-angka pada kolom yang sama diikuti dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji DMRT taraf 5%

Hasil pengamatan pada Tabel 6, menunjukkan bahwa perlakuan dengan menggunakan isolat TD-TPB3 dapat meningkatkan bobot kering kecambah pada benih tingkat viabilitas tinggi secara nyata dan pada benih tingkat viabilitas sedang, meskipun tidak signifikan. Menurut Lidstrom dan Chistoserdova (2002) bakteri *Methylobacterium* spp. dapat menstimulasi perkecambahan benih dan perkembangan tanaman dengan cara memproduksi fitohormon.

Menurut Fahriah (1998) benih kakao yang telah direndam dengan zat pengatur tumbuh NAA:GA3 (0.1:0.1) mM pada benih dikonservasi selama 3 minggu terlihat dapat memperbaiki kemampuan benih untuk menghasilkan berat kering yang lebih besar yaitu 0.008 g dari pada benih yang hanya dikonservasi selama 1 minggu.

Tabel 6. Pengaruh Aplikasi Isolat *Methylobacterium* pada Benih Tingkat Viabilitas Tinggi dan Sedang terhadap Bobot Kering Kecambah (BKK) Padi.

Perlakuan Invigorasi	BKK	
	Benih Viabilitas Tinggi	Benih Viabilitas Sedang
...g...		
Kontrol	0.16607 b	0.08927
TD-L2	0.20137 ab	0.10600
TD-TPB3	0.22847 a	0.11673
TD-G3	0.19957 ab	0.09570

Keterangan: angka-angka pada kolom yang sama diikuti dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji DMRT taraf 5%

Pengaruh dengan menggunakan *Methylobacterium* spp. memberikan pengaruh yang nyata pada beberapa tolok ukur yang diamati. Pada tolok ukur DB, bakteri TD-L2 dan TD-G3 meningkatkan daya berkecambah benih tingkat viabilitas tinggi dari 96% menjadi 100% secara nyata. Bakteri TD-TPB3 meningkatkan daya berkecambah benih tingkat viabilitas sedang dari 78.67% menjadi 82.67%, meskipun secara statistik tidak berpengaruh nyata. Pada tolok ukur K_{CT} , bakteri TD-L2, TD-TPB3 dan TD-G3 sangat nyata meningkatkan kecepatan tumbuh benih menjadi rata-rata 23.81% KN/etmal pada benih viabilitas tinggi dan bakteri TD-TPB3 sangat nyata meningkatkan kecepatan tumbuh benih menjadi 18.66% KN/etmal pada benih viabilitas sedang. Pada tolok ukur IV, bakteri TD-L2 meningkatkan indeks vigor menjadi 100% pada benih tingkat viabilitas tinggi dan bakteri TD-TPB3 sangat nyata meningkatkan indeks vigor benih menjadi 70.67% pada benih tingkat viabilitas sedang. Perlakuan bakteri TD-TPB3 secara nyata dapat meningkatkan bobot kering kecambah menjadi 0.22847g pada benih viabilitas tinggi dan bobot kering kecambah pada benih viabilitas sedang menjadi 0.11673g namun peningkatan bobot kering kecambah tidak signifikan.

Pengaruh Teknik Aplikasi Isolat TD-L2, TD-TPB3 dan TD-G3 terhadap Pertumbuhan Bibit Padi pada Benih Tingkat Viabilitas Tinggi dan Sedang

Berdasarkan hasil analisis ragam menunjukkan bahwa aplikasi isolat *Methylobacterium* spp. berpengaruh nyata terhadap beberapa peubah yang dan rekapitulasinya dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Rekapitulasi Hasil Analisis Ragam Pengaruh Teknik Aplikasi Isolat *Methylobacterium* spp. pada Benih Tingkat Viabilitas Tinggi dan Sedang terhadap Kecerempakan Bibit (KST) Padi, Daya Tumbuh Bibit (DTB), Tinggi Tajuk Bibit (TTB), dan Bobot Kering Tajuk Bibit (BKTB) Padi.

Jenis Isolat	Peubah	Viabilitas Tinggi	KK (%)	Viabilitas Sedang	KK (%)
TD-L2	KST	tn	7.47	**	19.57
	DTB	tn	7.42	tn	8.66
	TTB	tn	6.99	tn	3.32
	BKTB	tn	12.79	tn	13.66
TD-TPB3	KST	tn	10.77	**	20.69
	DTB	tn	6.67	**	6.95
	TTB	tn	11.73	tn	11.65
	BKTB	tn	17.67	tn	26.96
TD-G3	KST	tn	7.44	*	16.37
	DTB	tn	4.89	tn	19.19
	TTB	tn	8.25	tn	4.40
	BKTB	tn	20.52	tn	9.97

Tabel 8. menunjukkan bahwa pada benih viabilitas tinggi dengan aplikasi perendaman benih dengan isolat bakteri TD-L2, TD-TPB3, dan TD-G3 dapat meningkatkan keserempakan tumbuh bibit menjadi rata-rata 12.55%, namun tidak berbeda nyata dengan aplikasi tanpa rendam. Aplikasi perendaman benih dengan isolat TD-L2 cenderung mampu meningkatkan keserempakan tumbuh bibit menjadi rata-rata 94% dibanding aplikasi tanpa rendam yang rata-ratanya adalah 80.84%. Aplikasi perendaman benih dengan isolat TD-TPB3 cenderung mampu meningkatkan keserempakan tumbuh bibit menjadi rata-rata 96.17% lebih tinggi dibanding tanpa rendam (81.34%). Aplikasi perendaman benih dengan isolat TD-G3 juga cenderung mampu meningkatkan keserempakan tumbuh bibit menjadi rata-rata 93.5% lebih tinggi dibanding tanpa rendam (83.84%).

Pada percobaan benih viabilitas sedang menunjukkan bahwa aplikasi perendaman benih dengan isolat TD-L2, TD-TPB3 dan TD-G3 sangat nyata meningkatkan keserempakan tumbuh bibit di persemaian pada benih viabilitas sedang. Aplikasi perendaman benih dengan isolat TD-L2 sangat nyata meningkatkan keserempakan tumbuh bibit yaitu 65.83% nyata lebih tinggi dibanding tanpa rendam dengan rata-rata 26.83%. Aplikasi perendaman benih dengan isolat TD-TPB3 sangat nyata meningkatkan keserempakan tumbuh bibit menjadi rata-rata 58.84% dibanding tanpa rendam dengan rata-rata 21.17%. Aplikasi perendaman benih dengan isolat TD-G3 nyata meningkatkan keserempakan tumbuh bibit menjadi rata-rata 50.50% dibanding tanpa rendam dengan rata-rata 24.34%.

Isolat bakteri TD-L2, TD-TPB3 dan TD-G3 memproduksi hormon tumbuh IAA, GA3 dan Trans zeatin dengan konsentrasi yang beragam (Tabel 10). Merendam benih atau mengimbibisi benih dengan zat pengatur tumbuh tertentu untuk memperbaiki vigor benih yang rendah merupakan salah satu upaya peningkatan vigor benih. Benih yang direndam dalam zat pengatur tumbuh bertujuan untuk mengaktifkan enzim-enzim perkecambahan sehingga perkecambahan menjadi baik.

Menurut Kende dan Zeevart dalam Glick *et al.* (1999) hormon tumbuh IAA memiliki fungsi dalam pembelahan sel, menginduksi pemanjangan akar dan pucuk. Giberelin berperan dalam memacu perkecambahan benih pada berbagai spesies (Copeland and Mc. Donald, 2001). Sitokinin berfungsi dalam memacu pembelahan sel. Ketiga hormon tersebut bekerja secara berinteraksi yang dicirikan dalam perkembangan tanaman.

Tabel 8. Pengaruh Teknik Aplikasi Isolat TD-L2, TD-TPB3 dan TD-G3 pada Benih Tingkat Viabilitas Tinggi dan Sedang terhadap Tolok Ukur Keserempakan Tumbuh Bibit.

Teknik Aplikasi	Jenis Isolat					
	TD-L2		TD-TPB3		TD-G3	
	Tinggi	Sedang	Tinggi	Sedang	Tinggi	Sedang
T rendam	80.84	26.83	81.34	21.17	83.84	24.34
Rendam	94	65.83	96.17	58.84	93.50	50.50

Hasil pengamatan pada Tabel 9. menunjukkan bahwa daya tumbuh bibit pada benih viabilitas sedang sangat nyata meningkat dengan aplikasi perendaman benih dengan isolat TD-TPB3 dan penyemprotan di persemaian dengan isolat TD-TPB3 sebesar 19% dari kontrol.

Hormon tumbuh giberelin yang diproduksi oleh isolat bakteri TD-TPB3 (Tabel 10) mampu meningkatkan perkecambahan pada benih dengan tingkat viabilitas sedang. Hasil penelitian Sutariati (1998) perlakuan invigorasi benih dengan menggunakan GA3 secara nyata efektif dapat meningkatkan viabilitas dan vigor benih serta mampu meningkatkan konsentrasi protein pada benih. Giberelin, khususnya GA3 sebagai promotor perkecambahan benih dan dapat mengaktifkan enzim-enzim hidrolisis (α -amilase) yang terdapat pada endosperma (Bewely dan Black dalam Wusono, 2001)

Daya tumbuh bibit dapat ditingkatkan dengan mengaplikasikan bakteri *Methylobacterium* isolat TD-TPB3 dengan beberapa kali aplikasi, yaitu aplikasi pada benih sebelum di semai yang dilanjutkan dengan penyemprotan pada saat umur bibit.

Tabel 9. Pengaruh Teknik Aplikasi Isolat TD-L2, TD-TPB3 dan TD-G3 pada Benih Tingkat Viabilitas Tinggi terhadap Tolok Ukur Daya Tumbuh (DTB) Bibit.

Aplikasi Isolat	DTB
%....
Tanpa rendam + tanpa semprot (Kontrol)	55.33 b
Tanpa rendam + semprot	52.00 b
Rendam + tanpa semprot	57.67 b
Rendam + semprot	74.33 a

Keterangan: angka-angka pada kolom yang sama diikuti dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji DMRT taraf 5%

Pengaruh aplikasi isolat *Methylobacterium* TD-L2, TD-TPB3 dan TD-G3 terhadap tinggi tajuk bibit memberikan respon yang beragam. Menurut Widajati *et al.* (2008) isolat bakteri TD-L2, TD-TPB3 dan TD-G3 mampu memproduksi fitohormon dengan konsentrasi yang beragam (Tabel 10). Hal ini juga didukung dengan pernyataan Riupassa (2003) bahwa meskipun *Methylobacterium* spp. berwarna merah muda dan merupakan satu kelompok metilotrof, namun faktor genetiknya sangat beragam dan kemungkinan memiliki pola adaptasi untuk mampu hidup pada lingkungan yang beragam pula. Secara statistik pengaruh aplikasi ketiga isolat bakteri terhadap tinggi tajuk bibit pada pengujian benih viabilitas tinggi dan sedang tidak berpengaruh nyata.

Gambar 1 menunjukkan bahwa ketiga aplikasi isolat tersebut, isolat TD-L2 memberikan hasil yang tidak lebih baik dari kontrol. Pengaruh aplikasi penyemprotan isolat TD-TPB3 di persemaian menunjukkan peningkatan tinggi tajuk hanya 1.5 cm dari kontrol, sedangkan pengaruh aplikasi penyemprotan bibit dengan isolat TD-TPB3 pada benih yang tidak di rendam menunjukkan hasil yang tidak lebih baik dari kontrol. Pada aplikasi perendaman benih dengan isolat TD-G3 dan penyemprotan lanjutan menunjukkan hasil yang tidak lebih baik dari kontrol.

Perlakuan aplikasi isolat bakteri yang menghasilkan pertumbuhan bibit yang paling rendah dibandingkan kontrol disebabkan karena kondisi bak yang berlubang. Sehingga tanah mengalami kekeringan yang berakibat terhadap pertumbuhan bibit.

Pada Gambar 2. menunjukkan bahwa pengaruh aplikasi penyemprotan dengan isolat TD-L2 dan TD-TPB3 di persemaian menunjukkan hasil tinggi tajuk yang lebih baik,

dimana dilakukan perendaman benih sebelumnya. Aplikasi perendaman benih dengan isolat TD-L2 yang dilanjutkan dengan penyemprotan di persemaian memberikan respon terhadap peningkatan tinggi tajuk bibit sebesar 2.57 cm dibanding kontrol 28.69 cm. Aplikasi perendaman benih dengan isolat TD-TPB3 yang dilanjutkan dengan penyemprotan di persemaian memberikan respon terhadap peningkatan tinggi tajuk sebesar 3.79 cm pada dibanding kontrol 28.84 cm. Pengaruh aplikasi penyemprotan isolat TD-G3 tanpa perendaman benih dengan isolat TD-G3 menunjukkan hasil yang lebih baik dibanding aplikasi penyemprotan isolat TD-G3 yang dilakukan perendaman sebelumnya.

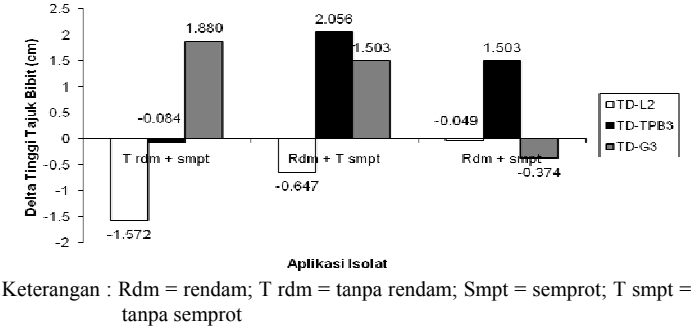
Aplikasi perendaman benih dengan isolat *Methylobacterium* yang dilanjutkan dengan penyemprotan di persemaian memberikan respon yang baik terhadap pertumbuhan tanaman. Bakteri *Methylobacterium* spp. merupakan mikrobiota normal pada filosfer hampir semua tanaman, lumut, dan paku-pakuan, sehingga isolat TD-L2, TD-TPB3 dan TD-G3 dapat mengkolonisasi inangnya walaupun isolat tersebut berasal dari tanaman yang berbeda. Kemampuan bakteri untuk hidup pada inangnya memungkinkan bakteri melakukan fungsi sekunder yaitu memproduksi fitohormon yang dapat mendukung pertumbuhan tanaman inang (Amelia, 2002).

Tabel 10. Kandungan Hormon pada *Methylobacterium* spp.

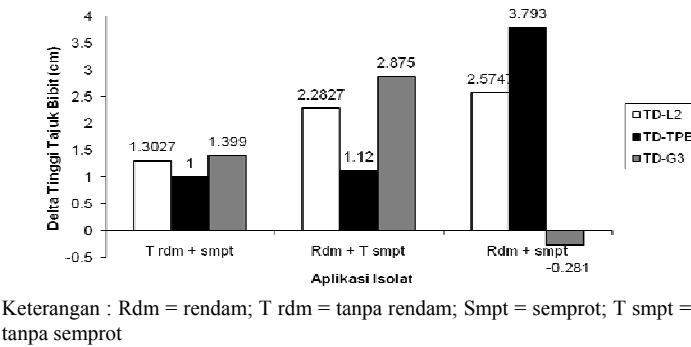
Bakteri	Kandungan (ppm)		
	IAA	GA3	Sitokinin
TD-L2	12.68	98.36	49.74
TD-G3	5.74	20.28	69.36
TD-TPB3	9.56	129.83	33.4

Sumber : Widajati *et al.* (2008)

Faktor lingkungan yang diduga mempengaruhi hasil pada pengujian benih viabilitas sedang antara lain faktor lingkungan fisik seperti cahaya dan angin diduga dapat mempengaruhi hasil yang diperoleh. Cahaya yang kurang dan tidak merata dapat berpengaruh terhadap pertumbuhan tanaman. Hembusan angin yang cukup kuat dari luar rumah kaca memungkinkan bakteri menyebar dari satu tanaman ke tanaman lainnya sehingga menyebabkan terjadinya migrasi bakteri PPFM tersebut. Selain itu juga terdapatnya serangga yang terbang dari satu tanaman ke tanaman lain. Seperti yang telah dilaporkan oleh Lindow dan Andersen *dalam* Amelia (2002) bahwa adanya migrasi bakteri epifit yang mempengaruhi populasi bakteri pada daun jeruk navel.



Gambar 1. Pengaruh Aplikasi Isolat TD-L2, TD-TPB3 dan TD-G3 pada Tingkat Viabilitas Benih Tinggi terhadap Tolok Ukur Tinggi Tajuk Bibit.



Gambar 2. Pengaruh Aplikasi Isolat TD-L2, TD-TPB3 dan TD-G3 pada Tingkat Viabilitas Benih Sedang terhadap Tolok Ukur Tinggi Tajuk Bibit.

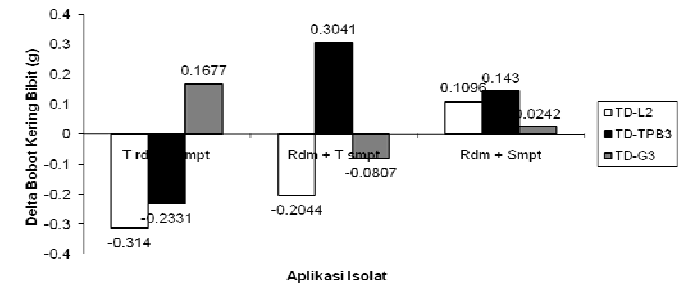
Gambar 3. menunjukkan bahwa pengaruh aplikasi isolat bakteri tidak dapat terlihat pada peubah bobot kering tajuk bibit, hal ini disebabkan karena ketersediaan air yang kurang selama pertumbuhan bibit pada pengujian benih viabilitas tinggi. Sehingga berdampak pada biomassa tajuk bibit.

Pada Gambar 4. menunjukkan bahwa penyemprotan lanjutan dengan *Methylobacterium* isolat TD-L2, TD-TPB3 dan TD-G3 mampu meningkatkan bobot kering tajuk bibit dibandingkan dengan kontrol pada pengujian benih viabilitas sedang, meskipun hasil analisis ragam tidak berpengaruh nyata pada aplikasi isolat bakteri yang diberikan.

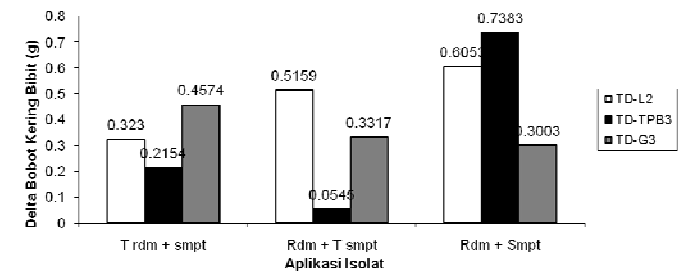
Bobot kering tajuk bibit pada pengujian benih viabilitas sedang dapat ditingkatkan sebesar 0.6053g dibandingkan kontrol oleh aplikasi perendaman benih dengan isolat TD-L2 yang dilanjutkan dengan penyemprotan bibit dengan isolat TD-L2. Aplikasi perendaman benih dengan isolat TD-TPB3 dan penyemprotan bibit dengan isolat TD-TPB3 mampu meningkatkan bobot kering tajuk bibit sebesar 0.7383g dibandingkan kontrol. Aplikasi tanpa perendaman benih dengan isolat TD-G3 yang dilanjutkan dengan penyemprotan isolat TD-G3 dapat meningkatkan bobot kering bibit sebesar 0.4574g dibanding kontrol.

Berdasarkan hasil penelitian Maliti *et al.* (2005) strain *Methylobacterium* spp. Q4 dan Q5 berpengaruh sangat nyata terhadap parameter pertumbuhan akar, batang, daun dan produksi biomassa padi yang diukur selama sembilan hari pada kultur in vitro.

Pada pengujian benih viabilitas sedang ketersediaan air dapat dikontrol selama pertumbuhan bibit. Namun diduga faktor lingkungan masih dapat mempengaruhi hasil yang diperoleh, seperti cahaya yang kurang dan sulit dibuat merata.



Gambar 3. Pengaruh Aplikasi Isolat TD-L2, TD-TPB3 dan TD-G3 pada Tingkat Viabilitas Benih Tinggi terhadap Tolok Ukur Bobot Kering Tajuk Bibit.



Gambar 4. Pengaruh Aplikasi Isolat TD-L2, TD-TPB3 dan TD-G3 pada Benih Tingkat Viabilitas sedang terhadap Tolok Ukur Bobot Kering Tajuk Bibit.

Aplikasi isolat *Methylobacterium* akan terlihat pada benih yang sudah mengalami kemunduran dibanding benih yang masih memiliki viabilitas tinggi maupun benih yang berviabilitas rendah.

Isolat bakteri TD-L2 memberikan pengaruh yang baik pada benih viabilitas tinggi pada tolok ukur DB, K_{CT}, IV dan keserempakan tumbuh bibit pada benih viabilitas sedang. Isolat bakteri TD-TPB3 memberikan pengaruh yang baik pada semua tolok ukur yang diamati, pada perlakuan benih dan aplikasi isolat bakteri sebelum dan sesudah semai pada pengujian benih viabilitas sedang.

Aplikasi terbaik dari *Methylobacterium* isolat TD-L2 dan TD-TPB3 dalam meningkatkan pertumbuhan bibit dapat dilakukan pada benih sebelum di semai dan pada saat umur bibit. Aplikasi isolat TD-G3 memberikan pengaruh yang berbeda-beda pada setiap peubah yang diamati.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pengamatan yang dilakukan terhadap tolok ukur yang diamati diketahui bahwa *Methylobacterium* isolat TD-L2, dan TD-G3 dapat meningkatkan viabilitas potensial benih pada tolok ukur DB dari 96% menjadi 100% dan vigor benih pada tolok ukur K_{CT} dari 16.21%KN/etmal menjadi 23.95%KN/etmal pada benih viabilitas tinggi. Isolat TD-L2 memberikan respon yang baik dalam meningkatkan tolok ukur IV dari 89.33% menjadi 100% pada benih viabilitas tinggi. Isolat TD-TPB3 dapat meningkatkan BKK pada benih viabilitas tinggi dengan delta sebesar 0.0624 g. Aplikasi dengan isolat TD-TPB3 memberikan pengaruh yang baik pada viabilitas potensial benih viabilitas sedang berdasarkan tolok ukur DB dari 78.67% menjadi 82.67% dan BKK dengan delta sebesar 0.02746 g serta dapat meningkatkan vigor benih pada tolok ukur K_{CT} dari 13.55 % KN/etmal menjadi 18.66 %KN/etmal dan IV dari 22.67% menjadi 70.67%.

Aplikasi perendaman benih dengan isolat *Methylobacterium* TD-L2 dan TD-TPB3 sangat nyata meningkatkan keserempakan tumbuh bibit sebesar 65.83% dan 58.84% dan isolat TD-G3 nyata meningkatkan keserempakan tumbuh bibit menjadi rata-rata sebesar 50.50% pada pengujian benih viabilitas sedang. Aplikasi perendaman benih dengan isolat *Methylobacterium* TD-TPB3 yang dilanjutkan dengan penyemprotan di persemaian sangat nyata meningkatkan daya tumbuh bibit dari 55.33% menjadi 74.33% pada pengujian benih viabilitas sedang. Isolat TD-L2 dan TD-TPB3 memberikan pengaruh yang baik pada tinggi tajuk bibit dan bobot kering tajuk bibit dengan aplikasi perendaman benih viabilitas sedang sebelum semai dan dilanjutkan dengan penyemprotan isolat *Methylobacterium* pada umur bibit.

SARAN

Isolat TD-L2, TD-TPB3, dan TD-G3 memiliki potensi serta pola adaptasi untuk mampu hidup pada lingkungan yang beragam pula dalam meningkatkan vigor benih dan bibit. Perlu dilakukan penelitian lanjutan terhadap konsentrasi bakteri *Methylobacterium* dalam meningkatkan produksi padi pada varietas yang berbeda dengan tolok ukur yang lebih banyak.

DAFTAR PUSTAKA

Amelia, R.2002. Pengaruh Inokulasi Isolat Bakteri *Pink Pigmented*Facultative Methylo-troph terhdap Pertumbuhan Jagung dan Kedelai. Skripsi. Biologi. IPB. 15 hal

Amin, N. 2008. Pengaruh *Methylobacterium* spp. terhadap Pematahan Dormansi Benih Padi (*Oryza sativa* L.). Skripsi. Departemen Agronomi dan Hotikulutra, IPB. Bogor. 30 hal.

Andreoli C., and A.A. Khan. 1999. Matricconditioning integrated with gibberelic acid to hasten seed germination and improve stand establishment of pepper and tomato. Pasq. Agropec. Bras. Vol. 34, No 10,pp.1953-1958

Bryd, H. W. 1983. Pedoman Teknologi Benih (terjemahan). PT. Pembimbing Masa. Jakarta. 79 hal.

Copeland, Lawrence O. and Miller B. Mc Donald. 2001. Principles of Seed Science and Technology. Kluwer Academic Publisher. Massachusetts. 467 p.

Corpe, W. A. 1985. A method for detecting *methylo-trophic* bacteria on solid surfaces. J. Microbiol. Methods 3: 215-221

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. IPB. Bogor.

Fitriarini, D. 2008. Penggunaan *Methylobacterium* spp. untuk Invigorasi Benih Padi (*Oryza sativa* L.). Departemen Agronomi dan Hortikultura, IPB. Bogor. 29 hal

Glick BR. Patten CL. Holguin G. and Penrase D.M. 1999. Biochemical and Genetic Mechanism Used by Plant Growth Promoting Bacteria. London: Imperial Collage Press.

Holland, M. A. 1997. *Methylobacterium* and plants. Recent Res. Devei. In Plant Physiol. 1: 207-213.

Ilyas, S. 1994. Matricconditioning benih cabai (*Capsicum annum* L.) untuk memperbaiki performansi benih. Keluarga Benih 5 (1): 59-67

Ivanova, E. G., N. V. Doronina, and Y. A. Trotsenko. 2001. Aerobic methylobacteria are capable of synthesizing auxins. Microbiology 70:392-397.

Lidstrom, M. E. and L. Chistoserdova. 2002. Plant and the pink: Cytokinin Productionby *Methylobacterium*. Journal of Bacteriology. 184 (7): 1818.

Jawal, M., N.L.P. Indriyani, Sri H. dan Elliana M. 1996. Pengaruh Konsentrasi GA3 dan Lama Perendaman terhadap Perkecambahan Benih dan Pertumbuhan Benih Manggis. Jurnal Hortikultura 6(1):1-5

Maliti, C.M., Charles, M. Basile, D. dan Corpe William, A. 2005. Effects of *Methylobacterium* spp Strains on Rice *Oryza sativa* L. callus induction, planlet Regeneration, and Seedling Growth in vitro. Journal of The Torrey Botanical Society, Apr-Jun.

Nasution, Y.Y. 2003. Pengaruh Perlakuan Invigorasi terhadap Viabilitas Benih Semangka (*Citrullus vulgaris* Schard), Benih Melon (*Cucumis melo* L.), dan Benih Ketimun (*Cucumis sativus*) pada Beberapa Periode Simpan. Jurusan Budidaya Pertanian, IPB. Bogor. 37 hal.

Riupassa, P. A. 2003. Kelimpahan dan Keragaman Genetik Bakteri *Pink Pigmented Facultative Methylo-troph* dari Beberapa Daun Sayuran Lalapan. Tesis. Bioteknologi, IPB. Bogor. 32 hal.

Sadjad, S., Endang M., dan Satriyas I. 1999. Parameter Pengujian Vigor Benih. Grasindo. Jakarta. 185 hal.

Suryana, A. 2008. Ledakan Jumlah Penduduk Indonesia Mencemaskan. http://www.inaplas.org/index.php?option=com_content&view=article&id=131:ledakan-jumlah-penduduk-indonesia-mencemaskan&catid=8:ekonomi-macro&Itemid=10. [25 Agustus 2008].

Sutariati, G.A.K.1998. Pengaruh Perlakuan Invigorasi pada Tingkat Vigor Benih yang Berbeda terhadap Perubahan Fisiologis dan Biokomiawi Benih Cabai. Tesis. FAPERTA. IPB. Bogor. 68 hal.

Taylor, A.G., P.S. Allen, M.A. Bennett, K.J. Bradford, J. S. Burris, and M.K. Misra. 1998. Seed Enhancements. Seed Sci. Res. 8: 245-256

Watkins, J. T., and D. J. Cantliffe, D. J. Hubber and T. A. Nell. 1985. Gibberellic acid stimulated degradation of endosperma in pepper. Journal America Society and Horticulture Science. 110(1): 61-65

Widajati, E. 1999. Deteksi Vigor Biokimiawi dan Vigor Fisiologi untuk Fenomena Pemulihan Vigor pada Tingkat Awal Deteriorasi dan Devigorasi Benih Kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) melalui Proses Invigorasi. Disertasi. Program Pasca Sarjana. IPB. Bogor. 100 hal.

Widajati, E., S. Salma, M. Kosmiatin, E. Pratiwi, dan S. Rahayu. 2008. Potensi *Methylobacterium* spp. asal Kalimantan Timur untuk meningkatkan mutu benih dan kultur *in vitro* tanaman serta analisis keragamannya. LPPM IPB. Bogor.