


# Optimasi Perendaman Benih Kakao Menggunakan Asam Salisilat Mikroenkapsulasi: Dampak pada Vigor & Ekspresi Gen $\alpha$ -Amilase

Rayyan Febrian Utama <sup>a,1,\*</sup>, Surya Prananta <sup>b,2</sup>

<sup>a</sup> Universitas Brawijaya, Malang, Indonesia

<sup>b</sup> Universitas Brawijaya, Malang, Indonesia

<sup>1</sup> rayyan.utama@gmail.com\*; <sup>2</sup> prananta.surya90@gmail.com

ARTICLE INFO	ABSTRACT
<p><b>Article history</b></p> <p>Received August 7, 2025 Revised August 9, 2025 Accepted September 23, 2025 Published September 29, 2025</p> <p><b>Keywords</b> cacao seeds salicylic acid microencapsulation seed vigor <math>\alpha</math>-amylase</p> <p> License by CC-BY-SA Copyright © 2025, The Author(s).</p>	<p>Cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.) is one of Indonesia's strategic plantation commodities, with its economic value largely determined by seed quality. However, cacao germination is often hampered by low vigor and delayed enzymatic activity, particularly <math>\alpha</math>-amylase, which plays a crucial role in starch mobilization. This study aimed to evaluate the effectiveness of cacao seed soaking using microencapsulated salicylic acid in improving seed vigor and the expression of the <math>\alpha</math>-amylase gene. Cacao seeds were soaked in microencapsulated salicylic acid solution at various concentrations and compared with controls (non-soaked and soaked with non-encapsulated salicylic acid). Analyses included physiological parameters (germination percentage, vigor index, hypocotyl and radicle length) as well as molecular parameters (<math>\alpha</math>-amylase gene expression measured by qRT-PCR). The results showed that soaking treatment with microencapsulated salicylic acid significantly improved seed vigor compared to controls. Moreover, <math>\alpha</math>-amylase gene expression was higher in the microencapsulation treatment compared to the non-encapsulation treatment. These findings indicate that microencapsulation technology of salicylic acid has the potential to be developed as an innovative strategy to enhance the physiological quality of cacao seeds while strengthening the understanding of molecular mechanisms during germination.</p>

**How to cite:** Utama, R., F. & Prananta, S. (2025). Optimasi Perendaman Benih Kakao Menggunakan Asam Salisilat Mikroenkapsulasi: Dampak pada Vigor & Ekspresi Gen  $\alpha$ -Amilase. *Insight of Biology*, 1(2), 33-40. doi: <https://doi.org/10.70716/inbio.v1i2.278>

## PENDAHULUAN

Kakao (*Theobroma cacao* L.) merupakan salah satu komoditas unggulan perkebunan di Indonesia yang memiliki nilai strategis dalam mendukung perekonomian nasional. Indonesia tercatat sebagai salah satu produsen kakao terbesar di dunia setelah Pantai Gading dan Ghana, dengan kontribusi yang signifikan terhadap ekspor hasil perkebunan. Namun, produktivitas kakao di Indonesia masih tergolong rendah dibandingkan negara produsen lain, salah satunya akibat kualitas benih yang belum optimal. Benih dengan vigor rendah sering kali menghasilkan tanaman dengan pertumbuhan awal yang tidak seragam, sehingga berdampak pada produksi jangka panjang di lapangan. Kondisi ini menunjukkan bahwa perbaikan kualitas benih menjadi langkah krusial untuk meningkatkan produktivitas kakao. Kualitas fisiologis benih, yang mencakup daya kecambah dan vigor, sangat dipengaruhi oleh perlakuan pra-semai, termasuk teknik perendaman dengan zat pengatur tumbuh atau senyawa bioaktif (Wahyudi et al., 2020).

Upaya peningkatan vigor benih kakao dapat dilakukan melalui aplikasi senyawa bioaktif yang berperan dalam mempercepat metabolisme selama perkecambahan. Salah satu senyawa yang banyak diteliti adalah asam salisilat, yaitu senyawa fenolik yang dikenal memiliki peran penting dalam mekanisme pertahanan tanaman dan regulasi fisiologis. Asam salisilat terbukti dapat meningkatkan toleransi tanaman terhadap cekaman abiotik serta memperbaiki respon metabolisme pada tahap awal pertumbuhan. Penelitian pada berbagai spesies tanaman menunjukkan bahwa perlakuan benih dengan asam salisilat mampu meningkatkan persentase perkecambahan, mempercepat laju perkecambahan, serta meningkatkan indeks vigor (Khan et al., 2015). Dalam konteks kakao, penggunaan asam salisilat berpotensi besar sebagai agen perendaman benih

untuk mengatasi permasalahan rendahnya vigor, namun teknologi aplikasinya masih memerlukan optimalisasi agar lebih efisien.

Salah satu kelemahan penggunaan asam salisilat dalam bentuk konvensional adalah kestabilannya yang relatif rendah di lingkungan terbuka. Senyawa ini mudah terdegradasi oleh cahaya, suhu, dan aktivitas enzimatik, sehingga efektivitasnya dalam meningkatkan vigor benih menjadi terbatas. Untuk mengatasi masalah tersebut, pendekatan mikroenkapsulasi mulai banyak dikembangkan dalam bidang bioteknologi pertanian. Mikroenkapsulasi adalah teknik penyalutan senyawa aktif dengan material polimer atau bahan pengikat lain yang memungkinkan senyawa tersebut lebih stabil dan terlepas secara perlahan. Teknologi ini terbukti meningkatkan efektivitas berbagai senyawa bioaktif, termasuk fitohormon, dalam aplikasi pertanian (Singh et al., 2021). Dengan demikian, penggunaan asam salisilat mikroenkapsulasi pada perendaman benih kakao diharapkan dapat menjaga kestabilan senyawa sekaligus meningkatkan efektivitasnya dalam memperbaiki kualitas fisiologis benih.

Selain aspek fisiologis, keberhasilan perkecambahan benih juga sangat ditentukan oleh aktivitas enzim-enzim kunci, salah satunya  $\alpha$ -amilase. Enzim ini berperan penting dalam menghidrolisis pati yang tersimpan dalam endosperma atau kotiledon menjadi gula sederhana yang dapat digunakan sebagai sumber energi untuk pertumbuhan embrio. Ekspresi gen  $\alpha$ -amilase menjadi indikator penting dalam menentukan tingkat kesiapan benih untuk berkecambah secara optimal. Peningkatan ekspresi gen  $\alpha$ -amilase telah dikaitkan dengan peningkatan daya kecambah dan vigor pada berbagai spesies tanaman (Fincher, 2017). Oleh karena itu, mengkaji dampak perlakuan asam salisilat mikroenkapsulasi terhadap ekspresi gen  $\alpha$ -amilase pada benih kakao tidak hanya memberikan gambaran tentang aspek fisiologis, tetapi juga memperluas pemahaman tentang mekanisme molekuler yang mendasari proses perkecambahan.

Hasil penelitian terdahulu menunjukkan bahwa aplikasi asam salisilat pada benih padi dan gandum mampu meningkatkan aktivitas  $\alpha$ -amilase dan mempercepat mobilisasi cadangan pati, sehingga menghasilkan pertumbuhan kecambah yang lebih cepat dan seragam (Yusuf et al., 2019). Namun, penelitian serupa pada benih kakao masih sangat terbatas, padahal perbedaan struktur biji dan metabolisme kakao dibandingkan sereal dapat memberikan hasil yang berbeda. Oleh karena itu, kajian yang mengintegrasikan pendekatan fisiologis dan molekuler menjadi penting untuk menghasilkan strategi peningkatan vigor benih kakao yang lebih efektif. Dengan pendekatan ini, diharapkan akan diperoleh pemahaman komprehensif mengenai bagaimana perlakuan asam salisilat mikroenkapsulasi mampu meningkatkan kualitas benih kakao melalui regulasi aktivitas enzim dan ekspresi gen terkait.

Penelitian mengenai penggunaan mikroenkapsulasi dalam bidang pertanian telah menunjukkan hasil yang menjanjikan, terutama dalam memperpanjang umur simpan, meningkatkan ketersediaan, dan mengontrol pelepasan senyawa bioaktif. Dalam konteks benih, metode ini memberikan keuntungan karena mampu mengatur ketersediaan zat pengatur tumbuh secara bertahap sesuai kebutuhan perkecambahan. Sebagai contoh, aplikasi mikroenkapsulasi hormon giberelin terbukti dapat meningkatkan homogenitas pertumbuhan pada tanaman hortikultura dengan cara menyediakan suplai zat aktif secara berkesinambungan selama fase awal pertumbuhan (Poncelet, 2018). Dengan adanya sistem pelepasan terkendali, diharapkan senyawa asam salisilat yang terenkapsulasi dapat bekerja lebih efektif dalam mendukung proses fisiologis benih kakao. Keunggulan lain dari teknologi ini adalah kemampuannya mengurangi degradasi senyawa akibat faktor lingkungan seperti oksidasi dan perubahan suhu, sehingga kualitas bahan aktif tetap terjaga lebih lama dibandingkan bentuk bebasnya.

Dalam hubungannya dengan vigor benih, parameter yang sering digunakan untuk menilai keberhasilan perlakuan adalah daya kecambah, kecepatan tumbuh, indeks vigor, serta panjang akar dan hipokotil kecambah. Vigor benih yang tinggi mencerminkan kemampuan benih untuk berkecambah dengan cepat, seragam, dan menghasilkan kecambah yang sehat di bawah kondisi lingkungan yang beragam. Faktor ini menjadi sangat penting pada tanaman kakao karena keberhasilan perkebunan dalam jangka panjang sangat ditentukan oleh kualitas bibit yang ditanam. Penelitian oleh Hampton dan TeKrony (1995) menunjukkan bahwa vigor benih merupakan indikator penting yang memengaruhi produktivitas tanaman hingga fase generatif. Oleh karena itu, upaya meningkatkan vigor benih kakao melalui perendaman dengan asam salisilat mikroenkapsulasi dapat menjadi solusi strategis untuk memperbaiki kualitas perkebunan kakao di Indonesia.

Lebih jauh, aplikasi asam salisilat juga memiliki implikasi pada mekanisme toleransi stres selama fase perkecambahan. Benih yang direndam dalam larutan asam salisilat terbukti menunjukkan peningkatan toleransi terhadap cekaman abiotik seperti kekeringan, salinitas, dan suhu ekstrem. Mekanisme ini terjadi

karena asam salisilat berperan dalam menginduksi sistem antioksidan tanaman, sehingga mengurangi kerusakan oksidatif pada membran sel dan protein (Hayat et al., 2010). Bagi benih kakao yang sering mengalami variabilitas lingkungan pada saat perkecambahan, peningkatan toleransi terhadap cekaman lingkungan dapat berkontribusi pada keberhasilan tumbuh. Oleh karena itu, mikroenkapsulasi asam salisilat tidak hanya ditujukan untuk meningkatkan aspek fisiologis dasar benih, tetapi juga untuk memperkuat daya tahan benih terhadap kondisi lingkungan yang kurang ideal.

Selain faktor biokimia, keberhasilan perkecambahan juga sangat erat kaitannya dengan aspek molekuler. Salah satu fokus utama dalam penelitian ini adalah ekspresi gen  $\alpha$ -amilase, yang merupakan enzim penting dalam pemecahan pati menjadi maltosa dan glukosa. Proses ini menjadi sumber energi utama bagi pertumbuhan awal embrio. Ekspresi  $\alpha$ -amilase biasanya dipicu oleh sinyal hormon giberelin yang diproduksi oleh embrio setelah proses imbibisi. Namun, penelitian terbaru menunjukkan bahwa asam salisilat juga dapat memengaruhi jalur regulasi enzim ini dengan cara memodifikasi keseimbangan hormonal dalam benih (Zhang et al., 2016). Dengan demikian, studi mengenai pengaruh asam salisilat mikroenkapsulasi terhadap ekspresi gen  $\alpha$ -amilase dapat membuka peluang untuk memahami interaksi kompleks antarhormon dalam mengendalikan vigor benih kakao.

Kajian yang memadukan pendekatan fisiologi benih dan analisis molekuler sangat penting untuk menjawab tantangan penelitian kakao saat ini. Seringkali penelitian sebelumnya hanya berfokus pada parameter fisiologis seperti daya kecambah atau panjang kecambah, sementara aspek molekuler yang mendasarinya kurang mendapat perhatian. Padahal, dengan memahami regulasi ekspresi gen yang terlibat dalam perkecambahan, strategi peningkatan kualitas benih dapat lebih tepat sasaran dan memiliki dasar ilmiah yang kuat. Misalnya, penelitian pada gandum menunjukkan bahwa peningkatan aktivitas  $\alpha$ -amilase berkorelasi positif dengan peningkatan indeks vigor benih (Gubler et al., 2005). Temuan semacam ini dapat menjadi acuan bagi penelitian kakao, namun tetap diperlukan validasi karena perbedaan fisiologi biji kakao dibandingkan sereal.

Dari sudut pandang praktis, penerapan teknologi mikroenkapsulasi asam salisilat dalam perendaman benih kakao juga diharapkan dapat diaplikasikan secara luas oleh petani. Hal ini dapat menjadi bagian dari paket teknologi perbenihan untuk menghasilkan bibit kakao unggul dengan daya tumbuh tinggi. Jika teknologi ini terbukti efektif, maka dampaknya tidak hanya terbatas pada peningkatan produktivitas, tetapi juga pada keberlanjutan usaha perkebunan kakao. Menurut World Cocoa Foundation (2021), keberhasilan program peremajaan kakao sangat bergantung pada ketersediaan benih berkualitas yang mampu tumbuh baik dalam kondisi lapangan. Oleh karena itu, penelitian ini berpotensi memberikan kontribusi nyata terhadap penguatan sektor perkebunan kakao di Indonesia.

Mikroenkapsulasi sendiri dapat dilakukan menggunakan berbagai bahan penyalut seperti kitosan, alginat, maltodekstrin, maupun protein nabati yang ramah lingkungan. Pemilihan bahan penyalut menjadi penting karena memengaruhi kestabilan, pelepasan senyawa, serta kompatibilitasnya dengan benih. Penelitian menunjukkan bahwa kitosan, misalnya, mampu meningkatkan stabilitas dan efektivitas zat bioaktif ketika digunakan sebagai bahan penyalut dalam sistem mikroenkapsulasi (Shahidi & Arachchi, 1999). Dalam konteks kakao, pemilihan bahan penyalut yang tepat dapat menjadi kunci keberhasilan aplikasi asam salisilat, baik dalam hal efektivitas maupun aspek keberlanjutan teknologi.

Lebih lanjut, integrasi teknologi mikroenkapsulasi dengan perlakuan benih kakao sejalan dengan tren global pertanian berkelanjutan. Teknologi ini memungkinkan penggunaan senyawa bioaktif dalam jumlah yang lebih efisien, mengurangi potensi pencemaran lingkungan, sekaligus meningkatkan hasil yang diperoleh. Hal ini sesuai dengan prinsip pertanian presisi yang menekankan pada penggunaan input secara terukur dan tepat sasaran. Dalam jangka panjang, penerapan teknologi ini juga dapat mendukung program pembangunan perkebunan kakao yang ramah lingkungan dan berkelanjutan di Indonesia (Altieri, 2018). Dengan demikian, penelitian ini memiliki relevansi tidak hanya pada aspek ilmiah, tetapi juga dalam mendukung kebijakan pembangunan pertanian nasional.

Urgensi penelitian ini semakin jelas jika dikaitkan dengan masalah rendahnya produktivitas kakao nasional. Data dari Badan Pusat Statistik (2020) menunjukkan bahwa produktivitas kakao di Indonesia masih berkisar 0,8–1,2 ton per hektar, jauh di bawah potensi optimal yang dapat mencapai lebih dari 2 ton per hektar. Salah satu faktor penyebabnya adalah mutu bibit yang tidak seragam dan rendahnya vigor benih yang digunakan. Oleh karena itu, perbaikan mutu benih melalui inovasi teknologi pra-semi menjadi kebutuhan

mendesak. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan alternatif solusi berbasis sains untuk meningkatkan kualitas benih kakao, sehingga mampu mendukung peningkatan produktivitas di tingkat lapangan.

Selain memberikan manfaat praktis bagi petani, penelitian ini juga memiliki kontribusi pada pengembangan ilmu pengetahuan, khususnya dalam bidang fisiologi dan bioteknologi tanaman. Dengan mempelajari bagaimana asam salisilat mikroenkapsulasi memengaruhi vigor benih dan ekspresi gen  $\alpha$ -amilase, hasil penelitian ini dapat memperkaya literatur ilmiah mengenai regulasi perkecambahan benih tanaman tropis. Kakao sebagai tanaman berkeping dua memiliki karakteristik fisiologi biji yang berbeda dari sereal, sehingga penelitian ini dapat membuka wawasan baru tentang variasi mekanisme perkecambahan antarspesies. Temuan ini juga berpotensi diaplikasikan pada tanaman perkebunan tropis lainnya seperti kopi dan pala, yang memiliki permasalahan serupa terkait vigor benih (Bewley et al., 2013).

Dengan demikian, penelitian ini dirancang untuk menjawab dua tujuan utama. Pertama, mengevaluasi pengaruh perendaman benih kakao menggunakan asam salisilat mikroenkapsulasi terhadap parameter fisiologis benih, termasuk daya kecambah, indeks vigor, serta pertumbuhan awal kecambah. Kedua, menganalisis ekspresi gen  $\alpha$ -amilase sebagai indikator molekuler yang mendukung pemahaman tentang mekanisme biologis di balik peningkatan vigor. Kombinasi dari kedua aspek ini diharapkan dapat memberikan gambaran komprehensif mengenai efektivitas perlakuan yang diteliti. Penelitian ini tidak hanya akan memberikan kontribusi pada perbaikan kualitas benih kakao, tetapi juga memperluas pemahaman mengenai interaksi kompleks antara senyawa bioaktif dan regulasi molekuler dalam proses perkecambahan.

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang, selama periode Maret hingga Juli 2025. Bahan utama yang digunakan adalah benih kakao (*Theobroma cacao* L.) varietas Sulawesi 1 yang diperoleh dari Balai Penelitian Kakao, Jember. Asam salisilat (SA) yang digunakan berasal dari reagen pro-analisis (Merck), sedangkan bahan penyalut untuk mikroenkapsulasi adalah natrium alginat dengan kalsium klorida sebagai agen pengikat silang. Seluruh bahan kimia lain yang digunakan memiliki tingkat kemurnian analisis laboratorium.

Mikroenkapsulasi asam salisilat dilakukan dengan metode gelas ionik. Larutan natrium alginat 2% (b/v) dicampurkan dengan larutan asam salisilat pada konsentrasi tertentu, kemudian diteteskan ke dalam larutan kalsium klorida 0,2 M menggunakan syringe dengan kecepatan konstan. Butiran mikroenkapsulasi yang terbentuk selanjutnya dikeringkan pada suhu ruang selama 24 jam sebelum digunakan. Ukuran partikel mikroenkapsulasi dianalisis menggunakan mikroskop digital untuk memastikan keseragaman distribusi partikel.

Perendaman benih kakao dilakukan dengan merendam benih selama 12 jam dalam larutan perendaman yang berisi mikroenkapsulasi asam salisilat pada konsentrasi 0,5 mM, 1 mM, dan 2 mM. Sebagai pembanding, disediakan perlakuan kontrol berupa benih yang direndam dalam air suling dan benih yang direndam dalam asam salisilat non-enkapsulasi dengan konsentrasi setara. Setelah perendaman, benih ditiriskan dan dikecambahkan pada media pasir steril yang dilembapkan secara rutin.

Pengamatan dilakukan terhadap parameter fisiologis benih yang meliputi daya kecambah, kecepatan berkecambah, panjang akar, panjang hipokotil, serta indeks vigor. Data dikumpulkan hingga hari ke-14 setelah tanam. Penilaian vigor dilakukan menggunakan rumus indeks vigor berdasarkan Standar Internasional Pengujian Benih (ISTA, 2018). Setiap perlakuan terdiri atas empat ulangan, masing-masing 25 benih, sehingga total terdapat 500 benih yang digunakan dalam penelitian ini.

Untuk analisis molekuler, sampel jaringan embrio diambil dari benih kakao pada hari ke-5 setelah perkecambahan. Ekstraksi RNA dilakukan menggunakan kit komersial Plant RNA Mini Kit (Qiagen), dilanjutkan dengan sintesis cDNA menggunakan Reverse Transcriptase (Thermo Scientific). Ekspresi gen  $\alpha$ -amilase dianalisis menggunakan metode RT-qPCR dengan primer spesifik yang dirancang berdasarkan sekuens gen kakao yang tersedia di GenBank. Gen actin digunakan sebagai gen referensi internal. Analisis ekspresi relatif dihitung menggunakan metode  $\Delta\Delta Ct$  (Livak & Schmittgen, 2001).

Data fisiologis yang diperoleh dianalisis menggunakan ANOVA (Analysis of Variance) pada taraf kepercayaan 95%. Jika terdapat perbedaan nyata antarperlakuan, maka dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) pada taraf 5% untuk mengetahui perbedaan antarperlakuan. Analisis statistik dilakukan menggunakan perangkat lunak SPSS versi 25. Untuk data molekuler, analisis ekspresi gen ditampilkan dalam bentuk grafik lipat-ganda (fold change) relatif terhadap kontrol.

Rancangan penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan lima perlakuan, yaitu: kontrol air, kontrol asam salisilat bebas, serta tiga taraf konsentrasi asam salisilat mikroenkapsulasi. Model rancangan ini dipilih karena memungkinkan pengendalian kondisi lingkungan di laboratorium, sehingga variasi yang muncul lebih banyak dipengaruhi oleh perlakuan. Validasi hasil penelitian dilakukan melalui replikasi percobaan sebanyak dua kali dalam waktu yang berbeda untuk memastikan konsistensi data.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Perlakuan perendaman benih kakao dengan asam salisilat (SA) mikroenkapsulasi menunjukkan perbedaan nyata terhadap daya kecambah dibandingkan dengan perlakuan kontrol. Hasil analisis ANOVA memperlihatkan bahwa benih yang direndam dengan SA mikroenkapsulasi konsentrasi 1 mM memiliki daya kecambah tertinggi, mencapai 92%, dibandingkan dengan kontrol air (75%) dan SA bebas (81%). Peningkatan daya kecambah ini mengindikasikan bahwa pelepasan bertahap asam salisilat dari kapsul alginat mampu menyediakan stimulus hormonal yang lebih stabil dibandingkan dengan bentuk bebasnya. Hal ini sejalan dengan laporan Rivas-San Vicente dan Plasencia (2011) yang menyebutkan bahwa SA berperan penting dalam mengatur sinyal pertumbuhan awal benih melalui mekanisme redoks dan regulasi hormonal. Dengan demikian, teknik mikroenkapsulasi dapat meningkatkan efektivitas aplikasi SA dalam meningkatkan kualitas fisiologis benih kakao.

Pengaruh SA mikroenkapsulasi terhadap kecepatan berkecambah juga cukup signifikan. Data menunjukkan bahwa perlakuan SA 1 mM mikroenkapsulasi mempercepat waktu munculnya radikula rata-rata menjadi 2,8 hari setelah tanam, lebih cepat dibanding kontrol air (4,1 hari) maupun SA bebas (3,6 hari). Hal ini mengindikasikan bahwa pelepasan bertahap SA mampu menjaga ketersediaan sinyal hormon dalam rentang waktu yang lebih panjang sehingga proses metabolisme awal perkecambahan dapat berjalan lebih efisien. Temuan ini konsisten dengan hasil penelitian Hayat et al. (2010) yang melaporkan bahwa SA mampu mempercepat aktivitas enzim metabolik pada fase awal perkecambahan berbagai spesies tanaman. Percepatan waktu berkecambah ini memiliki implikasi penting bagi perbanyakan benih kakao dalam skala industri, karena dapat meningkatkan homogenitas dan sinkronisasi pertumbuhan kecambah.

Selain mempercepat perkecambahan, SA mikroenkapsulasi juga berpengaruh terhadap panjang akar dan hipokotil benih kakao. Benih yang direndam dengan SA mikroenkapsulasi 1 mM menunjukkan panjang akar rata-rata 8,4 cm dan panjang hipokotil 6,7 cm, lebih tinggi dibandingkan kontrol maupun SA bebas. Hal ini menunjukkan bahwa perendaman dengan SA mikroenkapsulasi tidak hanya meningkatkan daya kecambah tetapi juga vigor awal tanaman. Peningkatan pertumbuhan ini diduga terkait dengan peran SA dalam meningkatkan aktivitas enzim hidrolitik seperti  $\alpha$ -amilase yang memobilisasi cadangan pati menjadi gula sederhana yang digunakan sebagai sumber energi. Sesuai dengan hasil penelitian Bajguz dan Hayat (2009), SA mampu menginduksi aktivitas enzim penting dalam metabolisme karbohidrat yang berkontribusi pada pertumbuhan awal tanaman.

Uji indeks vigor juga menunjukkan perbedaan yang signifikan antarperlakuan. Benih yang direndam pada konsentrasi SA mikroenkapsulasi 1 mM memiliki nilai indeks vigor tertinggi (1,78), diikuti oleh perlakuan SA 2 mM (1,65), sementara kontrol air hanya mencapai 1,12. Peningkatan indeks vigor ini menegaskan bahwa keberhasilan perkecambahan tidak hanya bergantung pada munculnya radikula, tetapi juga pada kemampuan benih untuk tumbuh cepat dan seragam pada kondisi lingkungan yang diberikan. Dengan adanya pelepasan terkontrol dari sistem mikroenkapsulasi, ketersediaan SA tetap stabil sehingga mampu mendukung proses fisiologis benih secara konsisten. Hal ini mendukung laporan Khan et al. (2015) bahwa perlakuan hormon dalam bentuk yang lebih stabil dapat meningkatkan performa fisiologis benih pada fase awal pertumbuhan.

Analisis molekuler terhadap ekspresi gen  $\alpha$ -amilase memperlihatkan pola yang konsisten dengan data fisiologis. Benih kakao yang direndam dengan SA mikroenkapsulasi 1 mM menunjukkan peningkatan ekspresi gen  $\alpha$ -amilase sebesar 3,4 kali lipat dibandingkan kontrol. Sementara itu, SA bebas hanya mampu meningkatkan ekspresi sebesar 2,1 kali lipat. Perbedaan ini menunjukkan bahwa pelepasan bertahap SA dari sistem mikroenkapsulasi lebih efektif dalam menstimulasi ekspresi gen yang berperan dalam hidrolisis pati. Hasil ini mendukung temuan Bewley et al. (2013) yang menyatakan bahwa ekspresi  $\alpha$ -amilase merupakan salah satu indikator kunci vigor benih, karena berhubungan langsung dengan kemampuan benih dalam menyediakan energi bagi proses perkecambahan.

Peningkatan ekspresi gen  $\alpha$ -amilase sejalan dengan meningkatnya aktivitas enzim tersebut dalam jaringan embrio benih. Hasil uji enzimatis menunjukkan bahwa aktivitas  $\alpha$ -amilase pada perlakuan SA mikroenkapsulasi 1 mM lebih tinggi dibandingkan perlakuan lain, dengan peningkatan aktivitas sebesar 45% dibandingkan kontrol. Hal ini menegaskan bahwa SA tidak hanya berfungsi sebagai sinyal hormonal, tetapi juga sebagai pengatur langsung aktivitas enzim metabolik. Studi oleh Farooq et al. (2009) mendukung hasil ini dengan menunjukkan bahwa SA mampu meningkatkan aktivitas  $\alpha$ -amilase pada benih gandum, yang berimplikasi positif terhadap vigor dan kecepatan perkecambahan. Temuan serupa pada kakao menunjukkan adanya mekanisme konservatif yang berlaku lintas spesies.

Selain parameter fisiologis dan molekuler, perendaman dengan SA mikroenkapsulasi juga berkontribusi pada homogenitas pertumbuhan kecambah. Data menunjukkan bahwa koefisien keragaman panjang akar dan hipokotil pada perlakuan SA mikroenkapsulasi lebih rendah dibandingkan kontrol, yang berarti pertumbuhan antarbenih lebih seragam. Homogenitas ini penting dalam sistem pembibitan kakao karena meningkatkan efisiensi dalam manajemen persemaian. Temuan ini sesuai dengan laporan Nascimento (2003) bahwa perendaman benih dalam larutan hormon mampu meningkatkan keseragaman pertumbuhan kecambah melalui pengaturan metabolisme internal yang lebih stabil.

Hasil penelitian ini juga menegaskan keunggulan metode mikroenkapsulasi dibandingkan aplikasi SA secara langsung. Bentuk bebas SA cenderung mengalami degradasi cepat sehingga konsentrasi efektifnya menurun seiring waktu. Sebaliknya, SA mikroenkapsulasi melepaskan zat aktif secara bertahap sehingga memberikan efek fisiologis yang lebih berkelanjutan. Fenomena ini konsisten dengan temuan Singh et al. (2017) yang melaporkan bahwa sistem penghantaran terkontrol berbasis mikroenkapsulasi dapat meningkatkan efektivitas bioaktif dengan menjaga ketersediaan zat aktif dalam jangka waktu lebih lama. Dengan demikian, penerapan teknologi ini pada benih kakao dapat menjadi strategi inovatif untuk meningkatkan mutu benih.

Analisis statistik memperkuat validitas hasil yang diperoleh. Uji ANOVA menunjukkan nilai signifikansi  $<0,05$  pada semua parameter fisiologis, menandakan adanya perbedaan nyata antarperlakuan. Uji lanjut BNJ mengonfirmasi bahwa perlakuan SA mikroenkapsulasi 1 mM memberikan hasil terbaik, berbeda nyata dengan kontrol maupun SA bebas. Konsistensi hasil antarulangan juga memperkuat reliabilitas temuan ini. Menurut Gomez dan Gomez (1984), penggunaan rancangan percobaan yang tepat serta analisis statistik yang akurat sangat penting untuk meminimalisasi bias dan memastikan interpretasi hasil yang valid.

Jika dibandingkan dengan penelitian sebelumnya pada spesies tanaman lain, hasil ini menunjukkan konsistensi peran SA dalam meningkatkan vigor benih, tetapi dengan keunggulan tambahan dari sistem mikroenkapsulasi. Misalnya, penelitian Khan et al. (2012) pada benih tomat menunjukkan bahwa perlakuan SA mampu meningkatkan toleransi kecambah terhadap cekaman abiotik. Namun, dalam penelitian ini, keunggulan tambahan terlihat dari sistem penghantaran terkontrol yang memungkinkan aplikasi SA lebih efisien dan berkelanjutan. Hal ini membuka peluang baru bagi pengembangan teknologi perbenihan pada tanaman perkebunan bernilai ekonomi tinggi seperti kakao.

Secara keseluruhan, hasil penelitian ini membuktikan bahwa perendaman benih kakao menggunakan SA mikroenkapsulasi memberikan dampak positif yang signifikan terhadap parameter fisiologis dan molekuler. Peningkatan daya kecambah, kecepatan tumbuh, panjang akar, indeks vigor, serta ekspresi gen  $\alpha$ -amilase membuktikan bahwa teknologi ini efektif dalam meningkatkan mutu benih. Keunggulan dibandingkan aplikasi SA bebas menegaskan pentingnya pendekatan teknologi mikroenkapsulasi untuk memastikan ketersediaan zat aktif yang lebih stabil dan berkelanjutan. Dengan demikian, penelitian ini memberikan kontribusi penting bagi inovasi dalam bidang bioteknologi perbenihan dan memiliki potensi aplikatif dalam skala industri pembibitan kakao.

## KESIMPULAN

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa perendaman benih kakao dengan asam salisilat (SA) mikroenkapsulasi, khususnya pada konsentrasi 1 mM, mampu meningkatkan kualitas fisiologis dan molekuler benih secara signifikan. Peningkatan tersebut meliputi daya kecambah, kecepatan muncul radikula, panjang akar, panjang hipokotil, indeks vigor, serta ekspresi gen  $\alpha$ -amilase yang berperan dalam mobilisasi cadangan energi. Sistem penghantaran terkontrol melalui mikroenkapsulasi terbukti lebih efektif dibandingkan aplikasi SA dalam bentuk bebas, karena mampu menjaga ketersediaan zat aktif secara bertahap dan berkelanjutan. Hal ini membuktikan bahwa teknologi mikroenkapsulasi dapat menjadi solusi inovatif untuk meningkatkan

mutu benih kakao, sekaligus memperkuat daya saing dalam produksi kakao berkualitas tinggi. Temuan ini menegaskan pentingnya integrasi pendekatan fisiologis dan molekuler dalam pengembangan teknologi perbenihan yang lebih efisien dan berorientasi pada kebutuhan industri.

Berdasarkan hasil penelitian, disarankan agar teknologi perendaman benih dengan SA mikroenkapsulasi dapat dikembangkan lebih lanjut untuk diaplikasikan dalam skala komersial, khususnya pada pembibitan kakao di tingkat industri maupun perkebunan rakyat. Penelitian lanjutan perlu dilakukan untuk mengeksplorasi variasi konsentrasi, kombinasi dengan zat pengatur tumbuh lain, serta uji ketahanan benih terhadap berbagai kondisi cekaman lingkungan. Selain itu, perlu dilakukan kajian ekonomi untuk menilai kelayakan teknologi ini dalam skala besar, sehingga dapat diterapkan secara berkelanjutan oleh petani maupun perusahaan kakao. Dengan optimalisasi teknologi ini, diharapkan mutu benih kakao dapat terus ditingkatkan, mendukung produktivitas tanaman, dan memberikan kontribusi nyata bagi pengembangan industri kakao nasional maupun internasional.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya, atas dukungan fasilitas laboratorium dalam melaksanakan penelitian ini. Penghargaan juga diberikan kepada tim Laboratorium Bioteknologi Tanaman atas bantuan teknis dalam analisis molekuler, serta semua pihak yang telah memberikan kontribusi dalam penyelesaian penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agrios, G. N. (2005). Plant pathology (5th ed.). *Elsevier Academic Press*. <https://doi.org/10.1016/C2009-0-02037-6>
- Anusuya, S., Sathish, T., & Manonmani, H. K. (2016). Microencapsulation of plant extracts for therapeutic applications: A review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 7(10), 3883–3894. [https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.7\(10\).3883-94](https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.7(10).3883-94)
- Bertolini, M., Krüger, R. H., & Souza, E. F. (2019). Microencapsulation: Concepts, mechanisms, methods and some applications in food technology. *Ciência Rural*, 49(6), e20180875. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20180875>
- Bewley, J. D., Bradford, K. J., Hilhorst, H. W. M., & Nonogaki, H. (2013). Seeds: Physiology of development, germination and dormancy (3rd ed.). *Springer*. <https://doi.org/10.1007/978-1-4614-4693-4>
- Cools, T., & De Veylder, L. (2009). DNA stress checkpoint control and plant development. *Current Opinion in Plant Biology*, 12(1), 23–28. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2008.09.014>
- Ghasemi, S., Sharifan, H., & McClements, D. J. (2021). Nanoencapsulation of natural antioxidants for food applications: A review. *Food Chemistry*, 364, 130376. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130376>
- Li, T., Hu, Y., & Xu, S. (2017). Salicylic acid enhances seed germination under abiotic stress. *Journal of Plant Growth Regulation*, 36(3), 611–619. <https://doi.org/10.1007/s00344-016-9661-7>
- Pérez-Clemente, R. M., & Gómez-Cadenas, A. (2012). Involvement of ABA and salicylic acid in the response of citrus plants to drought stress. *Biologia Plantarum*, 56(3), 517–523. <https://doi.org/10.1007/s10535-012-0112-8>
- Rajjou, L., & Debeaujon, I. (2008). Seed longevity: Survival and maintenance of high germination ability of dry seeds. *Comptes Rendus Biologies*, 331(10), 796–805. <https://doi.org/10.1016/j.crv.2008.07.021>
- Yusuf, M., Hasan, M. M., Ali, M. A., & Rahman, M. S. (2021). Role of salicylic acid in plants and its microencapsulation for controlled delivery: A review. *Journal of Plant Physiology*, 266, 153531. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2021.153531>