

Perubahan kondisi fisik, fisiologis, dan biokimia benih *Michelia champaca* pada berbagai tingkat kemasakan

Changes in the physical, physiological, and biochemical conditions of *Michelia champaca* seeds at various levels of maturity

AGUS ASTHO PRAMONO*, EVAYUSVITA RUSTAM

Balai Penelitian dan Pengembangan Teknologi Perbenihan Tanaman Hutan . Jl. Pakuan Cihuleut PO Box 105, Bogor 16001, Jawa Barat. Tel./Fax.: +62-251-8327768, *email: agusastho@gmail.com

Manuskrip diterima: 21 Agustus 2017. Revisi disetujui: 23 September 2017.

Abstrak. Pramono AA, Rustam E. 2017. Perubahan kondisi fisik, fisiologis, dan biokimia benih *Michelia champaca* pada berbagai tingkat kemasakan. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon 3: 368-375*. Bambang lanang atau cempaka (*Michelia champaca*) merupakan salah satu jenis pohon unggulan sebagai penghasil kayu pertukangan di daerah Sumatera. Benih *M. champaca* sering dilaporkan sebagai benih orthodox, intermediet atau rekalsitran. Informasi tentang variasi mutu benih yang berkaitan dengan tahap perkembangan buah bambang lanang yang dicirikan dengan perubahan kandungan biokimia, mutu fisik dan fisiologis benih sangat diperlukan untuk mengetahui karakter benih, dan waktu panen buah yang tepat untuk menghasilkan kualitas benih terbaik. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari perubahan ciri fisik, fisiologis dan biokimia benih selama tahap perkembangan buah bambang lanang. Benih diekstraksi dari buah yang berasal dari tegakan di Bogor (Jawa Barat), dan Lahat (Sumatera Selatan) dengan berbagai tahap perkembangannya. Pengamatan terhadap panjang, lebar, berat, kadar air, kandungan protein, lemak, karbohidrat, dan daya berkecambah benih dilakukan terhadap empat kelompok benih. Pengelompokan didasarkan pada tahap perkembangan buah yang dicirikan oleh warna benih yaitu: (i) putih, (ii) putih kecoklatan, (iii) coklat kehitaman, dan (iv) hitam. Analisis data dilakukan dengan menggunakan ANOVA, *Principal Component Analysis*, dan korelasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa benih mencapai perkembangan fisik maksimal ketika berwarna hitam. Sejalan dengan tahap perkembangan benih, kadar air dan kandungan karbohidrat menurun, sedangkan kandungan lemak dan protein meningkat. Daya berkecambah berkorelasi dengan kadar air, kandungan protein, dan kandungan lemak. Benih telah mencapai masak fisiologis ketika benih telah berwarna hitam. Benih yang telah masak memiliki kadar air 16,7-18,8%, kandungan karbohidrat 5,1-7,0%, lemak 19,2-20,6% dan protein 9-10%, dengan daya berkecambah benih berkisar antara 28% dan 69,7%. Karakteristik biokimiawi benih dan perubahannya selama perkembangan benih mengindikasikan bahwa benih bambang lanang termasuk benih rekalsitran.

Kata kunci: Biokimia benih, bambang lanang, masak fisiologis, rekalsitran, viabilitas benih

Abstrak. Pramono AA, Rustam E. 2017. Changes in the physical, physiological, and biochemical conditions of *Michelia champaca* seeds at various levels of maturity. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon 3: 368-375*. Bambang lanang or champak (*Michelia champaca*) is one of wood carpentry tree species in Sumatera. *M. champaca* seeds are often reported as orthodox, intermediate or recalcitrant seeds. Information on seed quality variations related to the developmental stages of fruit characterized by changes in biochemical content, physical and physiological quality of seeds is necessary to determine the characteristics of seeds and the timing of fruits harvesting that produces the best quality seeds. The research aimed to study changes in physical, physiological and biochemical characteristics of seed during the seed development of bambang lanang. Seeds were extracted from fruit derived from stands in Bogor (West Java), and Lahat (South Sumatra) with various stages of development. Observations of length, width, weight, moisture content, protein content, fat, carbohydrate, and seed germination were performed on four groups of seeds. The grouping was based on the stage of fruit development that was characterized by the color of the seeds: (i) white, (ii) brownish white, (iii) blackish brown, and (iv) black. Data analysis was performed using ANOVA, Principal Component Analysis, and correlation. The results showed that the seeds achieve maximum physical development when the seed became black. In line with the development stage of seeds, water content and carbohydrate content decreased, while the fat and protein content increased. Germination percentage correlates with moisture content, protein content, and fat content. The seeds have reached physiological maturity when the seeds became black. The mature seeds have a water content of 16.7-18.8%, carbohydrate content of 5.1-7.0%, fat 19.2-20.6% and protein 9-10%, with germination seeds are in the range of 28% and 69.7%. The biochemical characteristics of the seeds and their changes during the seed development indicate that the seed of bambang lanang is recalcitrant seed

Kata kunci: Biochemistry of seed, bambang lanang, physiological maturity, recalcitrant, seed viability

PENDAHULUAN

Bambang lanang (*Michelia champaca* L.) merupakan salah satu dari beberapa jenis tanaman hutan yang

berdasarkan pemanfaatannya digolongkan sebagai pohon penghasil kayu. Di Sumatera jenis bambang lanang ini dijadikan unggulan daerah. Pemanfaatan yang berasal dari hutan alam sudah sangat mempengaruhi ketersediaan jenis

ini di alam. Pelestarian dan pengembangan perlu dilakukan sehingga keberlangsungan populasi jenis bambang lanang tetap terjaga. Buah atau biji merupakan bagian dari tanaman yang berperan dalam upaya konservasi jenis ini.

Informasi kondisi benih saat mencapai masak secara fisiologis adalah penting, karena benih yang telah masak secara fisiologis telah memiliki kondisi fisiologis yang telah siap untuk dapat mengekspresikan vigornya secara maksimal. Benih yang diunduh sebelum masak secara fisiologis pada umumnya memiliki kualitas fisiologis yang rendah. Benih yang terlambat diunduh juga dapat berakibat buruk, karena benih masak yang dibiarkan tetap berada di pohon akan menghadapi lingkungan dengan kelembaban dan suhu tinggi, sehingga kualitas fisik dan fisiologis dapat menurun. Penentuan masak fisiologis tidak selalu dapat ditentukan dari tampilan morfologinya, karena masak fisiologis benih dapat dicapai sebelum buah secara morfologis terlihat masak. Dengan demikian informasi tentang kaitan antara tahapan perkembangan bunga dan buah bambang lanang dengan perubahan ciri biokimia, mutu fisik dan fisiologis benih sangat diperlukan agar diketahui karakter benih, dan waktu panen buah yang tepat dengan kualitas benih yang baik.

Perkembangan buah diawali dengan tahap pengembangan zigot dan diikuti oleh tahap pertengahan pematangan, tahap pengeringan di mana benih menjalani persiapan untuk dorman (Mandal dan Mandal 2000). Selama perkembangannya menuju kematangan, benih menunjukkan perubahan dalam ciri fisik, fisiologis dan biokimia benihnya. Komposisi kimia benih ditentukan oleh faktor genetik, oleh karena itu sangat bervariasi di antara spesies, varietas dan kultivar. Durasi dari tahap-tahap perkembangan benih bervariasi antar spesies dan dipengaruhi faktor lingkungan (Mandal dan Mandal 2000).

Kandungan biokimia benih berkaitan dengan viabilitas dan karakteristik daya simpan benih (Mello et al. 2010; Shaban 2013; Prajith et al. 2014). Informasi tentang kandungan biokimia benih selama pemasakan diperlukan untuk mengetahui periode-periode penting dalam perkembangan benih yang menentukan kualitas fisiologi benih, yang berkaitan dengan ciri morfologinya yaitu warna dan ukuran buah dan benih. Kandungan biokimia benih juga dapat digunakan untuk mengetahui karakter daya simpannya. Benih yang memiliki daya simpan tinggi memiliki kandungan karbohidrat yang tinggi sedangkan benih yang memiliki daya simpan rendah memiliki kadar air dan lemak yang tinggi (Yuniarti et al. 2013). Menurut Fernando et al. (2013) benih *M. champaca* termasuk intermediet dan sering dilaporkan sebagai benih orthodox, intermediet atau rekalsitran.

Pada benih ortodok setelah proses pembuahan, perkembangan benih dapat dibedakan menjadi 3 tahap yaitu *histodifferentiation* di mana jaringan embionik terbentuk, ekspansi sel dan pengisian cadangan makanan (*cell expansion and reserve deposition*) ketika terjadi pengumpulan cadangan makanan, dan pengeringan untuk pemasakan (*maturatation drying*) (Newton et al. 2013; Wang et al. 2014).

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui karakteristik daya simpan dan saat pengunduhan benih

bambang lanang (*Michelia champaca*) yang tepat yang didasarkan pada karakteristik perubahan biokimia selama perkembangan benih.

BAHAN DAN METODE

Lokasi dan waktu penelitian

Benih yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari hasil ekstraksi buah yang diunduh dari dua lokasi yaitu Bogor (Jawa Barat) dan Lahat (Sumatera Selatan). Data geografis dan kondisi iklim dari lokasi pengamatan ditampilkan pada Tabel 1. Pengujian mutu fisik dan fisiologis benih dilakukan di laboratorium Balai Penelitian Teknologi Perbenihan Tanaman Hutan dan analisis biokimia benih dilakukan di *Seameo Biotrop Services Laboratory*. Penelitian dilakukan dari Februari 2013 hingga Desember 2013.

Metode

Untuk mengetahui perubahan fisik-fisiologis dan biokimia benih setelah ekstraksi benih dikelompokkan menjadi empat menjadi 4 kelompok yang mewakili tingkat perkembangan benih (Rustam et al. 2013) yaitu benih dengan kulit berwarna putih (P), putih kecoklatan (PC), coklat kehitaman (CH) dan warna hitam (H) (Gambar 1). Untuk lokasi Lahat, karena pada saat pengamatan tidak ditemukan buah dengan benih berwarna putih maka benih hanya dibedakan menjadi 3 kelompok yaitu PC, CH dan H. Parameter untuk perubahan fisik benih selama perkembangannya meliputi perubahan panjang, lebar dan berat. Pengamatan parameter fisik dilakukan dengan menggunakan sampel benih sebanyak 10 butir yang diambil secara acak dari setiap kelompok warna benih. Pengamatan dari setiap parameter dilakukan 3 kali ulangan. Parameter untuk kondisi fisiologis benih adalah daya berkecambah benih. Pengujian daya berkecambah dilakukan pada setiap tingkat warna benih menggunakan sampel sebanyak 100 benih per yang diulang 3 kali. Pengujian perkecambahan dilakukan dengan menabur benih pada media campuran pasir dan tanah (1: 1), penaburan hingga pengamatan kecambah dilakukan di dalam rumah kaca. Untuk parameter biokimia benih, pada setiap kelas warna benih dilakukan analisis kimia yang meliputi kadar karbohidrat, lemak dan protein benih. Selain itu, pada setiap kelas warna benih dilakukan pengukuran kadar air. Pengukuran kadar air dilakukan dengan menggunakan metode oven pada suhu $103^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 17 ± 1 jam.

Analisis data

Untuk mengetahui ada tidaknya perubahan yang nyata di antara kelas warna benih, pada parameter kondisi fisik benih, dilakukan analisis dengan ANOVA. Selain itu, juga dilakukan analisis PCA (*Principal Component Analysis*) untuk mengetahui kaitan antar parameter fisik, fisiologis dan biokimia benih.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ukuran dan berat benih

Dari hasil pengujian terhadap ciri fisik, terlihat bahwa berat benih mengalami peningkatan sejalan dengan pemasakan benih. Hasil ANOVA menunjukkan adanya perbedaan yang nyata antar kelompok benih ($P=0,009$). Benih dari Bogor saat masih berwarna putih memiliki berat basah berkisar 0,06-0,21 g dengan rata-rata $0,13\pm 0,01$ dan setelah benih tua (berwarna hitam) benih berukuran 0,1-0,29 dengan rata-rata $0,18\pm 0,01$. Sedangkan benih dari Lahat yang berwarna putih kecoklatan memiliki berat 0,06-0,281 g dengan rata-rata $0,13\pm 0,01$ g dan meningkat dengan kisaran 0,11-0,32 g dengan rata-rata $0,19\pm 0,02$ g ketika berwarna hitam (Tabel 2).

Dari hasil ini tampak bahwa proses perkembangan biomasa benih masih terus terjadi dari benih berwarna putih hingga benih berwarna hitam. Hal ini menunjukkan bahwa sampai tahap perubahan warna coklat kehitaman menjadi hitam kondisi benih masih dalam tahap ekspansi sel atau perkembangan ukuran benih di mana benih masih mendapat suplai nutrisi dari tanaman.

Peningkatan berat basah, peningkatan berat kering dan penurunan kadar air ini sejalan dengan banyak hasil penelitian lainnya. Jarang ditemukan penelitian demikian pada jenis-jenis tanaman kehutanan, laporan yang hasilnya sejalan dengan penelitian ini banyak dijumpai pada jenis-jenis tanaman pertanian seperti pada buncis (*Cuminum cyminum* L) (Rebey et al. 2013), pada kedelai (Chen et al. 1998). Pada benih *castor bean* (*Ricinus communis* L.) (Chandrasekaran dan Liu 2013), berat basah naik sejalan dengan perkembangan benih namun pada fase akhir pemasakan terjadi penurunan berat (Chandrasekaran dan Liu 2013). Hal ini mengindikasikan bahwa perkembangan benih tahap kedua pada bambang lanang masih terjadi sampai benih berwarna hitam, di mana pada periode ini selain terjadi perubahan ukuran yang mengindikasikan adanya ekspansi sel, juga terjadi perubahan berat yang mengindikasikan adanya penimbunan cadangan makanan di dalam benih.

Hasil penelitian Atta et al. (2004) pada kapri (*Pisum sativum*) mengungkapkan bahwa bahwa berat kering benih berbeda secara nyata antar genotip. Pada penelitian bambang lanang ini, tampak bahwa benih yang berasal dari Bogor memiliki berat yang tidak berbeda nyata dengan benih dari Lahat, namun demikian terjadi perbedaan secara nyata terjadi pada ukuran benih (Tabel 3).



Gambar 1. Perbedaan tampilan fisik benih dari 4 tahap perkembangannya

Tabel 2. Kisaran ukuran benih dari 2 populasi

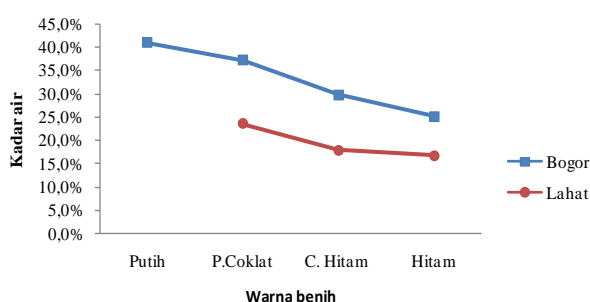
Lokasi	Parameter	Warna benih	Rataan + SD		Sig		
Lahat	Panjang (mm)	P.Coklat	7,13	0,20	a	0,000	
		C Hitam	8,26	0,29	b		
		Hitam	9,27	0,31	c		
	Lebar (mm)	P.Coklat	5,24	0,27	0,576		
		C Hitam	5,17	0,24			
		Hitam	5,39	0,27			
	Berat (g)	P.Coklat	0,13	0,01	a		0,009
		C Hitam	0,15	0,00	a		
		Hitam	0,19	0,02	b		
Bogor	Panjang	Putih	6,57	0,53	a	0,001	
		P.Coklat	6,31	0,08	a		
		C Hitam	7,53	0,27	b		
		Hitam	8,06	0,35	b		
	Lebar	Putih	5,21	0,26	0,051		
		P.Coklat	5,75	0,32			
		C Hitam	5,54	0,10			
		Hitam	5,87	0,26			
	Berat	Putih	0,13	0,01	0,112		
		P.Coklat	0,16	0,04			
		C Hitam	0,15	0,01			
		Hitam	0,18	0,01			

Tabel 1. Data geografis dan kondisi iklim lokasi penelitian

Lokasi	Letak geografis	Ketinggian (m dpl)	Curah hujan (mm/th)	Suhu ($^{\circ}$ C)
Bogor Utara, Jabar	106 $^{\circ}$ 48' BT, 6 $^{\circ}$ 26'LS	\pm 260	3500-4000	21-30
Lahat, Sumsel	103 $^{\circ}$ 07'BT, 3 $^{\circ}$ 54'LS.	650-725	2000-4000	21-32

Tabel 3. Rataan ukuran dan berat benih dari 3 warna benih dari kedua lokasi dan hasil uji T-nya

Warna buah	Asal benih	Panjang		Sig	Lebar		Sig	Berat		Sig
		Mean + SD			Mean + SD			Mean + SD		
PC	Lahat	7,13	± 0,204	0,003*	5,24	± 0,271	0,102	0,133	± 0,014	0,230
	Bogor	6,31	± 0,081		5,75	± 0,322		0,164	± 0,036	
CH	Lahat	8,26	± 0,287	0,033*	5,17	± 0,235	0,067	0,151	± 0,002	0,644
	Bogor	7,53	± 0,271		5,54	± 0,099		0,155	± 0,012	
H	Lahat	9,27	± 0,307	0,011*	5,39	± 0,265	0,090	0,189	± 0,021	0,478
	Bogor	8,06	± 0,347		5,87	± 0,259		0,179	± 0,006	

**Gambar 2.** Berat dan kadar air pada beberapa kelas warna benih bambang lanang dari Lahat dan Bogor

Kadar air benih

Kadar air benih dari Bogor yang tertinggi terjadi saat benih berwarna putih yaitu 41,0% kemudian semakin menurun hingga seiring proses perkembangan benih hingga warna benih menjadi hitam dengan kadar air terendah yaitu 25,1%. Sedangkan benih dari Lahat juga menunjukkan penurunan kadar air benih. Benih yang berwarna putih kecoklatan memiliki kadar air 23,6% kemudian menurun seiring perkembangan benih hingga pada benih berwarna hitam kadar air menjadi 16,7% (Gambar 2). Hasil ini menunjukkan bahwa kondisi terbaik untuk penyimpanan benih diperoleh ketika benih sudah berwarna hitam, pada saat benih memiliki kadar air terendah.

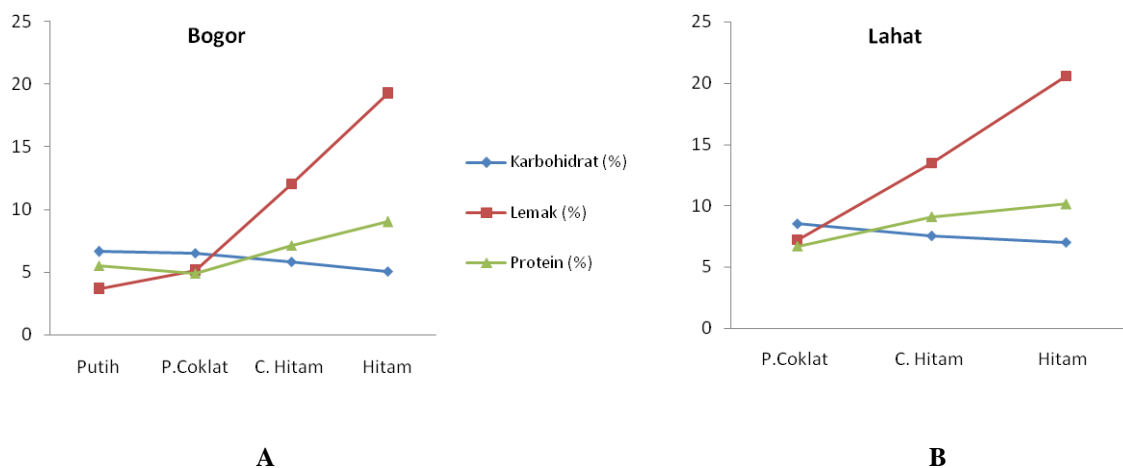
Perubahan kadar air benih selama perkembangannya menjadi faktor penting yang menentukan viabilitas dan karakteristik fisiologis penyimpanan benih. Tidak ditemukannya fase pengeringan benih (*maturation drying*) selama perkembangan benih menjadi salah satu ciri bahwa benih bambang lanang merupakan jenis rekalsitrasi. Pada benih ortodok perkembangan benih terdiri dari 3 tahap yaitu tahap histodiferensiasi, tahap ekspansi sel (dan pengisian cadangan makanan) dan tahap pengeringan (Newton et al. 2013; Wang et al. 2014). Pada fase ketiga benih mengalami pengeringan, dan perkembangan benih berhenti. Fase ini merupakan persiapan benih untuk dorman. Pada benih bambang lanang, ketika benih telah masak (benih telah berwarna hitam), sebagaimana karakter benih rekalsitrasi pada umumnya, benih masih memiliki kadar air yang relatif tinggi dan proses metabolisme tetap berjalan aktif, sehingga jangka hidup benih bambang lanang akan menjadi pendek dikarenakan inisiasi perkecambahan segera berjalan setelah benih terlepas dari induknya.

Kadar air benih di Bogor lebih tinggi daripada kadar air benih yang berasal dari Lahat. Ini diduga karena perbedaan curah hujan. Bogor yang memiliki curah hujan lebih tinggi menghasilkan benih dengan kadar air yang lebih tinggi. Mungkin juga disebabkan oleh perbedaan genetik, karena menurut Atta et al. (2004) berat kering benih berbeda secara nyata antar genotip.

Kadar protein

Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi protein meningkat sejalan dengan pemasakan benih hingga benih berwarna hitam (Gambar 3). Hal ini juga menunjukkan bahwa ketika benih berwarna hitam perkembangan benih masih berada pada tahap penumpukan cadangan makanan, sebagaimana pada benih ortodoks, misalnya pada tanaman alfafa. Xu et al. (1991) mengemukakan bahwa pada alfafa akumulasi protein maksimum terjadi di sekitar akhir periode akumulasi cadangan atau di awal fase pengeringan, dan sedikit penambahan terjadi di sekitar pertengahan fase pengeringan. Gejala yang nampak pada penelitian ini mirip dengan hasil penelitian Mandal dan Mandal (2000) pada tanaman kacang. Selama tahap kedua terjadi ekspansi sel, embrio membesar dan terjadi sintesis yang cepat dan akumulasi cadangan makanan. Protein disimpan dalam tubuh protein. Secara umum, ada peningkatan mendadak dalam kandungan protein yang terjadi dalam beberapa hari selama periode ekspansi sel (Mandal dan Mandal 2000). Pada pohon *Pongamia pinnata* yang juga menghasilkan benih rekalsitrasi, konsentrasi protein terlarut total pada benih juga meningkat sejalan dengan perkembangan benih, dimana pada biji yang telah masak kandungan protein dapat mencapai lebih dari tiga kali lipat dibandingkan dengan benih yang belum masak (Kesari dan Rangan 2011).

Protein merupakan salah satu bahan cadangan makanan utama dan penting yang menumpuk dalam jumlah tinggi selama tahap kedua perkembangan biji, yaitu tahap pertengahan pematangan, setelah perkembangan zigot dan sebelum pengeringan. Sebagian besar protein berhubungan dengan metabolisme primer, yang menunjukkan kebutuhan yang besar akan bahan ini untuk pertumbuhan embrio. Protein juga berperan penting selama perkembangan benih, terlibat dalam metabolisme gula yang menyediakan sumber karbon, juga dalam berbagai aktifitas biokimia benih (Li et al. 2012).



Gambar 3. Kondisi kandungan lemak, protein dan karbohidrat pada beberapa kelas warna benih bambang lanang dari Bogor (A) dan Lahat (B)

Sebagian besar protein di dalam benih secara metabolisme tidak aktif dan hanya berfungsi sebagai cadangan makanan untuk digunakan oleh pertumbuhan embrio selama perkecambahannya. Hanya sebagian kecil protein yang secara metabolik aktif, tetapi mereka sangat penting untuk perkembangan benih dan perkecambahannya, yaitu sebagai enzim untuk katalisis semua proses metabolisme pencernaan, translokasi, dan pemanfaatan cadangan makanan, dan semua aktifitas pertumbuhan (Copeland 1976). Albumin dan globulin merupakan penyusun utama dari cadangan protein benih pada tanaman dikotil, sedangkan pada tanaman monokotil protein utama adalah prolamins dan glutelins (Mandal dan Mandal 2000). Protein pada benih dapat dibedakan dengan protein lain, misalnya: (i) terakumulasi dalam jumlah tinggi dalam biji selama tahap pertengahan pemasakan benih dan digunakan selama perkecambahannya; (ii) disintesis hanya dalam benih (dalam kotiledon atau endosperm) bukan di jaringan lain; (iii) tidak memiliki aktivitas fungsional lain selain sebagai cadangan makanan; (iv) disimpan terutama di organel penyimpanan khusus yang disebut badan protein (*protein bodies*) (Mandal dan Mandal 2000). Cadangan protein di dalam benih disintesis terutama dari fotoasimilat berupa gula dan dari asam amino (Borek et al. 2009; Meyer et al. 2012).

Terdapat perbedaan kandungan protein antara benih dari Bogor dengan Lahat. Hal ini dapat disebabkan oleh faktor genetik (Atta et al. 2004), atau karena faktor lingkungan (Bewley dan Black 1985).

Kandungan lemak

Benih yang masih muda memiliki kandungan lemak dan protein yang lebih rendah dibanding dengan benih yang sudah tua. Saat benih tua dengan kandungan lemak dan protein tinggi, nilai daya berkecambahannya juga tinggi baik yang berasal dari Bogor maupun Lahat, masing-masing dengan nilai 28% dan 69,75% (Gambar 3). Hal ini disebabkan lemak dan protein di benih akan dimanfaatkan oleh embrio sebagai energi selama perkecambahannya.

Kandungan lemak yang tinggi yang dapat mencirikan kematangan benih yaitu pada benih *S. stenoptera* dengan kandungan lemak sebesar 15,47% dengan nilai daya berkecambah sebesar 85,33% (Rohandi et al. 2011). Hal yang sama terjadi pada suren, benih dengan kandungan lemak antara 20-24% nilai daya berkecambahannya mencapai 70% (Rustam dan Sudrajat 2012). Pada tahap ini benih sudah dapat dikatakan masak secara fisiologis.

Lemak meningkat selama pemasakan dijumpai pada benih *Cuminum cyminum* (Rebey et al. 2013), *castor bean* (*Ricinus communis* L.) (Chandrasekaran dan Liu 2013). Lipida atau lemak adalah cadangan makanan utama yang dimobilisasi selama perkecambahannya karena konsentrasi mereka sangat berkurang setelah perkecambahannya, sedangkan protein merupakan cadangan makanan yang kedua yang banyak digunakan dalam proses perkecambahannya (Alencar et al. 2012).

Selain kadar air benih yang tinggi, kandungan lemak yang tinggi diduga juga menjadi ciri yang menunjukkan bahwa benih bambang lanang termasuk benih rekalsitran. Dari data pada benih 18 jenis tanaman kehutanan yang telah diteliti menunjukkan bahwa sebagian besar benih rekalsitran memiliki kandungan minyak yang tinggi (Yuniarti et al. 2013). Menurut Jyoti dan Malik (2013) penyebab utama untuk kerusakan benih berminyak selama penyimpanan adalah terjadinya kerusakan oksidatif dari lemak. Oksidasi lemak menghasilkan hidrogen peroksida, asam lemak teroksidasi, dan radikal bebas. Radikal bebas dapat bereaksi dan merusak molekul-molekul yang berada di sekitarnya. Ketika berada dalam keadaan tanpa aktivitas enzim pada saat benih dalam kondisi kering, asam lemak teroksidasi akan menumpuk dan merusak komponen sel dan menyebabkan kerusakan benih. Lipid dalam perkembangan benih disintesis terutama dari gula (kebanyakan dari sukrosa dan glukosa) dan pada tingkat yang lebih rendah dari asam amino yang disediakan oleh tanaman induk (Borek et al. 2015). Cadangan lipida di dalam benih disintesis terutama dari fotoasimilat berupa gula dan dari asam amino (Borek et al. 2009; Meyer et al. 2012).

Kandungan karbohidrat

Berdasarkan beberapa penelitian menunjukkan bahwa karakteristik pengumpulan cadangan karbohidrat menjadi penentu dalam toleransi benih terhadap pengeringan dan penyimpanan. Jenis-jenis cadangan makanan yang tergolong karbohidrat terutama adalah monosakarida (glukosa dan fruktosa), disakarida (sukrosa) dan polisakarida (antar lain rafinosa dan staciosa).

Berbeda dengan kandungan protein dan lemak. Pada penelitian ini kandungan karbohidrat mengalami penurunan secara lambat selama perkembangan benih. Benih yang masih muda memiliki kandungan karbohidra 8,52% dan semakin berkurang sampai benih tua mencapai 5,08% (Gambar 3). Kandungan karbohidrat menurun selama pengeringan atau pengurangan kadar air benih bembang lanang. Hal ini sejalan dengan berbagai penelitian lainnya. Karohidrat menurun juga ditemukan pada kacang (*Arachis hypogaea*) (Basha et al. 1976), pati dan gula terlarut turun pada kedelai (Chen et al. 1998). Akumulasi pati terjadi selama tahap kedua ketika ekspansi sel terjadi dan embrio membesar (Mandal dan Mandal 2000).

Pada benih rekalsitran *Saraca asoca* kandungan glukosa dan fruktosa meningkat pada awal perkembangan benih kemudian menurun sampai akhir perkembangan benih. Sedangkan kandungan sukrosa meningkat hingga lebih dari pertengahan perkembangan benih kemudian menurun (Prajith et al. 2014). Pada benih bembang lanang peningkatan kandungan karbohidrat diduga dapat terjadi pada awal perkembangan yaitu sebelum benih berwarna putih atau putih kecoklatan. Tampak pada benih dari Bogor tidak terjadi penurunan karbohidrat yang berarti dari benih berwarna putih ke benih putih kecoklatan, kemudian selanjutnya terjadi penurunan hingga benih berwarna hitam.

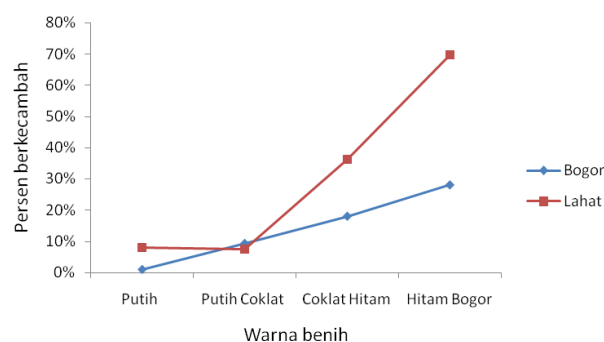
Kandungan karbohidrat yang relatif rendah pada benih bembang lanang menunjukkan bahwa jenis ini termasuk rekalsitran. Pada jenis ortodok kadar karbohidrat kebanyakan tinggi (Mello et al. 2010; Yuniarti 2016). Biji ortodok mengumpulkan lebih banyak sukrosa hingga akhir fase pematangan daripada benih rekalsitran. Sukrosa merupakan karbohidrat yang berpengaruh terhadap daya simpan benih (Prajith et al. 2014). Selain itu, kandungan karbohidrat berpengaruh terhadap daya simpan benih, karena gula berperan penting dalam pergerakan air, melindungi kerusakan selaput sel embrio selama pengeringan benih (Mello et al. 2010).

Perubahan fisiologis benih serta hubungannya dengan parameter fisik dan biokimia

Daya kecambah benih sebagai parameter fisiologis benih meningkat seiring dengan perubahan warna dari putih, menjadi putih kecoklatan, coklat kehitaman, hingga hitam. Peningkatan daya kecambah ini terjadi baik pada sampel penelitian yang dipeoreh di Bogor maupun Lahat (Gambar 4).

Hasil uji korelasi daya berkecambah benih berkorelasi negatif dengan kadar air dan berkorelasi positif dengan lemak dan protein (Tabel 4). Hal ini sejalan dengan berbagai penelitian lainnya diantaranya adalah Wahid dan Bounoua (2013). Hal ini disebabkan lemak dan protein di benih akan dimanfaatkan oleh embrio sebagai energi selama perkecambahan.

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa protein dikumpulkan selama proses pengisian benih kemudian diurai selama perkecambahan dan pertumbuhan bibit, yang dikendalikan oleh fitohormon (Kesari dan Rangan 2011; Alencar et al. 2012; Tan-Wilson dan Wilson 2012), hal tersebut menunjukkan bahwa protein diperlukan pada tahap perkecambahan dan pertumbuhan bibit (Dobiesz dan Piotrowicz-Cieslak 2017). Protein diurai menjadi asam amino bebas untuk biosintesis dan pembangkit energi (Tan-Wilson dan Wilson 2012; Tonguc et al. 2012). Selama proses perkecambahan, protein diperlukan sebagai sumber sulfur dan nitrogen (Shaban 2013). Selain itu, protein berpengaruh terhadap viabilitas benih karena protein terlibat di dalam metabolisme gula yang menyediakan sumber karbon, dan juga terlibat di dalam berbagai aktifitas biokimia benih lainnya (Li et al. 2012).

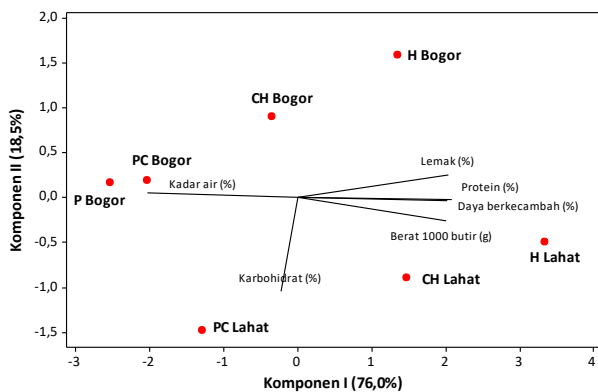


Gambar 4. Daya kecambah beberapa kelas warna benih bamabang lanang dari Bogor da Lahat.

Tabel 4. Koefisien korelasi (r) antara kadar air, berat 1000 butir, karbohidrat, lemak, protein dan daya berkecambah

Parameter	KA	Berat 1000 butir	Karbohidrat	Lemak	Protein
DB	-0,814*	-0,334	-0,090	0,861*	0,872*

Keterangan = **: berkorelasi nyata pada taraf kepercayaan 0,01, *: berkorelasi nyata pada taraf kepercayaan 0,05, ns: tidak berkorelasi nyata



Gambar 5. Hasil PCA terhadap benih yang berasal dari Lahat dan Bogor. Keterangan: P=putih, PC= putih kecoklatan, CH= coklat kehitaman, H= hitam

Komposisi minyak atau lipida juga berkaitan dengan viabilitas (Lee et al. 2012). Perkecambahan yang diawali dengan imbibisi terjadi peningkatan respirasi dan konsumsi gula (Tonini et al. 2010), dan gula sebagian besar berasal dari katabolisme lipida (Suda dan Giorgini 2000). Lipida, sebagai cadangan utama yang dimobilisasi selama perkecambahan, berperan penting sebagai sumber bahan bakar untuk perkecambahan dan pengembangan bibit awal, (Alencar et al. 2012; Tonguc et al. 2012; Borek et al. 2015), dan berperan sangat penting ketika perkecambahan dan pertumbuhan bibitnya menghadapi kondisi buruk (Alencar et al. 2012).

Hasil PCA menunjukkan keterkaitan antar parameter dengan asal benih (Gambar 4). Terlihat benih yang berwarna putih (P) dan putih kecoklatan (PC) yang berasal dari Bogor berkaitan dengan kadar air yang tinggi dan daya berkecambah serta protein yang rendah, kebalikannya dengan benih berwarna hitam dari Lahat.

Benih bembang lanang yang memiliki ciri biokimia yaitu kadar air berada pada kisaran 11-20%, dan lemak yang berada pada kisaran 20-30% maka berdasarkan Yuniarti et al. (2013) benih bembang lanang termasuk dalam benih yang memiliki daya simpan sedang (6-12 bulan), namun berdasarkan kandungan karbohidratnya yang sangat rendah yaitu mendekati 5% maka benih bembang lanang termasuk jenis yang memiliki daya simpan rendah (1-6 bulan).

Beberapa ahli benih mengemukakan teori bahwa benih rekalsitran sebenarnya adalah seperti benih ortodok namun perkembangan benihnya tidak terselesaikan hingga masak. Benih mungkin berkecambah ketika masih di dalam buah atau buah terlepas dari pohon sebelum semua fase pemasakan benih terselesaikan (Barbedo et al. 2013). Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa sampai benih berwarna hitam proses penurunan kadar air dan kandungan karbohidrat terus berlanjut secara perlahan. Berat kering, berat basah, kandungan protein dan lemak masih terus meningkat secara cepat sampai benih berwarna hitam. Hal ini mengindikasikan bahwa sampai benih berwarna hitam masih terjadi fase ekspansi sel dan penumpukan cadangan

makanan, dan tidak mengalami fase pemasakan sebagaimana benih ortodok. Fase pengeringan seharusnya terjadi setelah benih berwarna hitam, namun hal ini tidak terjadi karena setelah berwarna hitam benih akan terlepas dari buahnya dan jatuh dari pohon induknya. Pada benih bembang lanang seperti halnya pada benih rekalsitran lainnya, benih hanya mengalami 2 fase yaitu fase histodiferensiasi dan fase ekspansi sel dan penumpukan cadangan makanan (*reserve deposition*), tidak mengalami fase pengeringan untuk pemasakan (*maturating drying*), di mana ketika menjelang masak benih mengalami penurunan kadar air secara drastis dan proses penimbunan makanan yang melambat.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa proses perkembangan biomasa benih masih terus terjadi dari benih berwarna putih sampai benih berwarna hitam. Kadar air benih dari Bogor yang tertinggi terjadi saat benih berwarna putih kemudian semakin menurun seiring proses perkembangan benih hingga warna benih menjadi hitam. Hasil ini menunjukkan bahwa kondisi terbaik untuk penyimpanan diperoleh ketika benih sudah berwarna hitam pada saat kadar air pada posisi terendah. Kandungan lemak yang tinggi dan tidak ditemukannya fase pengeringan benih (*maturating drying*) selama perkembangan benih merupakan ciri bahwa benih bembang lanang termasuk jenis rekalsitran. Kandungan lemak dan proteain sebagai sumber energi untuk perkecambahan juga terus meningkat hingga benih berwarna hitam. Dengan demikian viabilitas benih tertinggi akan dicapai jika benih diunduh ketika benih telah berwarna hitam.

DAFTAR PUSTAKA

- Alencar NLM, Innecco R, Gomes-Filho E, Gallão MI, Alvarez-Pizarro JC, Prisco JT, de Oliveira AB. 2012. Seed reserve composition and mobilization during germination and early seedling establishment of *Cereus jamacaru* D.C. ssp. *jamacaru* (Cactaceae). *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 84 (3): 823-832.
- Atta S, Maltese S, Cousin R. 2004. Protein content and dry weight of seeds from various pea genotypes. *Agronomie* 24 (5): 257-266.
- Barbedo CJ., Centeno DC, Ribeiro RCLF. 2013. Do recalcitrant seeds really exist? *Hoehnea* 40 (4): 583-593.
- Borek S, Pukacka S, Michalski K, Ratajczak L. 2009. Lipid and protein accumulation in developing seeds of three lupine species: *Lupinus luteus* L., *Lupinus albus* L., and *Lupinus mutabilis* Sweet. *J Exp Bot* 60 (12): 3453-3466.
- Borek S, Ratajczak W, Ratajczak L. 2015. Regulation of storage lipid metabolism in developing and germinating lupin (*Lupinus* spp.) seeds. *Acta Physiol Plant* 37: 119.
- Basha SMM, Cherry JP, Young CT. 1976. Changes in Free Amino acid, carbohydrate, and proteins of maturing seeds from various peanut (*Arachis hypogaea* L.) cultivars. *Cereal Chem* 53 (4): 586-597.
- Chandrasekaran U, Liu A. 2013. Seed filling and fatty acid changes in developing seeds of castor bean (*Ricinus communis* L.). *Australian J Crop Sci* 7 (11): 1761-9765.
- Chen Z, Ilarslan H, Palmer RG, Shoemaker RC. 1998. Development of protein bodies and accumulation of carbohydrates in a soybean (*Leguminosae*) shriveled seed mutant. *Amer J Bot* 85 (4): 492-499.
- Dobiesz M, Piotrowicz-Cieslak. 2017. Proteins in relation to vigor and viability of white lupin (*Lupinus albus* L.) Seed Stored for 26 Years. *Front Plant Sci* 8: 1392.
- Fernando MTR, Jayasuriya KMG, Walck JL, Wijetunga ASTB. 2013. Identifying dormancy class and storage behaviour of champak (*Magnolia champaca*) seeds, an important tropical timber tree. *J Natl Sci Foundation Sri Lanka* 41 (2): 141-146

- Jyoti, Malik CP. 2013. Seed deterioration: a review. *Intl J Lifesci Biotechnol Pharm Res* 2 (3): 374-385.
- Kesari V, Rangan L. 2011. Coordinated changes in storage proteins during development and germination of elite seeds of *Pongamia pinnata*, a versatile biodiesel legume. *AoB PLANTS* 2011 plr026.
- Li W, Gao Y, Xu H, Zhang Y, Wang J. 2012. A proteomic analysis of seed development in *Brassica campestris* L. *PLoS ONE* 7 (11): e50290. DOI: 10.1371/journal.pone.0050290.
- Lee L, Welti R, Roth M, Schapaugh WT, Li J, Trick HN. 2012. Enhanced seed viability and lipid compositional changes during natural aging by suppressing phospholipase D α in soybean seed. *Plant Biotechnol J* 10 (2): 164-173.
- Mello JIO, Barbedo CJ, Salatino A, Figueiredo-Ribeiro RCL. 2010. Reserve carbohydrates and lipids from the seeds of four tropical tree species with different sensitivity to desiccation. *Braz Arch Biol Technol* 53 (4): 889-899.
- Mandal S, Mandal RK. 2000. Seed storage proteins and approaches for improvement of their nutritional quality by genetic engineering. *Current Sci* 79 (5): 576-589.
- Mello JIO, Barbedo CJ, Salatino A, Figueiredo-Ribeiro RCL. 2010. Reserve carbohydrates and lipids from the seeds of four tropical tree species with different sensitivity to desiccation. *Braz Arch Biol Technol* 53 (4): 889-899.
- Meyer K, Stecca KL, Ewell-Hicks K, Allen SM, Everard JD. 2012. Oil and protein accumulation in developing seeds is influenced by the expression of a cytosolic pyrophosphatase in arabidopsis. *Plant Physiol* 159: 1221-1234.
- Rohandi A, Widyani N. 2011. Analisis perubahan fisiologi dan biokimia benih tengkawang selama pengeringan. *Jurnal Penelitian Hutan Tanaman* 8 (1): 31-40.
- Rebey IB, Kefi S, Limam R, Marzouk B. 2013. Variation in Fatty acid composition during maturation of cumin (*Cuminum cyminum*) seeds. *African J Biotechnol* 12 (34): 5303-5307.
- Rustam E, Pramono AA, Syamsuwida D. 2014. Perkembangan bunga dan buah bambang lanang (*Michelia champaca*). *Jurnal Perbenihan Tanaman Hutan* 2 (2): 67-76.
- Rustam E, Sudrajat DJ. 2012. Karakteristik morfologi, biokimia dan daya simpan benih surian (*Toona sinensis* Roem). Dalam: Mindawati N, Bramasto Y. (ed.) *Prosiding Seminar Hasil-hasil Penelitian” Teknologi Perbenihan Jenis-jenis Potensial untuk Rehabilitasi Lahan Bekas Tambang di Provinsi Kepulauan Bangka Belitung*. Pusat Litbang Peningkatan Produktivitas Hutan. Pangkal Pinang, 3 Oktober 2012.
- Shaban M. 2013. Biochemical aspects of protein changes in seed physiology and germination. *Intl J Adv Biol Biomed Res* 1 (8): 885-898.
- Suda CNK, Giorgini JF. 2000. Seed reserve composition and mobilization during germination and initial seedling development of *Euphorbia heterophylla*. *Braz Fisiol Veg* 12: 226-245
- Tan-Wilson AL, Wilson KA. 2012. Mobilization of seed protein reserves. *Physiologia Plantarum* 145: 140-153.
- Tonguc M, Elkoyunu R, Erbas S, Karakurt Y. 2012. Changes in seed reserve composition during germination and initial seedling development of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) *Turk J Biol.* 36: 107-112.
- Tonini PP, Purgatto E, Buckeridge MS. 2010. Effects of abscisic acid, ethylene and sugars on the mobilization of storage proteins and carbohydrates in seeds of the tropical tree *Sesbania virgata* (Leguminosae). *Ann Bot* 106: 607-616.
- Yuniarti N, Zanzibar M, Pramono AA. 2013. Pendugaan vigor daya simpan benih antar jenis tanaman hutan berdasarkan karakteristik fisik, fisiologis dan kandungan biokimia. *Prosiding Seminar nasional Silviculture I dan Pertemuan Ilmiah Tahunan Masyarakat Silviculture Indonesia*.
- Wahid N, Bounoua L. 2013. The relationship between seed weight, germination and biochemical reserves of maritime pine (*Pinus pinaster* Ait.) in Morocco *New Forests* 44: 385-397.
- Wang WQ, Ye JQ, Rogowska-Wrzesinska A, Katarzyna I, Wojdyla KI, Jensen ON, Moller IA, and Song SQ. 2014. Proteomic comparison between maturation drying and prematurely imposed drying of zea mays seeds reveals a potential role of maturation drying in preparing proteins for seed germination, seedling vigor, and pathogen resistance. *J Proteome Res* 13: 606-626.
- Xu N, Coulter KM, Krochko JE, Bewley JD. 1991. Morphological stages and storage protein accumulation in developing alfalfa (*Medicago sativa* L.) seeds. *Seed Sci Res* 1: 119-125.