

## Karakter Fisik dan Fisiologi Serta Metode Konservasi Benih *Vatica venulosa* Blume (Dipterocarpaceae) (Physical and Physiological Characteristics of *Vatica venulosa* Blume (Dipterocarpaceae) Seed and Its Conservation Methods)

Aulia H. Widjaya<sup>1,3\*</sup>, M. Rahmad Suhartanto<sup>2\*</sup>, Endah R. Palupi<sup>2</sup>, dan/and Dian Latifah<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Sekolah Pascasarjana Program Studi Ilmu dan Teknologi Benih, IPB University, Jln. Meranti Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680. Tlp: 0251-8629354

<sup>2</sup>Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, IPB University, Jln. Meranti Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680. Tlp: 0251-8629354

<sup>3</sup>Pusat Riset Konservasi Tumbuhan dan Kebun Raya - Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN), Jln. Ir. H. Juanda No 13, Bogor 16003. Tlp: 0251-8322187

Info artikel:	ABSTRACT
<b>Keywords:</b> Embryo, final count, first count, critical moisture content, physiological maturation	<i>Vatica venulosa</i> Blume is an endangered plant species with Critically Endangered A1c ver 2.3 status. The seeds of <i>V. venulosa</i> are recalcitrant, and studies regarding the determination of harvest time, the standard of viability testing and critical moisture content of seeds to support the conservation of <i>V. venulosa</i> have not been carried out. This research aimed to study the germination period, physiological maturation of fruit, critical moisture content, and conservation methods of <i>V. venulosa</i> embryos. The germination period of <i>V. venulosa</i> had first and final counts on the 23 <sup>rd</sup> day after sowing (DAS) and 33 DAS. The seeds reached physiological maturity at 101±3 days after anthesis (DAA) to 106±3 DAA. The critical moisture content of <i>V. venulosa</i> seeds is 38.63%-39.59%. The growth of <i>V. venulosa</i> embryos using woody plant medium has a success rate of 70% at a moisture content of 34.1%. We can only use up to 15 DAS for embryonic explants of woody plants with high phenolic content. The seeds of <i>V. venulosa</i> have a germination capacity of 78.75%-81.25% and will become seedlings with two leaves at 45 DAS. The results of this study provide information that the seeds of <i>V. venulosa</i> can be preserved by the in-vitro conservation method to support the seed conservation program for endangered plants.
<b>Kata kunci:</b> Embrio, hitungan akhir, hitungan awal, kadar air kritis, masak fisiologi	<b>ABSTRAK</b> <i>Vatica venulosa</i> Blume merupakan jenis tumbuhan langka dengan kategori Critically Endangered A1c ver 2.3. Benih <i>V. venulosa</i> bersifat rekalsitran dan studi mengenai penentuan waktu panen, standar pengujian viabilitas, kadar air kritis benih untuk mendukung konservasi <i>V. venulosa</i> belum banyak dilakukan. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan mempelajari periode perkecambahan, waktu masak fisiologi buah, kadar air kritis dan metode konservasi embrio <i>V. venulosa</i> . Periode perkecambahan <i>V. venulosa</i> memiliki hitungan awal dan akhir pada 23 hari setelah semai (HSS) dan 33 HSS. Benih <i>V. venulosa</i> mencapai masak fisiologi pada 101±3 hari setelah antesis (HSA) sampai 106±3 HSA. Kadar air kritis benih <i>V. venulosa</i> sebesar 38,63%-39,59%. Pertumbuhan embrio <i>V. venulosa</i> menggunakan Woody Plant Medium (WPM) memiliki tingkat keberhasilan sebesar 70% pada kadar air 34,1%. Woody Plant Medium hanya bisa digunakan hingga 15 hari setelah tanam (HST) untuk eksplan embrio tumbuhan berkayu yang memiliki kandungan fenolik tinggi. Benih <i>V. venulosa</i> memiliki daya berkecambah sebesar 78,75%-81,25% dan akan menjadi bibit dengan 2 helai daun pada 45 HSS. Hasil penelitian ini memberikan informasi bahwa benih <i>V. venulosa</i> dapat dipertahankan melalui metode konservasi secara <i>invitro</i> untuk mendukung program konservasi benih tanaman langka.
<b>Riwayat artikel:</b> Tanggal diterima: 26 Januari 2021; Tanggal direvisi: 26 Juli 2021; Tanggal disetujui: 6 Oktober 2021	

Editor: Dr. Neo Endra Lelana

Korespondensi penulis: Aulia Hasan Widjaya (E-mail: aulia.widjaya05@gmail.com);

M. Rahmad Suhartanto (E-mail: tantosuhartanto63@gmail.com)

Kontribusi penulis: **AHW:** Melakukan pengambilan data, pengolahan data, penulisan makalah dan penyajian makalah; **MRS, ERP dan DL:** Melakukan pengambilan data, penulisan dan penyajian makalah

<https://doi.org/10.20886/jphka.2021.18.2.167-181>

©JPHKA - 2018 is Open access under CC BY-NC-SA license



## 1. Pendahuluan

*Vatica venulosa* Blume merupakan suku Dipterocarpaceae, termasuk pohon kecil-sedang, tinggi pohon dapat mencapai 25m, dan batang mengandung resin (PROSEA, 2019). *V. venulosa* merupakan tumbuhan kategori terancam punah (*critically endangered*) A1c ver 2.3 menurut *International Union for Conservation of Nature and Natural Resources* (IUCN) *red list* (Ashton, 1998) karena terjadi penurunan populasi di habitat alaminya akibat alih fungsi dan degradasi habitat. *V. venulosa* tumbuh di hutan tropis dataran rendah, bukit, lembah, tepi pantai, dan sepanjang aliran sungai (El-Taguri & Latiff, 2016) dengan penyebaran alaminya meliputi daerah Kalimantan, Sumatera, dan Peninsular Malaysia (POWO, 2020). Kayu *V. venulosa* dimanfaatkan untuk pembuatan pintu, jendela, furnitur, hingga bantalan rel kereta api (PROSEA, 2019).

Salah satu upaya konservasi pelestarian berbagai jenis dalam suku Dipterocarpaceae adalah dengan mengetahui karakteristik morfologi maupun fisiologinya (Atmoko, Arifin, & Priyono, 2010). Benih Dipterocarpaceae sebagian besar merupakan kategori rekalsitran. Viabilitas benih rekalsitran cepat menurun apabila kadar air benih melewati kadar air kritis, masa simpan pendek, dan tidak tahan disimpan pada suhu rendah (Chin, 2016). Studi rekalsitransi benih sangat diperlukan karena Indonesia merupakan negara tropis yang sebagian besar benih tanaman tropisnya memiliki kategori rekalsitran. Sukesh & Chandrashekar (2013) menyatakan bahwa benih *Vatica chinensis* pada suhu  $20 \pm 2$  °C dapat disimpan 15 hari dengan viabilitas akhir 29,5%. Untuk jenis Dipterokarpa lainnya yaitu *Shorea stenoptera*, memiliki kadar air kritis benih 15% dengan daya berkecambah 10,67% (Rohandi & Widayani, 2011).

Masak fisiologi benih merupakan kondisi saat berat kering, vigor, dan viabilitas benih sudah mencapai maksimum sehingga dapat ditentukan waktu panen secara tepat. Pemanenan benih pada saat sebelum mencapai masak fisiologi akan menyebabkan vigor dan viabilitas benih yang belum maksimal. Demikian juga benih yang melewati masak fisiologi akan mengalami penurunan mutu karena terjadi deraan cuaca di lapang (Suharsi, Syukur, & Wijaya, 2015). Masak fisiologi untuk masing-masing jenis tanaman berbeda-beda. Hasnat, Hossain, & Hossain (2016), menyatakan bahwa waktu terbaik pengkoleksian/pemanenan buah *Hopea odorata*, *Shorea robusta*, *Dipterocarpus turbinatus* dilakukan pada 90-120 hari dari muncul bunga.

Penyimpanan benih rekalsitran memerlukan strategi konservasi khusus karena mempunyai daya simpan yang pendek yaitu 15 hari (Sasaki, 2008). Penyimpanan benih jangka panjang merupakan strategi untuk melindungi kepentingan ekonomi dan keanekaragaman hayati/konservasi yang penting untuk jenis-jenis tanaman langka dan terancam punah (Kijak & Ratajczak, 2020). Konservasi khusus secara *invitro* menggunakan teknik perbanyakan kultur jaringan merupakan salah satu teknik perbanyakan yang bisa digunakan untuk jenis rekalsitran (Kalima & Denny, 2019).

*V. venulosa* merupakan anggota Dipterocarpaceae yang terancam punah, namun belum ditemui informasi penentuan waktu panen yang tepat, standar pengujian viabilitas, kadar air kritis benih serta metode konservasi *V. venulosa* yang tepat dalam upaya pelestarian plasma nutfah. Berdasarkan permasalahan tersebut, tujuan penelitian ini adalah untuk mempelajari periode perkecambahan, waktu masak fisiologi buah, kadar air kritis, serta metode konservasi embrio *V. venulosa* dengan media *woody plant medium* (WPM).

## 2. Metode

### 2.1. Waktu dan Lokasi Penelitian

Waktu pelaksanaan penelitian bulan Juli 2019-Juli 2020. Tempat pelaksanaan penelitian di Pusat Penelitian Konservasi Tumbuhan dan Kebun Raya-Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI).

### 2.2. Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan adalah benih yang berasal dari pohon *V. venulosa* di Kebun Raya Bogor yang telah berumur 15 tahun, dengan tinggi sekitar 8m (nomor koleksi vak XXIV.A.235). Pohon ini ditanam dari benih yang berasal dari Taman Nasional Berbak Jambi, Sumatra (5-20 m dpl), dan sudah mulai berbunga sejak umur 8 tahun setelah tanam. Pada penelitian ini pemanenan dilakukan pada bulan September 2019 dan Maret 2020. Alat yang digunakan adalah mikroskop binokuler Optika, *Royal Horticultural Society* (RHS) *colourchart*, *caliper digital*, timbangan analitik, pasir, air panas suhu 100°C, oven, *conductivitymeter* tipe Ezdo 6022.

### 2.3. Metode Penelitian

#### Penentuan masak fisiologi dan periode perkecambahan benih *Vatica venulosa*

Buah dan benih *V. venulosa* yang digunakan untuk penelitian karakter fisik benih dalam penentuan periode perkecambahan benih dengan cara menampung benih yang jatuh dari pohon menggunakan hamparan paranet. Buah yang jatuh dikumpulkan setiap pagi dan sore hari selama 2 hari, kemudian buah dicampur, serta dipisahkan berdasarkan warna kelopak dan pericarp benih, yang dikategorikan menjadi empat tingkat kemasakan yaitu warna hijau-hijau (96±2 hari setelah antesis (HSA)), coklat-hijau (101±3 HSA), coklat-cokelat (106±3 HSA), coklat-cokelat muda (110±3 HSA) (Widjaya et al., 2021) (Gambar 1). Antesis merupakan tahap ketika mahkota bunga *V. venulosa* beserta organ reproduksinya membuka sepenuhnya yaitu serbuk sari sampai kepala putik

ditandai dengan aroma wangi bunga dalam proses penyerbukan.

Pengunduhan buah tidak dilakukan karena buah masak pada waktu yang tidak bersamaan (secara periode) dalam satu rangkaian sehingga apabila dipanen bersamaan buah yang belum siap dipanen akan terbawa waktu panen. Pemanenan buah juga tidak dilakukan secara selektif karena posisi buah yang berada diujung ranting/ujung daun sehingga pemanenan selektif kurang memungkinkan. Buah yang telah dikumpulkan dan dipisahkan berdasarkan tingkat kemasakan selanjutnya disemai. Benih disemai pada media pasir steril dengan ukuran < 2 mm, jumlah benih yang disemai 20 benih per ulangan dan pengujian diulang empat kali. Penentuan hitungan awal dan hitungan akhir perkecambahan dilakukan setiap hari dengan cara menghitung jumlah kecambah normal selama 45 hari.

Kriteria kecambah normal yang digunakan adalah mempunyai ujung tunas sehat dan berkembang sempurna, dengan sepasang daun sejati serta memiliki akar primer dan sekunder tegak dan kuat (ISTA, 2018). Pola perkecambahan dan tipe perkecambahan benih *V. venulosa* juga dilakukan pengamatan. Peubah yang diamati dalam penentuan masak fisiologi pada karakter fisik adalah kadar air (KA), sedangkan karakter fisiologi benih adalah daya berkecambah (DB), potensi tumbuh maksimum (PTM), berat kering kecambah normal (BKKN), dan daya hantar listrik (DHL).

#### *Kadar air (KA)*

Kadar air benih dihitung menggunakan rumus (ISTA, 2018):

$$KA = \frac{M2 - M3}{M2 - M1} \times 100 \% \quad 1$$

Keterangan (*Remark*):

M1 = bobot wadah dan penutup sebelum dioven (*Weight of container and lid before oven*) (g)

M2 = bobot wadah, penutup dan benih sebelum dioven (*Weight of*

*container, lid, and seeds before oven*) (g)

M3 = bobot wadah, penutup dan benih setelah dioven (*Weight of container, lid, and seeds after oven*) (g)

**Daya berkecambah (DB)**

Daya berkecambah benih *V. venulosa* dihitung menggunakan rumus (ISTA, 2018):

$$DB = \frac{\sum KN I + \sum KN II}{\sum \text{Benih yang dikecambahkan}} \times 100 \% \quad 2$$

Keterangan (*Remark*):

KN I = jumlah kecambah normal pada hitungan awal (*number of normal seedling at the initial count*)

KN II = jumlah kecambah normal pada hitungan akhir (*number of normal seedling at the final count*)

**Potensi tumbuh maksimum (PTM)**

Potensi tumbuh maksimum dihitung berdasarkan persentase jumlah benih yang berkecambah normal dan abnormal dari

seluruh benih yang dikecambahkan dengan kriteria minimal tumbuh radikula 3 mm pada akhir pengamatan (Wawrzyniak, Michalak, & Chmielarz, 2020). PTM dihitung dengan rumus (Rusmin, Darwati, Suwarno, & Ilyas, 2016):

$$PTM = \frac{\sum \text{kecambah normal dan abnormal}}{\sum \text{benih yang dikecambahkan}} \times 100 \% \quad 3$$

**Berat kering kecambah normal (BKKN)**

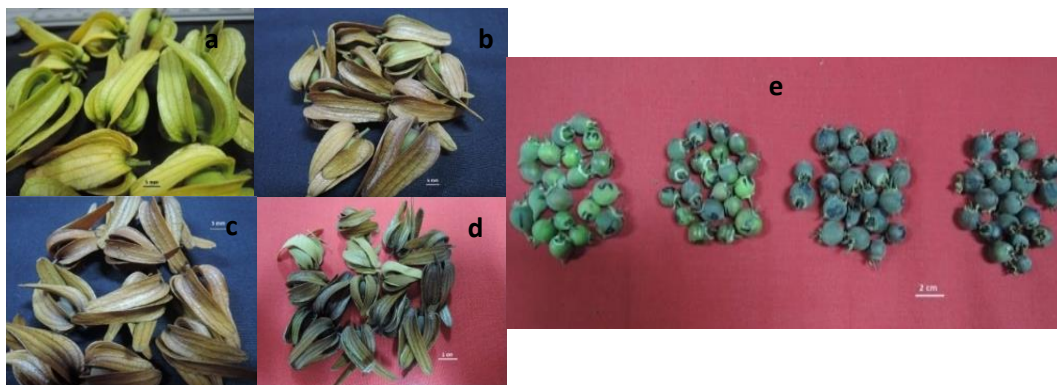
Pengukuran berat kering kecambah normal dengan cara mengeringkan seluruh kecambah normal pada hitungan pertama dan kedua menggunakan oven selama 3 x 24 jam pada suhu 60 °C (Rusmin, Darwati, Suwarno, & Ilyas, 2016), kemudian dihitung dengan rumus:

$$BKKN = M2 - M1 \quad 4$$

Keterangan (*Remark*):

M1 = Bobot amplop (*Envelope weight*) (g)

M2 = Bobot kecambah normal + amplop setelah dioven (*Normal germination weight + envelope after oven*) (g)



Gambar (*Figure*) 1. Tingkat kemasakan buah dan benih *V. venulosa* untuk pengujian perkecambahan (a= hijau-hijau, b= coklat-hijau, c= coklat-cokelat, d= coklat-cokelat muda, e= benih dengan empat tingkat kemasakan) (*Fruit and seed maturity level of V. venulosa for germination test (a = green-green, b= brown-green, c= brown-brown, d= brown-light brown, e= seed with four level of maturity)*)



### **Daya hantar listrik (DHL)**

Uji daya hantar listrik (DHL) pada benih merupakan metode pengujian untuk melihat kebocoran membran sel. Benih yang vigornya rendah mempunyai tingkat kebocoran membran yang tinggi, sehingga hasil uji nilai daya hantar listriknya tinggi. Daya hantar listrik diuji dengan modifikasi metode dari penelitian Fatonah & Rozen (2017) pada benih sorgum. Daya hantar listrik diukur dengan cara 20 butir benih dengan empat ulangan, kemudian dimasukkan ke dalam gelas piala yang berisi 100ml aquades dan ditutup dengan aluminium foil, dibiarkan selama 24 jam pada kondisi suhu sekitar  $20 \pm 2$  °C. Air untuk merendam benih adalah air aquades yang daya hantar listriknya  $< 5 \mu\text{S}/\text{cm.g}$  pada suhu 20 °C. Benih disaring dan aquades hasil perendaman benih diukur DHLnya. Nilai daya hantar listrik dihitung menggunakan rumus (ISTA, 2018):

$$\text{DHL } (\mu\text{S}/\text{cm.g}) = \frac{\text{Nilai DHL benih} - \text{DHL blanko}}{\text{Berat benih (g) setiap ulangan}} \quad 5$$

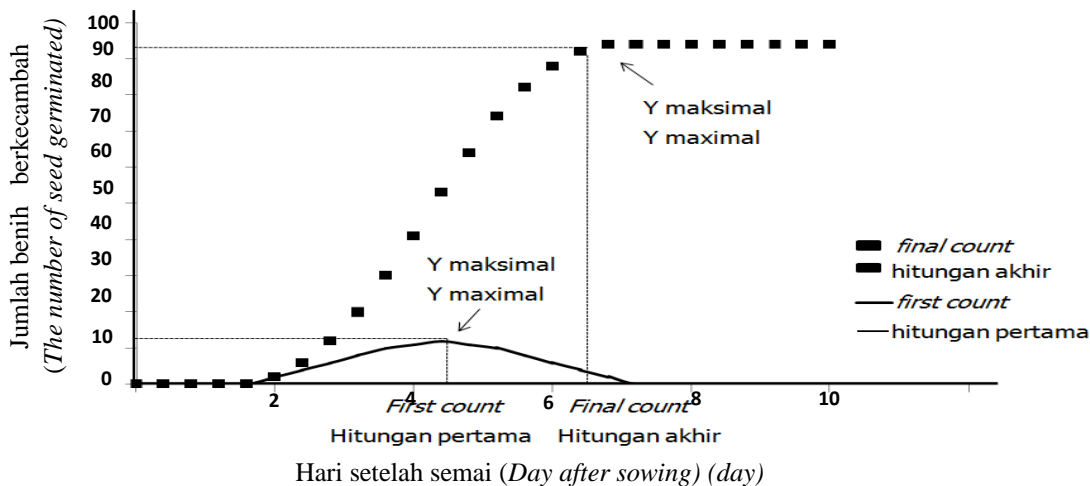
Standar penentuan periode perkecambahan diperlukan sehingga hasil pengujian perkecambahan dilaboratorium mempunyai korelasi positif dengan kenyataan di lapangan/*field emergence* (Vujosevic et al., 2018). Penentuan periode perkecambahan *V. venulosa* pada hitungan awal dan akhir perkecambahan mengadopsi metode yang telah dihasilkan Sadjad (1994), bahwa pola yang terbentuk pada kurva dilakukan analisis secara visual untuk menentukan perhitungan awal dan akhir. Kurva maksimum kecambah normal harian digunakan untuk menentukan hitungan awal perkecambahan sedangkan kurva maksimum kecambah normal kumulatif untuk menentukan hitungan akhir perkecambahan (Gambar 2).

### **Penentuan kadar air kritis benih *Vatica venulosa***

Buah dan benih *V. venulosa* yang digunakan untuk pengujian kadar air kritis menggunakan tingkat kemasakan yang

seragam yaitu dengan warna kelopak dan pericarp benih cokelat-cokelat ( $106 \pm 3$  HSA), hal ini berdasarkan hasil percobaan penentuan masak fisiologi dengan peubah daya berkecambah, potensi tumbuh maksimum, berat kering kecambah normal menunjukkan hasil yang terbaik. Metode untuk mengetahui tingkat rekalsitransi benih *V. venulosa*, kadar air kritis pada benih diukur dengan cara mengeringkan benih dalam desikator kedap udara berisi silika gel dengan kelembaban nisbi udara 55%-60% di ruang bersuhu  $18 \pm 2$  °C (Umarani, Aadhavan, & Faisal, 2015). Rancangan lingkungan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL) dan rancangan perlakuan 1 faktor yaitu lama pengeringan benih sebanyak 11 taraf: 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, dan 10 hari masing-masing empat ulangan. Total kombinasi satuan percobaan  $1 \times 11 = 11$  satuan percobaan, setiap satuan percobaan dengan empat ulangan, jadi  $11 \times 4 = 44$  unit percobaan, setiap unit percobaan 10 benih, sehingga total benih yang dibutuhkan 440 benih.

Benih yang telah diekstraksi, disimpan pada wadah (kantong kain) sesuai dengan taraf waktu pengeringan kemudian setiap waktu diukur kadar air dan diuji perkecambahannya. Menurut ISTA (2018), dalam penentuan kadar air untuk benih berukuran besar dengan menggunakan metode oven, bobot benih yang digunakan seberat 5g. Metode pengujian dilakukan pada suhu rendah  $103 \pm 2$  °C dengan waktu  $17 \pm 1$  jam. Benih dikecambahkan di media pasir steril dengan ukuran  $< 2\text{mm}$ . Peubah yang diamati pada penentuan kadar air kritis adalah kadar air (KA), daya berkecambah (DB), potensi tumbuh maksimum (PTM), berat kering kecambah normal (BKKN), dan daya hantar listrik (DHL).



Gambar (Figure) 2. Grafik hitungan awal dan hitungan akhir (Sumber: Sadjad, 1994) (Graph of initial and final counts (Source: Sadjad, 1994))

### Konservasi embrio benih *Vatica venulosa* dengan media WPM

Konservasi embrio benih *V. venulosa* secara *invitro* bertujuan untuk menyimpan benih yang mempunyai karakter rekalsitran sehingga embrio benih dapat disimpan lebih lama. Konservasi embrio benih *V. venulosa* menggunakan benih dengan tingkat kemasakan yang seragam yaitu dengan warna kelopak dan pericarp benih coklat-cokelat ( $106 \pm 3$  HSA), hal ini berdasarkan hasil percobaan penentuan masak fisiologi dengan peubah daya berkecambah, potensi tumbuh maksimum, berat kering kecambah normal menunjukkan hasil yang terbaik. Metode konservasi menggunakan WPM dengan komposisi media 2,58 g/L Lloyd & Mc Cown's Woody Plant Medium Ref WPP04-50L, 30 g/L gula, 7 g/L agar. Metode ini sering digunakan dalam kultur jaringan untuk eksplan dengan kategori tumbuhan berkayu (Lloyd & Mc Cown, 1981). Embrio ditanam di media WPM dalam botol kultur steril, kemudian hasil penanaman diletakkan dalam ruang kultur pada suhu  $18 \pm 2$  °C. Konservasi embrio dengan media WPM disusun menggunakan rancangan lingkungan rancangan acak lengkap (RAL) dan rancangan perlakuan 1 faktor yaitu

perlakuan desikasi dengan masing-masing empat ulangan. Perlakuan desikasi embrio menggunakan silika gel yang akan diujikan adalah 0, 5, dan 10 jam. Kombinasi satuan percobaan tiga satuan percobaan, setiap satuan percobaan dengan empat ulangan, sehingga diperoleh 12 unit percobaan. Setiap unit percobaan ditanam lima embrio. Total embrio yang dibutuhkan 60 embrio dengan peubah yang diamati adalah kadar air dan persentase keberhasilan embrio tumbuh.

### Kadar air (KA) embrio

Benih yang telah diekstraksi dan diambil embrionya kemudian disimpan pada wadah sesuai dengan taraf waktu pengeringan. Embrio benih selanjutnya dilakukan pengukuran kadar air dengan metode oven suhu rendah selama  $17 \pm 1$  jam dengan suhu  $103 \pm 2$  °C (ISTA, 2018).

### Persentase keberhasilan embrio tumbuh (% ET)

Persentase keberhasilan embrio tumbuh berdasarkan jumlah embrio yang tumbuh dibagi dengan jumlah embrio benih yang ditanam pada media kultur jaringan. Kriteria embrio tumbuh berdasarkan pemanjangan radikula yang mampu berkembang minimal sepanjang 3

mm (Wawrzyniak, Michalak, & Chmielarz, 2020).

**2.4. Analisis Data**

Analisis data menggunakan program MINITAB® 18.1 (© 2017 Minitab Inc) dengan uji ANOVA pada selang kepercayaan 95%. Apabila menunjukkan pengaruh nyata dilakukan uji lanjut dengan menggunakan uji Tukey.

**3. Hasil dan Pembahasan**

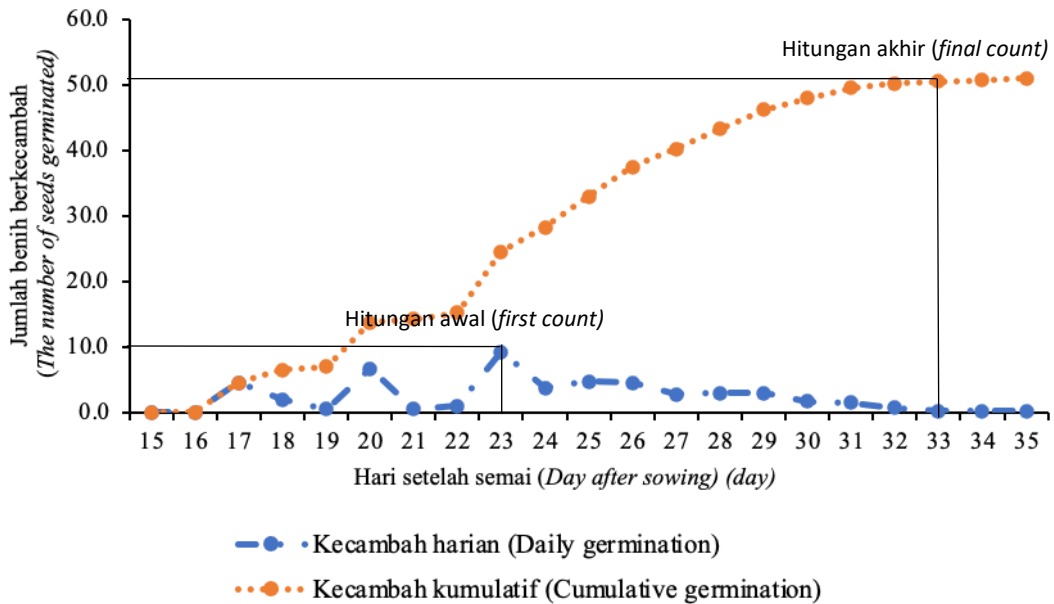
**3.1. Penentuan masak fisiologi dan periode perkecambahan benih *Vatica venulosa***

Penentuan hitungan awal benih *V. venulosa* didapatkan pada 23 hari setelah semai (HSS) dan penghitungan akhir pada 33 HSS, hal ini berdasarkan hasil analisis dengan kurva pada Gambar 3 dan Tabel 1.

Hoque, Mariam, Alam, Rahman, & Hossain (2020), mengungkapkan bahwa *Anisoptera scaphula* mulai berkecambah pada 10-15 HSS dan selesai dalam 30 HSS. Hal ini berarti benih *V. venulosa* membutuhkan waktu yang lebih lama

untuk berkecambah dibandingkan *Anisoptera* karena kriteria yang digunakan bukan kecambah normal tetapi berkecambah saja. Untuk menentukan benih berkecambah apabila radikula minimal sepanjang 3 mm dan untuk menghitung daya berkecambah didasarkan pada kecambah normal yaitu keluarnya sepasang daun dan kecambah tumbuh normal.

Pola perkecambahan *V. venulosa* pada Gambar 4 yaitu pertama benih mulai berkecambah dengan membukanya pericarp benih dan kotiledon retak membelah menjadi empat bagian, kemudian radikula muncul sepanjang minimal 3 mm pada 6 HSS (Gambar 4a2), selanjutnya hipokotil terus memanjang dan mengakibatkan kotiledon terangkat ke atas permukaan media (tipe epigeal) pada 10 HSS (Gambar 4a3). Plumula muncul dengan memperpanjang hipokotil dan epikotil pada 11 HSS (Gambar 4a4, 4a5), dan mulai berkembangnya plumula dengan membukanya daun pertama yang menandakan awal dari kecambah normal pada 17 HSS (Gambar 4a6).

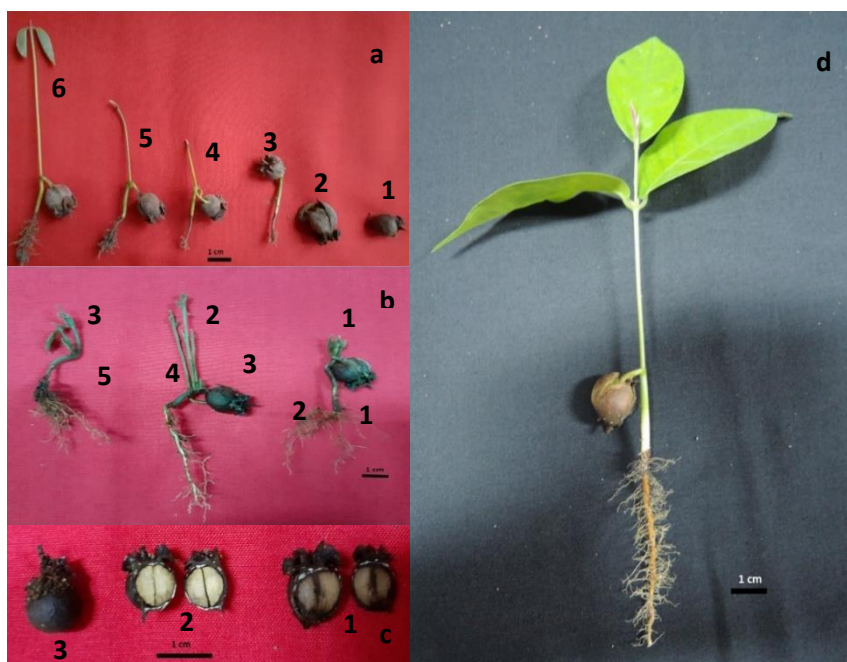


Gambar (Figure) 3. Grafik hitungan kecambah normal harian dan kumulatif perkecambahan benih *V. venulosa* (Graph of daily normal and cumulative germination count of *V. venulosa* seeds)

Tabel (Table) 1. Hasil hitungan awal dan akhir perkecambahan *V. venulosa* berdasarkan tingkat kemasakan benih (*The first and final count of V. venulosa germination based on the maturity level of the seeds*)

Tingkat Kemasakan ( <i>Maturity level</i> )	Hitungan awal ( <i>First count</i> ) ( <i>day</i> )	Hitungan akhir ( <i>Final count</i> ) ( <i>day</i> )
Hijau-hijau ( <i>Green-green</i> ) (96±2 DAA)	23	32
Cokelat-hijau ( <i>Brown-green</i> ) (101±3 DAA)	20	35
Cokelat-cokelat ( <i>Brown-brown</i> ) (106±3 DAA)	23	32
Cokelat-cokelat muda ( <i>Brown-light brown</i> ) (110±3 DAA)	23	34
Rata-rata ( <i>Average</i> )	22.3	33.3

Keterangan (*Remarks*): DAA = Hari setelah antesis (*day after anthesis*)



Gambar (Figure) 4. Pola, tipe perkecambahan benih *V. venulosa* (a1= benih dikecambahkan, a2 = radikula mulai muncul, a3 = benih terangkat, a4-a5 = plumula muncul, a6 = kecambah normal; b1-3 = kecambah abnormal; c1-3 = benih mati; d = seedling dengan kotiledon yang terbungkus pericarp benih masih menempel (*Pattern, germination type of V. venulosa seeds (a1= germinated seeds (0 DAS), a2= emerging radicle (6 DAS), a3= uplifted seeds (10 DAS), a4-a5= emerging plumules (11 DAS), a6= normal seedling (17 DAS); b1-3= abnormal seedling (45 DAS); c1-3= dead seeds (45 DAS); d= seedling with cotyledons wrapped in seed coat still attached (45 DAS)*))

Tipe perkecambahan benih *V. venulosa* yaitu epigeal karena hipokotil memanjang sehingga kotiledon terangkat ke atas permukaan media. Kecambah benih *V. venulosa* yang normal ditandai dengan akar tunggang dan serabut lurus,

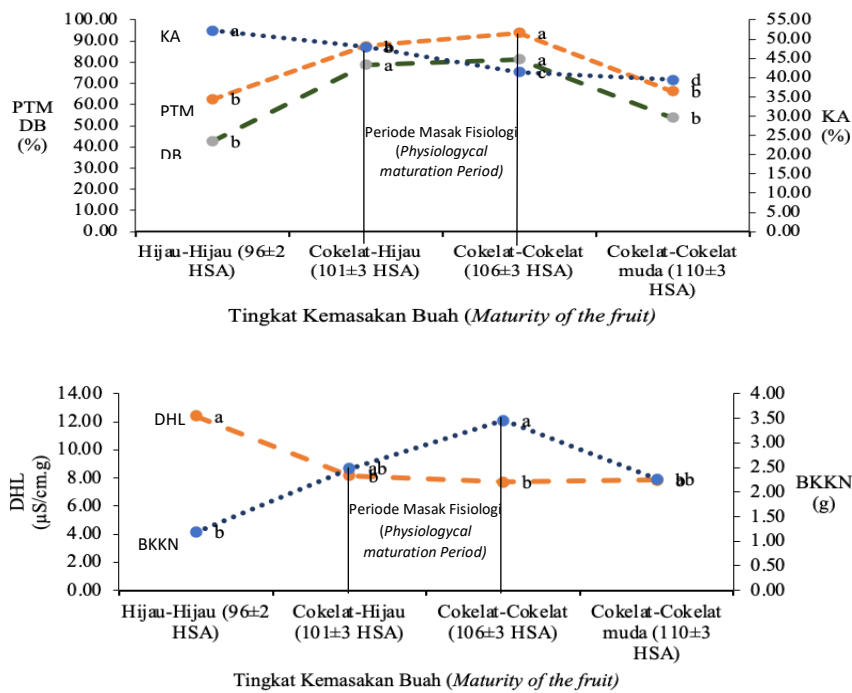
plumula lurus dan hanya satu batang, daun pertama membuka penuh tanpa adanya kelainan (Gambar 4a6, 4d). Kecambah abnormal ditandai dengan akar tunggang dan serabut membengkok, munculnya plumula lebih dari satu batang, daun



pertama tidak membuka sempurna/keriting (Gambar 4b1–3). Benih *V. venulosa* yang sampai akhir pengamatan 45 HSA tidak berkecambah dengan tanda benih masih keras, kotiledon berwarna putih kecokelatan dan setelah dibelah pada bagian tengah kotiledon berwarna kehitaman yang menandakan benih mati (Gambar 4c1–3).

Penentuan masak fisiologi benih dilakukan untuk mendapatkan benih yang mempunyai vigor maksimal, daya berkecambah maksimal sehingga diperlukan penentuan kriteria buah saat benih masak fisiologi. Tanaman *V. venulosa* mempunyai bunga dalam bentuk rangkaian malai sehingga buah masak tidak serempak, untuk itu masak fisiologi ditentukan dengan periode waktu.

Periode masak fisiologi benih *V. venulosa* tercapai pada umur  $101\pm 3$ – $106\pm 3$  hari setelah antesis (HSA) dengan ciri buah berwarna coklat-hijau sampai coklat-cokelat. Kadar air benih pada saat masak fisiologi berkisar dari 41,42–47,94%, dengan daya berkecambah 78,75–81,25%. Potensi tumbuh maksimum saat itu 87,5%–93,75% dengan berat kering kecambah normal 2,48g–3,46g dan daya hantar listrik 7,70–8,17  $\mu\text{S}/\text{cm.g}$  (Gambar 5). Lan et al. (2012) menyatakan bahwa *Hopea hainanensis* masak fisiologi pada 173 HSA dengan kadar air 39,8%, perkecambahan benih sebesar 98%. Lee et al. (2013), menyatakan bahwa benih *Hopea bilitonensis* memiliki persentase perkecambahan 88% saat masak fisiologi.



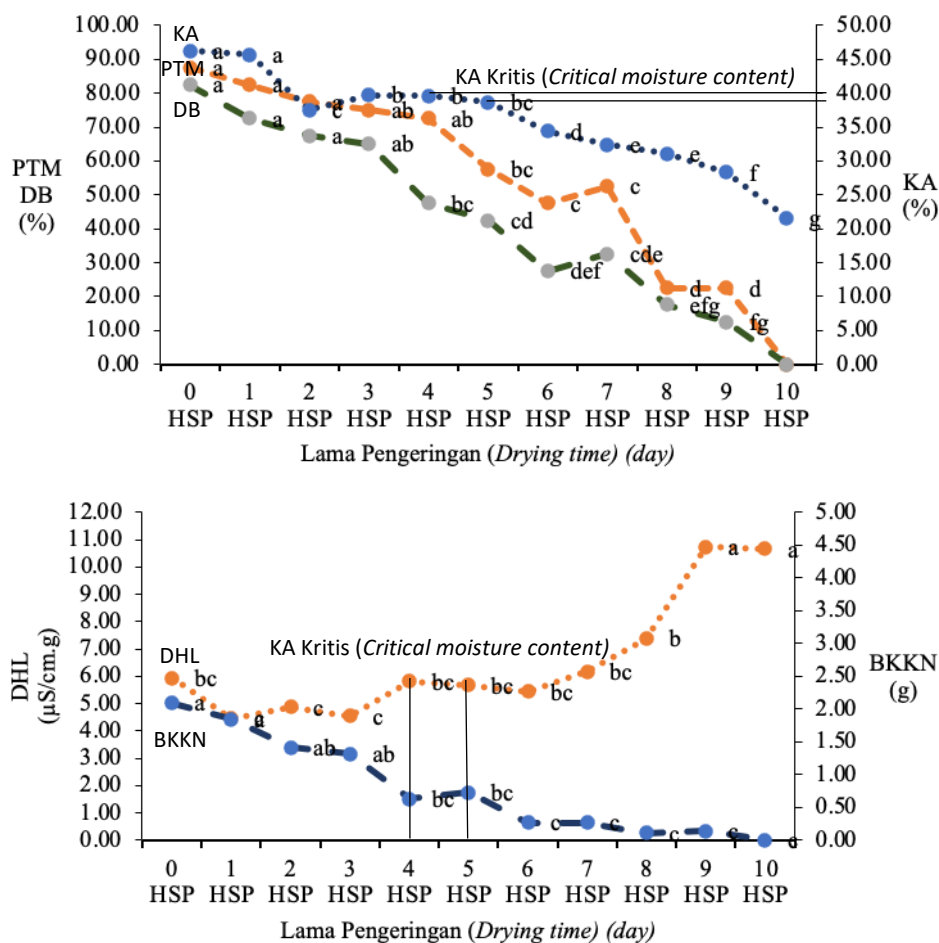
Gambar (Figure) 5. Penentuan masak fisiologi benih *V. venulosa* berdasarkan beberapa peubah pengamatan (*Physiological determination of *V. venulosa* seed maturity based on several observation variables*). Huruf yang sama pada peubah yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan Uji Tukey dengan taraf 5% (*The same letter on the same variable is not significantly different based on the Tukey test with a confidence level of 5%*) HSA = Hari setelah antesis (*day after anthesis*), KA = kadar air (*moisture content*), PTM = potensi tumbuh maksimum (*maximum growth potential*), DB = daya berkecambah (*germination capacity*), DHL = daya hantar listrik (*electrical conductivity*), BKKN = berat kering kecambah normal (*normal seedling dry weight*)

### 3.2. Penentuan kadar air kritis benih *Vatica venulosa*

*Vatica venulosa* termasuk kelompok benih rekalsitran dan mempunyai kandungan air yang tinggi saat masak fisiologi maupun setelah rontok dari pohon induk. Kadar air kritis benih *V. venulosa* ditentukan berdasarkan penurunan daya berkecambah benih.

Berdasarkan Gambar 6, kadar air kritis benih *V. venulosa* terjadi pada

pengeringan 4-5 hari dengan kadar air benih sebesar 38,63-39,59% dan daya berkecambah sebesar 42,5-47,5%. Pada tingkat kadar air tersebut nilai potensi tumbuh maksimum sebesar 57,5-72,5%, daya hantar listrik 5,67-5,81  $\mu\text{S}/\text{cm.g}$ , dan berat kering kecambah normal 0,63-0,73g. Pengeringan benih selama 10 hari menurunkan kadar air benih menjadi 21,57% yang mengakibatkan benih tidak mampu berkecambah.



Gambar (Figure) 6. Penentuan kadar air kritis benih *V. venulosa* (Determination of critical moisture content of *V. venulosa*) huruf yang sama pada peubah yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan Uji Tukey dengan taraf 5% (The same letter on the same variable is not significantly different based on the Tukey test with a confidence level of 5 %) HSA = Hari setelah antesis (day after anthesis), KA = kadar air (moisture content), PTM = potensi tumbuh maksimum (maximum growth potential), DB = daya berkecambah (germination capacity), DHL = daya hantar listrik (electrical conductivity), BKKN = berat kering kecambah normal (normal seedling dry weight)

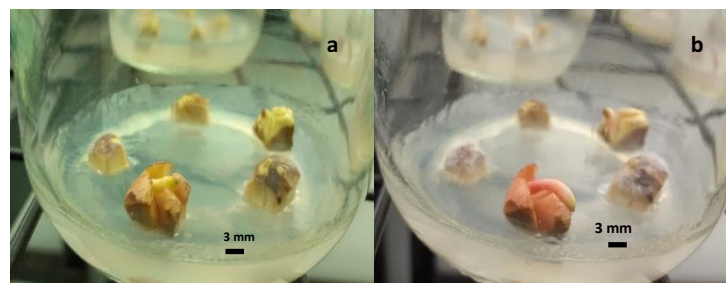
Kemunduran benih *V. venulosa* disebabkan oleh penurunan kadar air benih yang diindikasikan secara fisiologi yaitu menurunnya daya berkecambah benih. Kadar air kritis benih *Vatica chinensis* sebesar 66,67% dengan persentase perkecambahan 44,95%, disimpan selama 5 hari dengan kantong plastik tertutup suhu  $20 \pm 2^\circ\text{C}$  (Sukesh & Chandrashekar, 2013). Kadar air kritis benih *V. venulosa* (38%) setara dengan T50 daya berkecambah (42%) atau daya berkecambah setengah dari daya berkecambah maksimal agar benih masih dapat menghasilkan tanaman. Jika kriteria daya berkecambah terlalu rendah, maka tidak dapat dikategorikan sebagai benih. Kadar air kritis tercapai pada 5 hari setelah penyimpanan (HSP), oleh karena itu penyimpanan pada kondisi kedap udara menggunakan desikator dengan silika gel hanya sekitar 5 HSP, dan benih harus segera ditanam. Metode penyimpanan benih *V. venulosa* ini efektif sampai penyimpanan 5 HSP.

### 3.3. Konservasi embrio benih *Vatica venulosa* dengan media WPM

Penyimpanan embrio benih secara *invitro* merupakan metode penyimpanan benih jangka panjang yang efektif dalam konservasi benih rekalsitran karena viabilitas benih dapat dipertahankan tinggi dalam waktu lebih lama dibandingkan metode konvensional dengan menyimpan

benih utuh yang viabilitas benihnya akan cepat menurun (Phartyal, Thapliyal, Nayal, & Rawat, 2002). Penyimpanan embrio *V. venulosa* dengan media WPM menggunakan kriteria benih masak fisiologi yaitu warna kelopak dan pericarp benih coklat-cokelat ( $106 \pm 3$  HSA) dihasilkan data bahwa embrio mampu tumbuh setelah 5 hari setelah tanam (HST) dengan ciri kotiledon retak menjadi empat bagian, embrio tumbuh dengan panjang minimal 3 mm (Gambar 7). Proses regenerasi embrio yang dilakukan selama 30 hari dan hasil pengamatan dihasilkan data pada Tabel 2.

Keberhasilan tumbuh embrio yang telah diberi perlakuan desikasi selama 5-10 jam mencapai 63-70%, lebih tinggi dibandingkan tanpa desikasi. Kadar air embrio pada saat tersebut adalah 34-38%. Hal ini sesuai dengan Rahmi, Purwito, Husni, & Dinarti (2017), penelitian desikasi embrio somatik Jeruk Keprok Batu 55 yang ditumbuhkan pada media MS+arang aktif 2g/L menggunakan desikan PEG 8000 konsentrasi 2,5% selama 9 jam meningkatkan perkecambahan 90,29%, dan pertumbuhan planlet paling baik. Nadarajan, Walt, & Pathirana (2019) mengungkapkan bahwa benih *Syzygium maire* termasuk jenis rekalsitran, teknik enkapsulasi-dehidrasi menghasilkan persentase embrio hidup sebesar 30% pada media MS (Murashige and Skoog).



Gambar (Figure) 7. Embrio *V. venulosa* yang tumbuh dengan media WPM (a= kotiledon retak dan embrio tumbuh 3 mm, b= embrio tumbuh maksimal) (*V. venulosa* embryos grown with WPM medium (a= cracked cotyledons and the embryo grows 3 mm (5 DAS), b= the embryo grows maximally (15 DAS))

Tabel (Table) 2. Pertumbuhan embrio *V. venulosa* pada media WPM dengan perlakuan desikasi (*V. venulosa* embryo growth on WPM medium with desiccation treatment)

Perlakuan desikasi (Desiccation treatment)	Keberhasilan tumbuh ( <i>Success growth</i> ) (%) 30 DAS	KA ( <i>Moisture content</i> ) (%)
0 jam (0 hour)	48.75b	48.82a
5 jam (5 hour)	63.75a	38.48b
10 jam (10 hour)	70.0a	34.10c

Keterangan (*Remark*): DAS = hari setelah tanam (*day after sowing*); huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan Uji Tukey dengan taraf 5 % (*The same letter on the same column is not significantly different based on the Tukey test with a confidence level of 5 %*)

Embrio yang diregenerasi dengan media WPM dapat bertahan sampai 15 HST (hari setelah tanam) dan setelah 30 HST embrio mengalami kecokelatan karena serangan cendawan. Ketidakberhasilan regenerasi embrio *V. venulosa* dapat disebabkan beberapa hal yaitu belum tepatnya metode yang diterapkan dan kandungan fenolik yang tinggi pada benih. Hal ini sesuai dengan hasil Sudarmonowati (2000), bahwa penyebab utama kegagalan kultur jaringan suku Dipterocarpaceae seperti *Shorea pinanga*, *S. leprosula* karena kadar air benih tidak sesuai dan produksi tinggi senyawa fenolik yang merupakan racun bagi jaringan. Marzalina (2013) yang melakukan percobaan pada embrio benih *Dryobalanops oblongifolia* dengan kadar air 10-15% keberhasilan tumbuh embrio benih sebesar 15%. Ballesteros, Nebot, & Pritchard (2019), menyatakan bahwa protokol penyimpanan embrio benih dengan kultur jaringan yang diterapkan dengan penambahan antioksidan dan metode pengeringan cepat hasilnya tingkat keberhasilan viabilitas embrio benih 25-50%.

#### 4. Kesimpulan dan Saran

##### 4.1. Kesimpulan

Hitungan pertama perkecambahan (*first count*) benih *Vatica venulosa* diperoleh pada 23 hari setelah semai (HSS) dan hitungan akhir (*final count*) pada 33 HSS. Masak fisiologi benih *V. venulosa* tercapai pada umur 101±3-

106±3 hari setelah antesis (HSA) dengan ciri benih berwarna coklat-hijau sampai coklat-cokelat, kadar air benih 41,42-47,94%, pada saat ini daya berkecambah 78,75-81,25%, potensi tumbuh maksimum 87,5-93,75%, berat kering kecambah normal 2,48-3,46g, dan daya hantar listrik 7,70-8,17 µS/cm.g. Kadar air kritis benih *V. venulosa* terjadi pada saat kadar air benih 38,63%-39,59% saat daya berkecambah 42,5-47,5%, potensi tumbuh maksimum 57,5-72,5%, daya hantar listrik 5,67-5,81 µS/cm.g, dan berat kering kecambah normal 0,63-0,73 g. Benih *V. venulosa* tidak mampu berkecambah saat kadar air benih menurun drastis menjadi 21,57%. Keberhasilan tumbuh embrio setelah desikasi 5-10 jam mencapai 63-70% dengan kadar air embrio 34-38%. Konservasi embrio menggunakan WPM berhasil sampai umur 15 HST. Implikasi dari hasil penelitian ini adalah status konservasi *V. venulosa* berpotensi diturunkan mengingat daya berkecambah benih 78,75%-81,25% dan periode perkecambahan dari benih sampai bibit (2 daun pertama) selama 45 HSS; namun perlu didukung penelitian lebih lanjut mengenai periode simpan secara *invitro* serta alternatif metode konservasi benih yang memiliki tingkat rekalsitransi yang tinggi serta daya sintas bibit di alam.

##### 4.2. Saran

Hasil penelitian menunjukkan tingkat masak fisiologi benih *V. venulosa* terjadi pada saat umur 101±3-106±3 HSA



dan hanya bertahan disimpan sampai 5 HSP sehingga disarankan harus segera dilakukan pemanenan dan penyemaian benih untuk dapat mempertahankan viabilitas benih tetap tinggi.

### Ucapan Terima Kasih

Kami ucapkan terima kasih kepada Kepala Pusat Penelitian Konservasi Tumbuhan dan Kebun Raya-LIPI atas fasilitas penelitian di bank benih Millenium Seed Bank Partnerships.

### Daftar Pustaka

- Atmoko, T., Arifin, Z., & Priyono. (2011). Struktur sebaran tegakan dipterocarpaceae di sumber benih Merapit, Kalimantan Tengah. *Jurnal Penelitian Hutan dan Konservasi Alam*, 8(3), 399-413. doi: 10.20886/jphka.2011.8.4.399-413.
- Ashton, P. (1998). *Vatica venulosa*. The IUCN Red List of Threatened Species 1998: e.T33458A9785745. Diakses dari <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.1998.RLTS.T33458A9785745.en>.
- Ballesteros, D., Nebot, A., & Pritchard, H. W. (2019). Cryobiotechnology for the long-term preservation of oak (*Quercus sp.*) genetic resources. *International Society for Horticultural Society Acta Horticulturae* 1234. doi: 10.17660/ActaHortic.2019.1234.5
- Chin, H. F. (2016). Saving endangered plants through seed storage. *Utar Agriculture Science Journal*, 2(3), 57-60.
- El-Taguri, H. M. A., & Latiff, A. (2016). Ecology and distribution of *Vatica* L. (Dipterocarpaceae) in Peninsular Malaysia. *Malayan Nature Journal*, 68(3), 5-11.
- Fatonah, K., & Rozen, N. (2017). Penetapan metode uji daya hantar listrik untuk benih sorgum (*Sorghum bicolor* L.). *Jurnal Agroteknologi Universitas Andalas*, 1(1), 19-25.
- Hasnat, G. N. T., Hossain, M. K., & Hossain, M. A. (2016). Flowering fruiting and seed maturity of common plantation tree species in Bangladesh. *Journal of Bioscience and Agriculture Research*, 07(01), 583-589. doi: 10.18801/jbar.070216.70
- Hoque, M. M. U., Mariam, H., Alam, Z., Rahman, M. A., & Hossain, M. A. (2020). Effect of storage condition and duration on germination of *Anisoptera scaphula* (Roxb.) Pierre seed. *IOSR Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology*, 14(1/2), 49-53. [www.iosrjournals.org](http://www.iosrjournals.org). doi: 10.9790/2402-1401024953.
- International Seed Testing Association (ISTA). (2018). *International Rules for Seed Testing 2018*. The International Seed Testing Association (ISTA) Zurichstr 50 CH-8303 Bassersdorf, Switzerland. 298p. <https://doi.org/10.15258/istarules.2018.F>.
- Kalima, T., & Denny. (2019). Komposisi jenis dan struktur hutan rawa gambut Taman Nasional Sebangau, Kalimantan Tengah. *Jurnal Penelitian Hutan dan Konservasi Alam*, 16(1), 51-72. doi: 10.20886/jphka.2019.16.1.51-72.
- Kijak, H., & Ratajczak, E. (2020). What do we know about the genetic basis of seed desiccation tolerance and longevity? *International Journal of Molecular Science*, 21(3612), 1-21. <https://doi.org/10.3390/ijms21103612>.
- Lan, Q. Y., Luo, Y. L., Ma, S. M., Lu, X., Yang, M. Z., Tan, Y. H., Jiang, X. N., Tan, Y. P., Wang, X. F., & Li, Z. Y. (2012). Development and storage of recalcitrant seeds of *Hopea hainanensis*. *Seed Science and Technology*, 40, 200-208.

- Lee, S. L., Chua, L. S. L., Ng Kevin, K. S., Hamidah, M., Lee, C. T., Ng Chin, H., Tnah, L. H., & Hong, L. T. (2013). Conservation management of rare and predominantly selfing tropical trees: an example using *Hopea bilitonensis* (Dipterocarpaceae). *Biodiversity and Conservation*, 22, 2989-3006. doi: 10.1007/s10531-013-0566-5.
- Lloyd, G., & Mc Cown, B. (1981). Commercially feasible micropropagation of mountain laurel *Kalmia latifolia* by use of shoot tip culture. *Proceedings of the International Plant Propagator's Society*, 30, 421-427
- Marzalina, M. (2013). Diversity and conservation of tropical forestry species in Southeast Asia. Chapter 14, 317-345. dalam Normah M N, Chin H F, Reed B M. 2013. *Conservation of Tropical Plant Species*. 537p. doi:10.1007/978-1-4614-3776-5\_14.
- Nadarajan, J., Walt, K. V. D., & Pathriana, R. (2019). Assessing cryopreservation potential for recalcitrant Myrtaceae germplasm. *Plant & Food Research*, 1-2. <https://www.researchgate.net/publication/333005426>.
- Phartyal, S. S., Thapliyal, R. C., Nayal, J. S., & Rawat, M. M. S. (2002). Late maturation changes in *Sal (Shorea robusta)* seed and their evaluation as indices for proper timing of seed collection. *Journal of Tropical Forest Science*. 14(2), 191-197.
- Plants of the World Online (POWO). (2020). *Vatica venulosa* Blume. Diakses dari <http://www.plantsoftheworldonline.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:321742-1>. Royal Botanic Gardens Kew Science.
- Plant Resources of South-East Asia (PROSEA). (2019). *Vatica venulosa* Blume. Diakses dari [https://uses.plantnet-project.org/en/Vatica\\_venulosa\\_\(PROSEA\)](https://uses.plantnet-project.org/en/Vatica_venulosa_(PROSEA)).
- Rahmi, A. F., Purwito, A., Husni, A., & Dinarti, D. (2017). Embriogenesis dan desikasi embrio somatik Jeruk Keprok Batu 55 (*Citrus reticulata* Blanco.) untuk meningkatkan frekuensi perkecambahan. *Jurnal Hortikultura Indonesia*, 8(2), 79-87.
- Rohandi, A., & Widyani, N. (2011). Analisis perubahan fisiologi dan biokimia benih Tengkwang selama pengeringan. *Jurnal Penelitian Hutan Tanaman*, 8(1), 31-40.
- Rusmin, D, Darwati, I., Suwarno, F. C., & Ilyas, S. (2016). Viabilitas benih Purwoceng (*Pimpinella pruatjan*) pada berbagai perlakuan stimulasi perkecambahan. *Buletin Penelitian Tanaman Rempah dan Obat*, 27(2), 115-122. <http://dx.doi.org/10.21082/bullitro.v27n2.2016.115-122>.
- Sadjad, S. (1994). *Kuantifikasi Metabolisme Benih*. Jakarta: Grasindo.
- Sasaki, S. (2008). Physiological characteristics of tropical rain forest tree species: a basis for the development of silvicultural technology. *Proceeding of The Japan Academy, Series B Physical and Biological Sciences*, 84(2), 31-57. doi: 10.2183/pjab/84.31.
- Suharsi, T. K, Syukur, M., & Wijaya, A. R. (2015). Karakterisasi buah dan penentuan saat masak fisiologi benih beberapa genotipe cabai (*Capsicum annum* L.). *Jurnal Agronomi Indonesia*, 43(3), 207-212.
- Sukesh, & Chandrashekar, K.R. (2013). Effect of temperature on viability and biochemical changes during storage of recalcitrant seeds of *Vatica chinensis* L. *International Journal of Botany*, 9(2), 73-79.
- Sudarmonowati, E. (2000). Cryopreservation of tropical plants: current research status in Indonesia. Session, 4, 291-297 dalam Maeno, N., Hawtin, G. H. (2000).

- Cryopreservation of tropical plant germplasm. *Japan International Research Center for Agricultural Sciences; International Plant Genetic Resources Institute*, 539p.
- Umarani, R., Aadhavan, E. K., & Faisal, M. M. (2015). Understanding poor storage potential of recalcitrant seeds. *Current science*, 108(11), 2023-2034.
- Vujosevic, B., Canak, P., Babic, M., Mirosavljevic, M., Mitrovic, B., Stanisavljevic, D., & Tatic, M. (2018). Field performance of abnormal maize seedlings. *Ratarstvo i Povrtarstvo*, 55(1), 34-38.
- Wawrzyniak, M. K., Michalak, M., & Chmielarz, P. (2020). Effect of different conditions of storage on seed viability and seedling growth of six European wild fruit woody plants. *Annals of Forest Science*, 77(58), 1-20. <http://doi.org/10.1007/s13595-020-00963-z>.
- Widjaya, A. H., Suhartanto, M. R., Palupi, E. H., Latifah, D., & Hardwick, K. A. (2021). Reproductive biology of *Vatica venulosa* Blume (Dipterocarpaceae). *Biodiversitas*.