

**PERUBAHAN ANATOMI DAN KANDUNGAN OLIGOSAKARIDA PADA  
BENIH REKALSITRAN *Avicennia marina* AKIBAT PERBEDAAN  
LAJU PENGERINGAN**

*Anatomical changes and oligosaccharide content of recalcitrant seed  
Avicennia marina caused by variation of drying rate*

**Halimursyadah**

Prodi Agroteknologi Fakultas Pertanian  
Universitas Syiah Kuala Darussalam Banda Aceh

**ABSTRACT**

The objective of this study was to evaluate anatomical changes and oligosaccharide content of recalcitrant seed *Avicennia marina* at various drying rate i.e. fast, medium and slow drying. Oligosaccharide content was determined, and anatomical embryonic axes was observed at various times during desiccation. The result showed that moisture content of *A. marina* seed was 60.75-64.67% at shedding. The highest ratio of (raffinose + stachyose) / sucrose was 0.41, indicating that embryonic axes were more tolerant to desiccation than cotyledon. Anatomical observation of embryonic axes showed that there was radicle damage due to medium and slow drying treatment.

Key words: recalcitrant, oligosaccharide, drying rate, anatomical observation

**PENDAHULUAN**

Tingkat aktivitas metabolisme pada benih rekalsitran sangat tergantung pada sifat rekalsitransi yang dimilikinya. Aktivitas metabolisme pada benih rekalsitran terus berlangsung selama perkembangan benih. Pada benih sangat rekalsitran, *Avicennia marina*, aktivitas enzim respirasi terus terjadi hingga absisi (Farrant *et al.* 1988).

Benih rekalsitran memiliki kisaran kadar air yang bervariasi pada saat rontok (*shedding*) dan setelah dipanen (*post harvest*), terutama responnya terhadap desikasi. Fenomena benih rekalsitran adalah tetap aktif bermetabolisme sehingga mengakibatkan terjadinya perkecambahan di penyimpanan. Pammenter dan Berjak (2000) menyatakan bahwa ada tiga tipe

kerusakan yang terjadi bila benih dikeringkan atau diturunkan kadar airnya yaitu : (1) kerusakan mekanik yang berhubungan dengan pengurangan volume sel, (2) pada kadar air intermediate terjadinya degradasi yang didasarkan pada oksidasi aktivitas air dan ketidakteraturan metabolisme (*aqueous-based oxidative* dan *unregulated metabolism*), (3) kerusakan biofisik terhadap struktur makromolekul yang terjadi akibat hilangnya air pada kadar air rendah. Tipe kerusakan pertama hanya terjadi pada benih yang mempunyai vakuola besar seperti *A. marina*. Tipe kerusakan kedua terjadi pada kondisi dibawah normal pengeringan lambat yang dapat mengakibatkan kematian benih rekalsitran. Respon terhadap dehidrasi pada tipe ini tergantung pada aktivitas metabolisme benih dan

laju pengeringan. Ini mengakibatkan kesukaran untuk menentukan toleransi desikasi. Tipe kerusakan ketiga dapat mematikan jaringan apabila dikeringkan secara cepat.

Karbohidrat adalah salah satu golongan bahan organik utama di alam, terdapat di semua bagian bahan sel baik sebagai komponen struktur maupun komponen fungsi. Bobot kering tumbuhan secara khas terdiri dari 50-80% karbohidrat polimer selulosa bersama dengan bahan struktur sejenis. Karbohidrat sebagai tulang punggung asam nukleat, RNA dan DNA, dan merupakan gula yang memberikan cadangan energi yang diperoleh dari matahari melalui fotosintesis. Karbohidrat adalah zat yang terdiri atas polihidroksi aldehida dan keton serta turunannya. Gula yang juga dikenal sebagai sakarida, umumnya diperlakukan sebagai karbohidrat khas (Pine *et al.* 1988).

Monosakarida adalah karbohidrat yang biasanya memiliki 3-9 atom karbon. Karbohidrat yang terdiri atas dua satuan monosakarida atau lebih yang tergabung melalui ikatan glikosida digolongkan ke dalam oligosakarida. Oligosakarida terdiri atas 2-10 satuan monosakarida. Beberapa oligosakarida yang terdapat di dalam benih adalah sukrosa, rafinosa dan stakiosa. Sukrosa adalah disakarida yang terdapat bebas di alam dan banyak ditemukan dalam tumbuh-tumbuhan. Hidrolisis ikatan glikosida menunjukkan sukrosa terdiri atas D-glukosa dan fruktosa. Ukuran lingkaran satuan monosakarida glukosa ditentukan dengan pemetilan gugus hidroksil bebas yang dilanjutkan dengan penguraian oktametilsukrosa yang terbentuk, karena sukrosa disebut  $\alpha$ -D-glukopiranosil  $\beta$ -D-fruktofuranosida.

Rafinosa adalah trisakarida yang tersebar luas dalam tumbuhan,

meskipun terdapat dalam kadar rendah. Rafinosa terdiri atas masing-masing satu molekul D-galaktosa, D-glukosa, dan D-fruktosa yang tersusun sedemikian rupa sehingga galaktosa terikat pada atom karbon nomor enam sukrosa atau disebut O- $\alpha$ -Dgalaktopiranosil-(1 $\rightarrow$ 6) $\alpha$ -D-glukopiranosil  $\beta$ -D-fruktofuranosida. Rafinosa terdapat pada bit dan tepung biji kapas kira-kira 8%. Trisakarida ini tidak digunakan oleh manusia sebagai sumber karbohidrat. Stakiosa adalah tetrasakarida yang bila dihidrolisis sempurna akan menghasilkan 2 molekul galaktosa, 1 molekul glukosa dan 1 molekul fruktosa. Sedangkan pada hidrolisis parsial dapat dihasilkan fruktosa dan manotriosa (trisakarida).

Pada metabolisme karbohidrat, gula merupakan *stabilizing agent*, sukrosa terlibat dalam mencegah *liquid crystalline* menjadi transisi fase *gel*, dan oligosakarida bertindak sebagai pencegah pengaruh kristalisasi (Corbineau *et al.* 2000). Akumulasi sukrosa dan *raffinose family oligosacharide* (RFO) seperti rafinosa dan stakiosa berkorelasi dengan perkembangan tanaman dan berhubungan dengan kepekaan desikasi seperti pada benih jagung dan gandum (Black *et al.* 1996); *Brassica campestris*, kedelai, lupin dan buncis (Corbineau 1998); dan *Pisum sativum* (Corbineau *et al.* 2000). Semakin tinggi rasio (rafinosa + stakiosa)/sukrosa mengindikasikan benih semakin peka terhadap desikasi. Penurunan RFO dan peningkatan gula tereduksi berhubungan dengan hilangnya kepekaan desikasi selama perkecambahan pada beberapa spesies. Namun pada beberapa spesies lainnya seperti benih gandum yang belum masak menunjukkan akumulasi RFO tidak berkorelasi erat

dengan derajat kepekaan desikasi (Black *et al.* 1996). Penelitian pada beberapa spesies menunjukkan bahwa bila hanya sukrosa yang berperan tidak menunjukkan ketahanan terhadap dehidrasi, dan oligosakarida seperti rafinosa, stakiosa, trehalose, umbelliferose atau verbascose juga penting peranannya. Chen dan Burris dalam Black (1996) menunjukkan bahwa kandungan rafinosa 9% adalah merupakan nilai kritis, yang mana rafinosa berperan dalam stabilisasi *glassy state* yang diinduksi oleh sukrosa dan memperpanjang daya simpan benih.

Corbinea *et al.* (2000) meneliti pada benih *Pisum sativum* bahwa efek dehidrasi terhadap kepekaan desikasi berhubungan dengan kandungan oligosakarida dan bahan membran sel. Rasio (rafinosa + stakiosa)/sukrosa meningkat selama perkembangan benih dan mencapai nilai 1,1 pada axis dan 0,2 pada kotiledon. Pada pengeringan tertentu tidak menghasilkan stakiosa dan memicu peningkatan kebocoran elektrolit, menurunkan kemampuan benih mengubah 1-aminocyclopropane 1-carboxylic acid (ACC) menjadi etilen dan meningkatkan sintesa ethane, yang menunjukkan kemunduran membran sel dan lipid peroksidasi.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengamati perubahan anatomi secara mikroskopis dan analisis kandungan oligosakarida pada benih rekalsitran *Avicennia marina* yang dikeringkan dengan metode pengeringan cepat, sedang dan lambat.

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Silvikultur BIOTROP,

Bogor dan Laboratorium Pascapanen Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian, Bogor. Penelitian dimulai dari bulan April 2006 sampai dengan Agustus 2006.

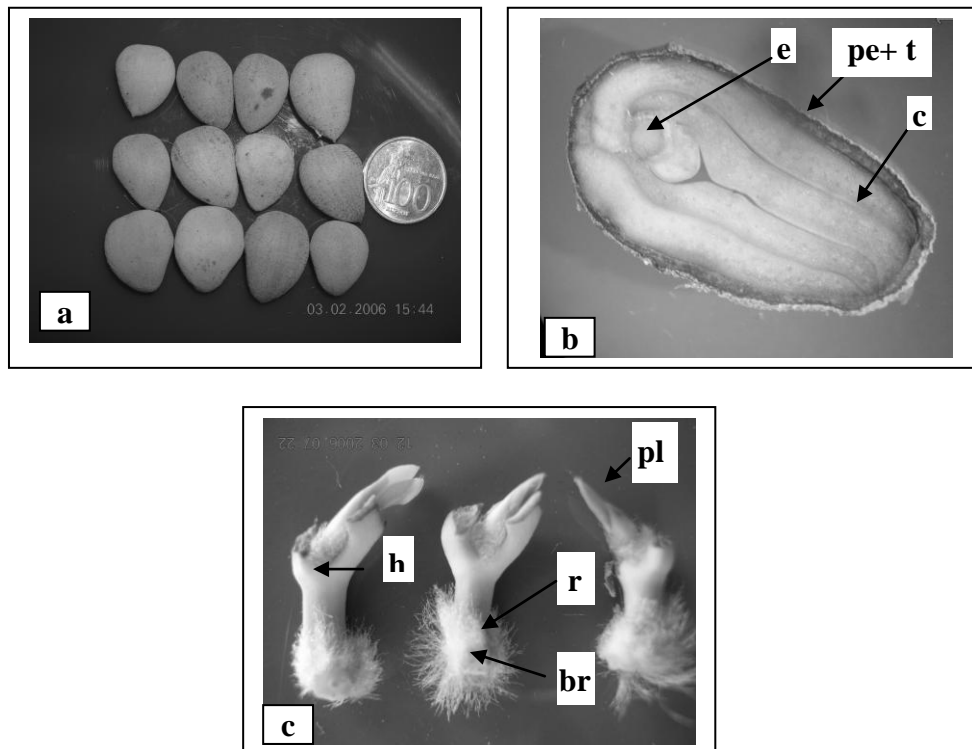
### Pengamatan Anatomi Poros Embrio

Pengambilan sampel untuk pengamatan anatomi dilakukan sebelum dan sesudah benih dikeringkan. Persiapan preparat dilakukan dengan teknik parafin, dengan tahapan sebagai berikut :

1. Poros embrio dipisahkan dari bagian benih lainnya (Gambar 1 c). Poros embrio terdiri atas plumula, hipokotil, radikula, dan bulu-bulu halus berwarna putih yang oleh Merhar *et al.* 2003 disebut "bristle".
2. Fiksasi dalam larutan FAA (formalin : asam asetat : alkohol 95% = 50 ml : 50 ml : 900 ml) untuk setiap 1 liter larutan selama 24 jam.
3. Dehidrasi dalam alkohol dengan konsentrasi 40%, 60%, 80%, 95%, dan 100% berturut-turut selama 3 x 5 menit.
4. Infiltrasi parafin secara bertahap dalam larutan xylol : parafin cair dengan perbandingan 4:0, 3:1, 2:2, 1:3, dan 0:4 dengan lama perendaman masing-masing 3 x 5 menit. Kemudian direndam dalam parafin murni selama 24 jam.
5. Pencetakan (*blocking*) dalam parafin cair, kemudian didinginkan hingga padatan parafin dapat dipotong.
6. Pemotongan (*embedding*) menggunakan mikrotom dengan ketebalan 8 mikron dan sampel diletakkan pada objek gelas yang telah diolesi albumin sebagai perekat.
7. Pewarnaan dilakukan dengan

merendam preparat dalam pelarut dan zat warna yang dimulai berturut-turut dari larutan xylol I, xylol II, alkohol : xylol, alkohol 100%, alkohol 95%, alkohol 70%, alkohol 50%, alkohol 30%, aquades, safranin, aquadestilata, toilidine blue, aquadestilata, alkohol 30%, alkohol 50%, alkohol 70%, alkohol 95%,

alkohol 100%, xylol I, xylol II, lalu tutup dengan cover glass. Perendaman masing-masing dilakukan selama 5 menit kecuali pada bahan pewarna, safranin dan toilidine blue, selama 30 menit. Pelarut bahan pewarna adalah air.



Gambar 1. (a) Buah *A. marina* yang dijadikan sebagai benih, (b) penampang melintang benih dengan bagian embrio (e), kotiledon (c) dan kulit buah terdiri atas pericarp (pe) dan testa (t), (c) embrio utuh yang telah dipisahkan dari bagian kotiledon terdiri atas plumula (pl), hipokotil (h), radikula (r) dan struktur tambahan menyerupai bulu-bulu putih yang menonjol keluar disebut dengan "bristle" (br)

Pengamatan anatomi poros embrio dilakukan menggunakan mikroskop cahaya Olympus BX 41 dengan teknik parafin (Sass 1951). Hasil pengamatan dideskripsikan dalam bentuk foto menggunakan kamera digital Konica Minolta 8 mega pixel

### Analisis Oligosakarida

Analisis oligosakarida dilakukan pada embrio dan kotiledon untuk menentukan rasio kandungan sukrosa, rafinosa dan stakiosa pada perlakuan pengeringan cepat, sedang, lambat dan kontrol. Kotiledon dan embrio diambil

kemudian masing-masing dihaluskan untuk menghasilkan sampel yang representatif. Secara random (acak) diambil 10 g untuk dihomogenisasi dengan etanol 80% selama 1 menit dalam alat homogenisasi Vitris. Suspensi yang dihasilkan dididihkan selama 15 menit, seterusnya didinginkan dan disaring dengan menggunakan kertas saring Whatman No.4. Residu dan alatnya dicuci dengan etanol 80%, sehingga akhirnya menghasilkan 100 ml larutan. Ambil 10 ml larutan untuk disaring melalui 0,45 $\mu$ m filter sebelum diinjeksikan ke dalam *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC). Untuk preparasi larutan standard gula dibuat dengan cara yang sama dengan preparasi sampel. Untuk menghasilkan standart 1 %, 1,0 g gula (A.G.) dihomogenisasi dengan etanol 80% untuk mendapatkan larutan 100 ml. Lalu disaring dan selanjutnya diinjeksikan ke dalam HPLC. Kromatograph yang

digunakan adalah Beckman seri 340 yang dilengkapi dengan pompa Model 210 dengan 20  $\mu$ l sample loop, dan detector indeks refraksi Model 156. Kolom yang digunakan berukuran 300 x 7,8 mm dengan isi Aminex HPX-87 C resin (Bio-Rad Labs., Richmond, CA), dipanaskan pada suhu 75<sup>0</sup>C. Antara injector dan kolom dipasang berturut-turut 2  $\mu$  m Rheodyne 7302 filter, 40 x 4,6 mm kartrij diisi Aminex HPX-85H resin untuk ion *exclusion guard*, dan 40 x 4,6 mm kartrij diisi Aminex A-25 resin (keduanya dari Bio-Rad Labs.). Untuk fase mobil dipakai H<sub>2</sub>O yang telah dikeluarkan gasnya dengan kecepatan 1,2 ml/menit (Adnan 1997).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Analisis oligosakarida

Hasil analisis proksimat untuk menentukan komposisi kimiawi benih *A. marina* disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi kimiawi benih *A. marina*

Sampel	Air (%)	Abu (%)	Lemak(%)	Protein (%)	Karbohidrat(%)
Sampel a*	10.44	3.62	0.40	9.80	75.72
Sampel b*	10.29	3.03	0.41	9.91	76.33
Rata-rata	10.37	3.33	0.41	9.86	76.03

\* Sampel diambil secara duplo

Hasil analisis kandungan oligosakarida pada bagian kotiledon

dan embrio benih *A. marina* disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Kandungan sukrosa, rafinosa dan stakiosa benih *A. marina* yang didesikasi menggunakan laju pengeringan cepat, sedang, dan lambat

Perlakuan	Sampel	Hasil (%)			(Ra+sta)/Su
		Sukrosa	Rafinosa	Stakiosa	
Kontrol	Kotiledon	30.61	6.48	3.25	0.32
	Embrio	30.07	1.52	2.01	0.12
Pengeringan Cepat	Kotiledon	21.36	3.22	2.96	0.29
	Embrio	19.83	3.40	4.76	0.41
Pengeringan Sedang	Kotiledon	23.23	4.60	1.71	0.27
	Embrio	20.78	3.08	2.14	0.25
Pengeringan Lambat	Kotiledon	29.81	6.16	3.12	0.31
	Embrio	19.93	3.46	1.69	0.26

Persentase sukrosa pada kotiledon dan embrio menurun pada laju pengeringan cepat, sedang dan lambat dibandingkan kontrol. Kotiledon dan embrio yang didesikasi dengan laju pengeringan cepat menghasilkan sukrosa terendah dibandingkan dengan perlakuan laju pengeringan sedang dan lambat. Hal ini menunjukkan semakin cepat laju pengeringan semakin banyak terjadinya perombakan cadangan makanan sehingga persentase sukrosa menurun. Persentase rafinosa terendah (3.22%) ditunjukkan pada benih dengan laju pengeringan cepat, sedangkan persentase stakiosa tertinggi (4.76%) ditunjukkan pada embrio pada laju pengeringan yang sama.

### Perubahan anatomi poros embrio

Pengamatan mikroskopis menggambarkan ukuran sel pada poros embrio berbeda antara kontrol dan perlakuan pengeringan cepat, sedang dan lambat. Ukuran sel dihitung menggunakan mikrometer skala  $1 \mu = 37$  bar pada perbesaran  $10 \times 40$ . Kerapatan sel dihitung berdasarkan banyaknya jumlah sel per satuan luas bidang pandang (diameter bidang pandang 370 bar atau  $10\mu$ ). Poros embrio yang terdiri atas bagian plumula, hipokotil dan radikula juga memiliki kerapatan sel bervariasi untuk setiap perlakuan benih. Poros embrio benih *A. marina* segar (kontrol) memiliki kerapatan sel lebih rendah sedikit dibandingkan yang didesikasi dengan laju pengeringan cepat, sedang dan lambat, dikarenakan volume sel lebih besar (Tabel 3)

Tabel 3. Ukuran dan kerapatan sel pada poros embrio benih *A. marina* yang didesikasi menggunakan laju pengeringan cepat, sedang dan lambat

Perlakuan	Ukuran sel ( $\mu\text{m}^2$ )			Kerapatan sel (sel / $\mu\text{m}^2$ )		
	Plumula	Hipokotil	Radikula	Plumula	Hipokotil	Radikula
Kontrol	0.52	0.92	0.70	5,36	4,54	4,42
Pengeringan cepat	0.36	0.59	0.52	6,78	5,95	4,92
Pengeringan sedang	0.13	0.30	0.23	8,13	6,18	5,39
Pengeringan lambat	0.28	0.36	0.45	7,46	6,01	5,22

Keterangan : Pengukuran dilakukan dengan perbesaran  $40 \times 10$  menggunakan mikrometer pada skala  $1 \mu = 37$  bar. Kerapatan sel dihitung berdasarkan jumlah sel per satuan luas bidang pandang (diameter bidang pandang 370 bar atau  $10\mu$ ).

Pengamatan embrio segar (kontrol) menunjukkan bahwa sel-sel radikula (R) dan tudung akar (TA) tidak rusak dan masih berada dalam keadaan yang kompak (Gambar 2a). Ada indikasi bahwa plumula (P) sudah mengalami pemanjangan dan pertumbuhan yang menandakan

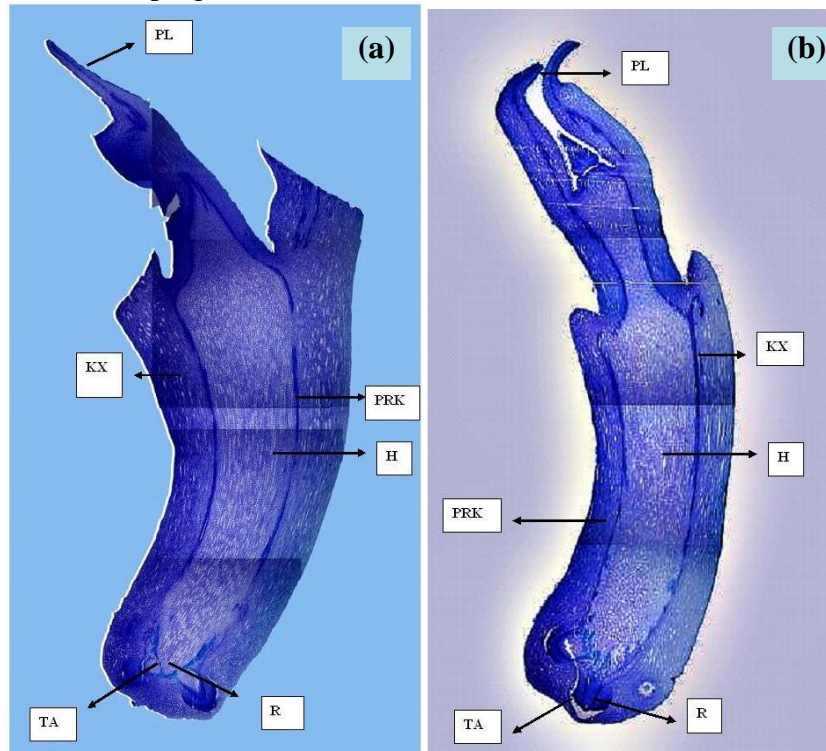
terjadinya proses perkecambahan. Jaringan korteks (KX) terlihat kontras yang menandakan materi di dalam sel baik. Jaringan pith (stele) sebagai sel penyusun hipokotil masih utuh dan kompak menunjukkan perkembangan yang baik untuk pertumbuhan hipokotil (H). Pada prokambium

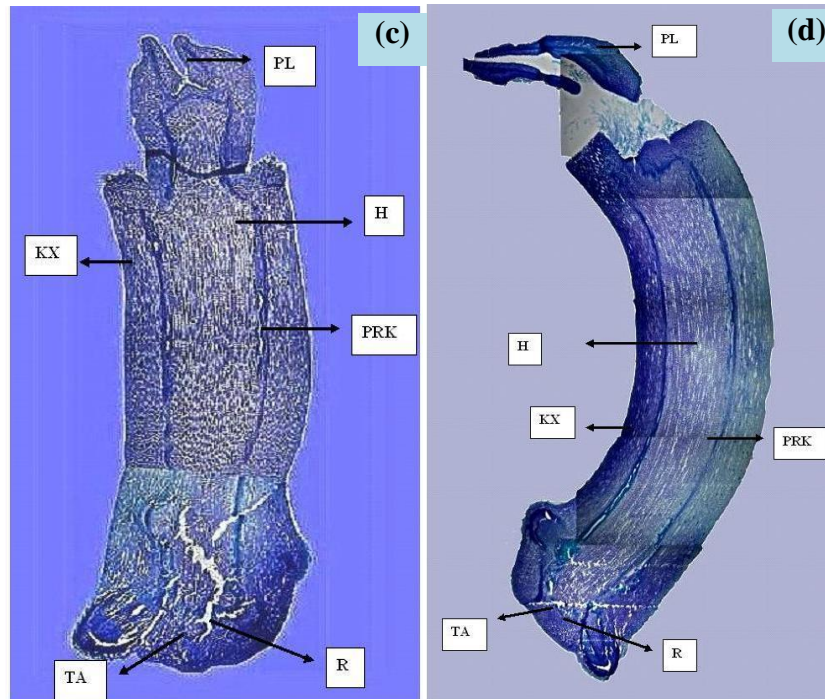
(PRK) terlihat utuh sebagai sel-sel yang mengendalikan pertumbuhan ke samping.

Embrio *A. marina* yang diberi perlakuan pengeringan cepat sel radikula (R) mengalami pemanjangan yang menunjukkan terjadi proses perkecambahan. Jaringan korteks (KX) masih terlihat kontras yang menandakan materi di dalam sel baik. Jaringan pith (stele) sebagai sel penyusun hipokotil masih utuh dan kompak menunjukkan perkembangan yang baik untuk pertumbuhan hipokotil (H). Pada prokambium (PRK) terlihat masih utuh sebagai sel-sel yang mengendalikan pertumbuhan kesamping. Demikian

juga pada jaringan tudung akar (TA) masih baik berupa lapisan proteksi untuk radikula agar tidak rusak (Gambar 2b).

Pada perlakuan pengeringan sedang embrio terlihat mengalami kerusakan yang parah ditandai dengan sel-sel penyusun embrio terlihat banyak yang kosong. Radikula (R) dan tudung akar (TA) mengalami keretakan. Pertumbuhan plumula (P) tampak terhambat. Sel penyusun hipokotil yang terdiri dari jaringan stele terlihat banyak yang berongga menunjukkan perkembangan hipokotil (H) akan terhambat juga (Gambar 2c).





Keterangan : PL = plumula, H = hipokotil, PRK = prokambium, R = radikula, TA = tudung akar dan KX = korteks

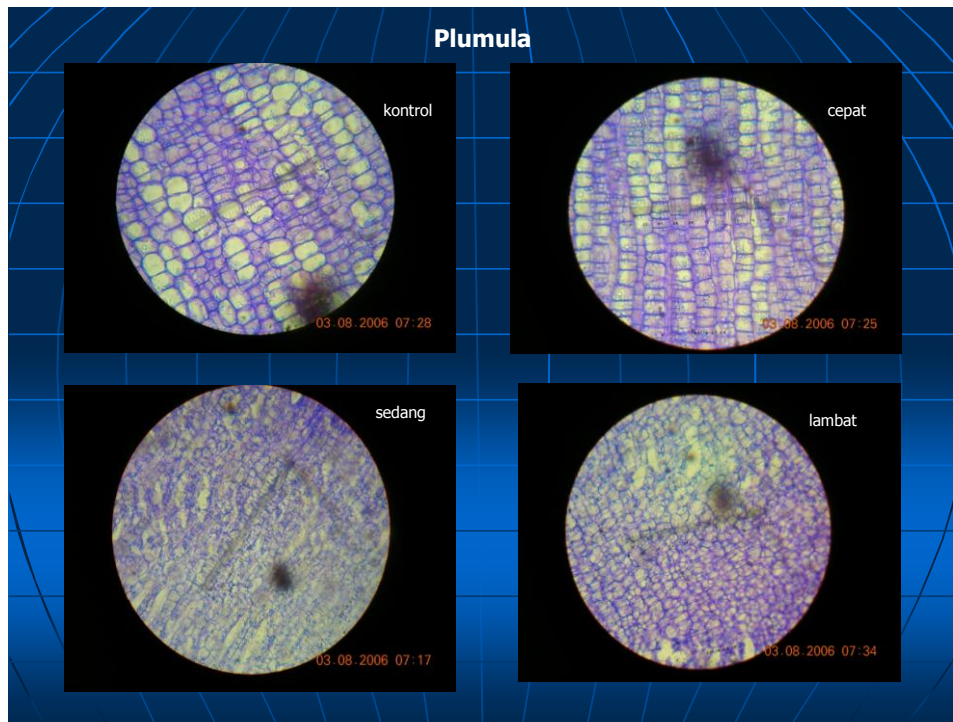
Gambar 2 . Penampang melintang poros embrio benih *A. marina* (a) tanpa pengeringan (kontrol), (b) dengan pengeringan cepat, (c) pengeringan sedang, dan (d) pengeringan lambat

Embrio yang diberi perlakuan pengeringan lambat terlihat mengalami kerusakan dan sebagian sel-sel penyusun embrio terlihat kosong. Radikula (R) dan tudung akar (TA) juga mengalami keretakan yang berpotensi untuk tumbuh menjadi kecambah abnormal. Perkembangan plumula (P) tampak terhambat. Sel penyusun hipokotil

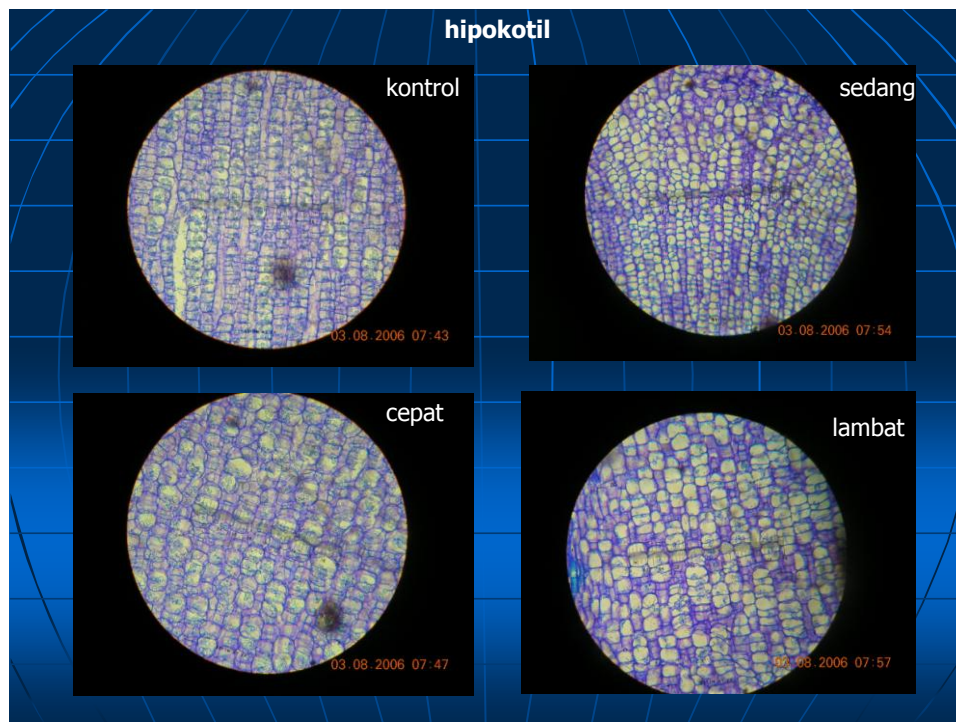
yang terdiri dari jaringan stele masih berkembang baik hanya bagian korteks sudah terlihat mengalami perenggangan dengan tengah hipokotil (Gambar 2d).

Secara detail untuk masing-masing sel penyusun poros embrio yaitu sel-sel pada bagian plumula, hipokotil dan kotiledon disajikan pada Gambar 3, 4 dan 5.

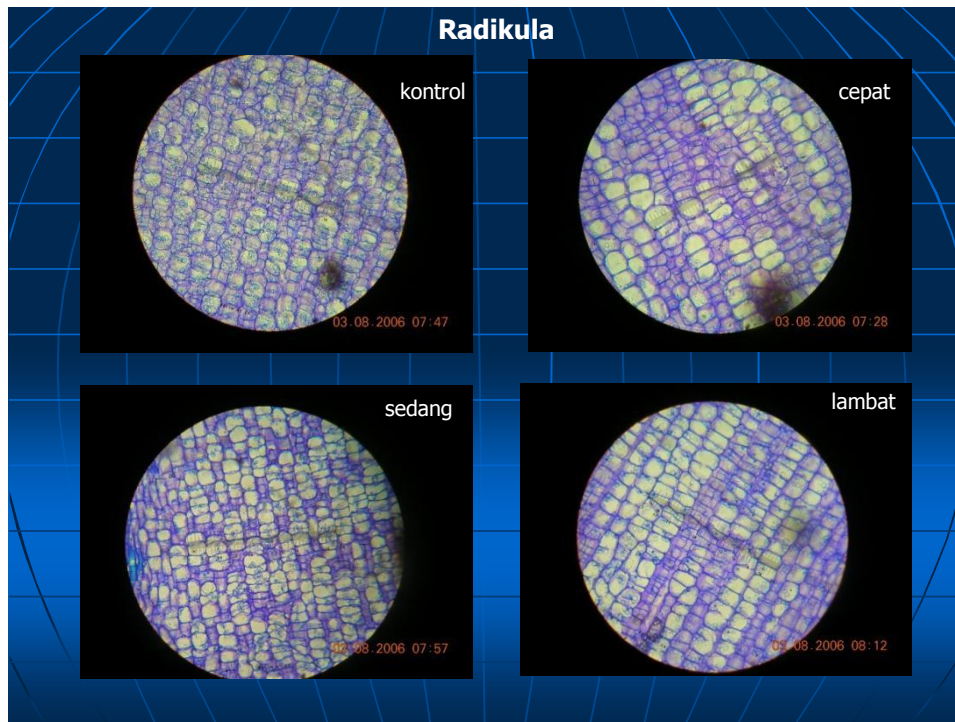




Gambar 3. Sel-sel penyusun plumula pada poros embrio *A. marina* segar dan yang didesikasi dengan laju pengeringan cepat, sedang dan lambat



Gambar 4. Sel-sel penyusun hipokotil pada poros embrio *A. marina* segar dan yang didesikasi dengan laju pengeringan cepat, sedang dan lambat



Gambar 5. Sel-sel penyusun radikula pada poros embrio *A. marina* segar dan yang didesikasi dengan laju pengeringan cepat, sedang dan lambat

Kandungan oligosakarida pada benih rekalsitran juga mempengaruhi kepekaannya terhadap desikasi. Persentase sukrosa pada kotiledon dan embrio menurun pada laju pengeringan cepat, sedang dan lambat dibandingkan kontrol. Kotiledon dan embrio yang didesikasi dengan laju pengeringan cepat menghasilkan sukrosa terendah dibandingkan dengan perlakuan laju pengeringan sedang dan lambat. Hal ini menunjukkan semakin cepat laju pengeringan semakin banyak terjadinya perombakan cadangan makanan sehingga persentase sukrosa menurun. Persentase rafinosa terendah (3.22%) ditunjukkan pada benih dengan laju pengeringan cepat, sedangkan persentase stakiosa tertinggi (4.76%) ditunjukkan pada embrio pada laju pengeringan yang sama. Ini berarti bahwa gula-gula tersebut mulai dirombak untuk kebutuhan pertumbuhan poros embrio.

Menurut Pammenter dan Berjak (1999) gula disakarida seperti sukrosa dan oligosakarida seperti rafinosa dan stakiosa berperan sebagai *stabilizing agent*. Kehadiran gula sangat penting untuk menstabilkan membran, protein dan makro molekul lainnya. Gula-gula terlarut dapat menggantikan air di sekitar hidrofilik (polar) dan gugus-gugus fosfolipid membran, sehingga mencegah kebocoran membran. Mekanisme lain dari gula adalah melindungi sel selama desikasi dengan membentuk *intra celular glass*, dimana larutan menjadi pekat selama pengeringan sehingga difusi air dihalangi (Kraak dalam Adimargono 1997).

Rasio (rafinosa+stakiosa)/sukrosa tertinggi (0.41) terdapat pada embrio yang didesikasi dengan laju pengeringan cepat. Ini mengindikasikan semakin cepat penurunan kadar air pada embrio maka ketahanan desikasinya semakin tinggi dibandingkan dengan

embrio yang didesikasi dengan pengeringan sedang dan lambat dengan nilai rasio (rafinosa+stakiosa)/sukrosa masing-masing 0.25 dan 0.26. Sedangkan pada kotiledon rasio (rafinosa+stakiosa)/sukrosa tertinggi berada pada kontrol (0.32), dan setelah desikasi dengan pengeringan cepat, sedang dan lambat berturut-turut 0.29, 0.27, dan 0.31. Ini juga menunjukkan bagian kotiledon lebih sensitif terhadap penurunan kadar air dibandingkan bagian embrio.

Pada pengamatan mikroskopis memperlihatkan bahwa ukuran sel mengalami penurunan dan terjadi peningkatan kerapatan sel-sel penyusun poros embrio akibat dari laju pengeringan. Pada daerah radikula, ukuran sel tertinggi ( $0.70 \mu\text{m}^2$ ) terdapat pada sebelum desikasi (kontrol) dan selanjutnya terjadi penurunan ukuran sel akibat desikasi dengan laju pengeringan cepat, sedang dan lambat berturut-turut  $0.52$ ,  $0.23$  dan  $0.45 \mu\text{m}^2$ . Kerapatan sel pada daerah hipokotil juga meningkat akibat desikasi dengan laju pengeringan cepat, sedang dan lambat berturut-turut  $5.95$ ,  $6.18$ , dan  $6.01 \text{ sel}/\mu\text{m}^2$  dibandingkan kontrol ( $4.54 \text{ sel}/\mu\text{m}^2$ ). Pammenter dan Berjak (2000) menyatakan *A. marina* adalah spesies sangat sensitif dengan ukuran vakuola yang besar dan berisi cadangan makanan sebagai gula terlarut, sedangkan pada spesies toleran desikasi vakuola berisi cadangan makanan tidak dapat larut. Ini yang menyebabkan vakuola pada benih *A. marina* mudah mengalami penyusutan yang ditandai dengan penurunan ukuran sel dan peningkatan kerapatan sel akibat desikasi pada laju pengeringan cepat, sedang dan lambat. Faktor lain yang diduga mempengaruhi penurunan ukuran sel adalah *A. marina* digolongkan ke dalam benih dengan

tingkat hidrasi IV-V dengan kadar air tinggi dengan kandungan air bebas yang tinggi pula. Penghilangan air bebas juga ikut mempengaruhi penurunan ukuran sel dan peningkatan kerapatan sel. Smith (2001) meneliti pada benih rekalsitran *Artocarpus heterophyllus* Lamk. memiliki ukuran sel yang tinggi pada keadaan segar (*fully hydrated*) dan pengeringan cepat dibandingkan pengeringan lambat.

Kerusakan dapat dilihat pada pengeringan sedang dan lambat ditandai dengan sel-sel yang kosong disepanjang poros embrio (Gambar 2c dan 2d). Pammenter dan Berjak (1999) menyatakan bahwa kerusakan mekanis dapat terjadi sehubungan dengan berkurangnya volume sel. Hal ini jelas terlihat pada benih rekalsitran yang sangat lembab dengan vakuola yang besar. Kerusakan terlihat pada bagian radikula yang memungkinkan menghasilkan kecambah abnormal. Kerapatan sel juga meningkat pada pengeringan lambat dan sedang dibandingkan pengeringan cepat dan kontrol.

Sedangkan pengamatan selluler secara keseluruhan terhadap poros embrio menunjukkan kerusakan yang paling parah adalah pada pengeringan sedang ditandai dengan keretakan pada bagian radikula dan sepanjang sel-sel penyusun hipokotil juga mengalami kekosongan rongga sel. Diduga kerusakan pada pengeringan sedang ini tidak hanya disebabkan oleh penurunan kadar air saja, tetapi pada kondisi benih yang dikeringkan dalam wadah tertutup mengakibatkan terjadinya fermentasi yang menghasilkan uap etil alkohol yang merusak sebagian dari jaringan pada poros embrio.

## KESIMPULAN DAN SARAN

1. Rasio (rafinosa + stakiosa)/sukrosa tertinggi (0.41) berada pada poros embrio dengan perlakuan pengeringan cepat.
2. Secara anatomis terjadi kerusakan daerah radikula pada poros embrio akibat laju pengeringan sedang dan lambat yang menjadi salah satu sebab timbulnya kecambah abnormal. Desikasi menyebabkan pengurangan luasan sel dan terjadi peningkatan kerapatan sel. Pada pengeringan sedang dan lambat intensitas sel yang kosong meningkat dibandingkan kontrol dan pengeringan cepat.
3. Perlu analisa oligosakarida sesuai dengan perkembangan dan pematangan benih untuk mendapatkan rasio (rafinosa+stakiosa)/sukrosa sebagai indikasi kepekaan terhadap desikasi.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adimargono S. 1997. Recalcitrant Seeds. Identifications and Storage. Larenstein International Agric Collage. Deventer.
- Adnan M. 1997. Teknik kromatografi untuk analisa bahan makanan. Yogyakarta: Andi
- Black M, Corbineau F, Grzesik M, Guy P, Come D. 1996. Carbohydrate metabolism in the developing and maturing wheat embryo in relation to its desiccation tolerance. *J Exp Bot* 147. 295 : 161 – 169.
- Corbineau F, Picard MA, Fougereaux JA, Ladonne F, Come D. 2000. Effect of dehydration condition on desiccation tolerance of developing pea seeds as related to oligosaccharide content and cell membrane properties. *Seed Sci Res* 10: 329 – 339
- Farrant JM, Pammenter NW, Berjak P. 1988. Recalcitrant a current assessment. *Seed Sci Technol* 16 : 155-166.
- Merhar VSA, Calistru C, Berjak P. 2003. A study of some biochemical and histopathological responses of wet-sored recalcitrant seed of *Avicennia marina* infected by *Fusarium moniliforme*. *Ann Bot* 92 : 401 – 408
- Pammenter NW, Berjak P. 1999. A review of recalcitrant seed physiology in relation to desiccation tolerance mechanism. *Seed Sci Res* 9 : 13 - 37.
- Pammenter NW, Berjak P. 2000. Aspect of Recalcitrant Seed Physiology. *R Brass Fisiol Veg* 12 : 56 - 69.
- Pine SH, James BH, Donald JC, George SH. 1988. Kimia Organik. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Sass JE. 1951. Botanical Micro Technique. Second Edition. USA: The Iowa State College Pr.
- Smith, JW, NW Pammenter, P Berjak dan C. Walters. 2001. The Effect of Two Drying Rates on the Desiccation Tolerance of Embryonic Axes of Recalcitrant Jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lamk.)Seeds. *Ann Bot* 88: 653-664.