

# PENGARUH STRATIFIKASI SUHU RENDAH DAN KRIOPROTEKTAN TERHADAP VIABILITAS BENIH ROSELA (*Hibiscus sabdariffa* L.)

Dede Suhendra

Program Studi Agroteknologi, Sekolah Tinggi Ilmu Pertanian Labuhanbatu

Email : [desu.300392@gmail.com](mailto:desu.300392@gmail.com)

## ABSTRACT

The objective of the research was to know effect of treatment low temperature and cryoprotectants, and combination to seed viability of rosele. The research was conducted at the Seed Technology Laboratory, Agriculture Faculty, University of Sumatera Utara, Medan with height  $\pm$  25 meters above sea level, in January to February 2014, using a randomized block design with 4 level low temperature stratification and cryoprotectants treatment as well combination and control. Parameters observed were moisture content seed (%), germination rate (day), germination normal (%), abnormal sprouts (%), seeds die (%), vigor index (%), wet weight of sprouts (g), dry weight of sprouts (g). The results showed that rosele seed viability using provision cryoprotectants and cooling rate  $-5^{\circ}\text{C}$  the best result in treatments other.

Keywords: seed rosele, low temperature stratification, cryoprotectans

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Saat ini rosele (*Hibiscus sabdariffa* L.) menjadi begitu populer karena hampir di setiap pameran tanaman obat, nama rosele selalu diperkenalkan. Rosele memiliki kandungan senyawa kimia yang dapat memberikan banyak manfaat atau khasiat, antara lain mengobati gangguan berbagai penyakit dengan kandungan *gossiptin anthocyanin* dan *gluciside hibiscin* yang terdapat di dalamnya. Salah satu upaya pengembangan rosele adalah dengan memperbanyak benih.

Saat ini permasalahan yang dialami pada memperbanyak benih adalah dalam hal penyimpanan. Koleksi plasma nutfah yang utama di dunia adalah berupa benih, karena menyimpan benih merupakan cara yang paling efisien untuk konservasi dalam jumlah besar (Mardiah, dkk., 2009). Dengan benih juga dapat memudahkan pendistribusian plasma nutfah. Kebutuhan dasar yang diperlukan dalam penyimpanan plasma nutfah ini adalah suhu serendah mungkin dan kadar air benih dalam keseimbangan dengan kelembaban relatif. Banyak benih yang perlu dikenai temperatur tertentu yakni temperatur rendah sebelum dapat diletakkan di temperatur yang cocok untuk perkecambahannya (Sutopo, 1998).

Cara yang sering dipakai dengan memberi temperatur rendah pada keadaan yang lembab disebut stratifikasi. Selama stratifikasi terjadi sejumlah perubahan dalam benih yang berakibat hilangnya bahan-bahan penghambat pertumbuhan atau terjadi pembentukan bahan-bahan yang merangsang pertumbuhan. Dalam hal ini, stratifikasi digunakan pada tahap perlakuan perendaman benih pada suhu rendah yang merupakan salah satu alternatif dalam hal penyimpanan benih yang baik (Sutopo, 1998).

Faktor yang menentukan keberhasilan kriopreservasi bergantung pada teknik yang diterapkan yakni pada teknik pembekuan cepat. Untuk teknik pratumuh, keberhasilan ditentukan oleh jenis dan komposisi krioprotektan dalam media tumbuh. Untuk teknik vitrifikasi, enkapsulasi-vitrifikasi dan droplet freezing, keberhasilan ditentukan oleh jenis, konsentrasi dan lama perendaman dalam krioprotektan (Windiastika, 2013).

Selama penyimpanan viabilitas benih rosele sangat dipengaruhi oleh kadar air benih, suhu dan kelembaban nisbi ruangan. Kadar air benih merupakan salah satu faktor yang sangat mempengaruhi benih dalam penyimpanan. Kadar air benih yang tinggi pada benih ortodoks (seperti benih rosele) dapat menyebabkan terjadinya penurunan viabilitas benih (Sa'diyah, 2009).

## 1.2 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh perlakuan suhu rendah, krioprotektan, kriopreservasi dan kombinasinya terhadap viabilitas benih rosela.

## BAHAN DAN METODE

### 2.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Teknologi Benih Fakultas Pertanian Universitas Sumatera Utara, Medan dengan ketinggian  $\pm$  25 meter di atas permukaan laut, mulai bulan Januari sampai Februari 2014.

### 2.2 Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah benih rosela sebagai bahan pengamatan perkecambahan, PVS2 (DMSO, gliserol, etilen glikol dan sukrosa) sebagai krioprotektan, pasir, aquades dan air. Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah, lemari pembeku (freezer), bak kecambah, meteran, botol-botol plastik, timbangan analitik, beaker glass, batang pengaduk, oven, handsprayer, gunting, karung goni, label, ember, pisau, termometer, kalkulator, kamera dan alat tulis.

### 2.3 Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan acak kelompok dengan 4 taraf perlakuan yakni kontrol, PVS2 sebagai krioprotektan direndam selama 2 jam, suhu  $-5^{\circ}\text{C}$  disimpan selama 1 jam, dan kombinasi antara perlakuan tersebut dengan 3 ulangan. Data yang berpengaruh nyata setelah dianalisis, dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan dengan taraf 5 %.

### 2.4 Prosedur Penelitian

Pelaksanaan penelitian dimulai dengan mempersiapkan benih dengan cara dipanen biji yang sudah matang fisiologis selanjutnya dilakukan penyimpanan benih dengan cara dikering anginkan terlebih

dahulu lalu dimasukkan ke dalam desikator untuk menurunkan kadar airnya lalu dilakukan pengukuran kadar air benih awal sebelum aplikasi, setelah itu dilakukan aplikasi perlakuan, membuat larutan krioprotektan PVS2 dengan cara mencampurkan 30 ml gliserol + 15 ml DMSO + 15 ml etilen glikol dalam media dasar sukrosa ( $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$ ) 0,4 M yang mempunyai massa relatifnya 342 didapat berat sukrosanya 5,47 g untuk dilarutkan dengan aquades sebanyak 40 ml, lalu didapat larutan (PVS2) sebagai krioprotektan sebanyak 100 ml dan benih direndam selama 2 jam, lalu dilakukan laju pendinginan dengan cara benih dimasukkan ke dalam freezer pada suhu  $-5^{\circ}\text{C}$  selama 1 jam sesuai urutan perlakuannya yakni: (P0) sebagai kontrol, (P1) benih rosela direndam dalam larutan krioprotektan (PVS2) selama 2 jam., (P2) benih rosela disimpan dalam freezer hingga  $-5^{\circ}\text{C}$  selama 1 jam. (P3) benih rosela direndam dalam larutan krioprotektan (PVS2) selama 2 jam, kemudian disimpan dalam freezer hingga  $-5^{\circ}\text{C}$  selama 1 jam. Selanjutnya dilakukan imbibisi untuk memicu perkecambahan benih dan dilakukan pengecambahan di bak perkecambahan dan setelah itu dilakukan pemeliharaan selama pengamatan berlangsung.

Parameter yang diamati adalah kadar air benih (%), laju perkecambahan (hari), kecambah normal (%), kecambah abnormal (%), benih mati (%), indeks vigor (%), bobot basah kecambah (g), bobot kering kecambah (g).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengamatan diketahui bahwa perlakuan stratifikasi suhu rendah dan krioprotektan berpengaruh nyata terhadap parameter pengamatan kadar air benih (%), kecambah normal (%), kecambah abnormal (%), indeks vigor (%), bobot basah (g) dan bobot kering (g). Tetapi tidak berpengaruh nyata terhadap parameter pengamatan laju perkecambahan (hari) dan benih mati (%).

Tabel 1. Kadar air benih pada perlakuan stratifikasi suhu rendah dan krioprotektan

Perlakuan	Kadar air (%)
P0 (Kontrol)	10,71 c
P1 (Krioprotektan 2 jam )	14,38 a
P2 (-5°C 1 jam)	11,54 b
P3 (Krioprotektan 2 jam + -5°C 1 jam)	14,02 a

Keterangan : Angka-angka yang diikuti notasi yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata menurut Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf 5 %.

Kadar air benih yang tertinggi terdapat pada perlakuan perendaman dengan krioprotektan selama 2 jam (P1) yaitu 14,38 % dan kadar air terendah terdapat pada perlakuan kontrol (P0) 10,71 (Tabel 1).

Perlakuan stratifikasi suhu rendah dan krioprotektan lainnya yang tidak menggunakan krioprotektan tidak menunjukkan kenaikan kadar air benih yang terlalu tinggi, sedangkan pada perlakuan yang menggunakan krioprotektan dapat menaikkan kadar air benih secara signifikan. Dalam hal ini krioprotektan merupakan senyawa kimia berbentuk cair yang cepat masuk ke dalam benih sehingga meningkatkan kadar air benih

yang berfungsi sebagai pelindung, yang digunakan untuk teknik kriopreservasi yang mana penggunaan krioprotektan bertujuan untuk melindungi benih pada suhu dibawah titik beku. Pada proses kerjanya krioprotektan dengan cepat masuk ke dalam sel dan melindungi sel tersebut. Fitriyatmi (1996) menyatakan bahwa penggunaan krioprotektan pada penyimpanan dengan suhu rendah ditunjukkan untuk mengurangi kerusakan akibat terbentuknya kristal - kristal es. Krioprotektan yang digunakan memiliki sifat-sifat mencegah air, menjadi pelarut bagi elektrolit dan memiliki sifat dapat masuk ke dalam sel dengan cepat.

Tabel 2. Laju perkecambahan pada perlakuan stratifikasi suhu rendah dan krioprotektan

Perlakuan	Laju perkecambahan (hari)
P0 (Kontrol)	2,03
P1 (Krioprotektan 2 jam )	2,07
P2 (-5°C 1 jam)	2,06
P3 (Krioprotektan 2 jam + -5°C 1 jam)	2,04

Laju perkecambahan tercepat terdapat pada perlakuan kontrol (P0) sebesar 2,03 hari dan laju perkecambahan terlama terdapat pada

perlakuan perendaman dengan krioprotektan selama 2 jam (P1) sebesar 2,07 hari (Tabel 2).

Tabel 3. Kecambah normal dan abnormal pada perlakuan stratifikasi suhu rendah dan krioprotektan

Perlakuan	Kecambah normal (%)	Kecambah abnormal (%)
P0 (Kontrol)	95,33 ab	1,33 c
P1 (Krioprotektan 2 jam )	89,33 b	8,67 c
P2 (-5°C 1 jam )	96,67 ab	3,33 c
P3 (Krioprotektan 2 jam + -5°C 1 jam )	99,33 a	0,67 c

Keterangan : Angka-angka yang diikuti notasi yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata menurut Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf 5 %.

Kecambah normal tertinggi terdapat pada perlakuan perendaman dengan krioprotektan kemudian disimpan pada suhu -5°C selama 1 jam (P3) yaitu 99,33 % dan

kecambah normal terendah terdapat pada perlakuan perendaman dengan krioprotektan selama 2 jam (P1) sebesar 89,33 %, lalu kecambah abnormal yang tertinggi terdapat

pada perlakuan perendaman dengan krioprotektan selama 2 jam (P1) yaitu 8,67 % dan kecambah abnormal terendah terdapat pada perlakuan perendaman dengan krioprotektan selama 2 jam kemudian disimpan pada suhu -5°C selama 1 jam (P3) sebesar 0,67 % (Tabel 3).

Khoirinaya (2011) menyatakan laju pendinginan yang lambat menyebabkan tingginya peluang terbentuknya kristal es yang bersifat letal bagi sel. Terbentuknya kristal es intraselular dapat menyebabkan kerusakan membran, organel sel dan hilangnya kemampuan embrio untuk tumbuh setelah proses pembekuan. Keberhasilannya tidak terlepas dari pengoptimalan masing-masing tahapan yang digunakan dalam hubungannya dengan ukuran, permeabilitas, dan sifat fisiologi awal sel tersebut sehingga dapat mempertahankan sel.

Jika pembekuan terlalu lambat maka sel terlalu terdehidrasi sehingga konsentrasi zat elektrolit dalam sel menjadi tinggi. Jika pembekuan terlalu cepat maka sel kurang mengalami dehidrasi sehingga terjadi formasi es intraselular yang bersifat letal. Penambahan krioprotektan dalam memelihara keutuhan membran dan meningkatkan potensial osmotik media sehingga cairan di dalam sel mengalir ke luar dan terjadi dehidrasi.

Lalu Fitriyatmi (1996) menyatakan bahwa konsentrasi krioprotektan pada masing-masing benih berbeda-beda. Penggunaan konsentrasi krioprotektan yang tepat dapat melindungi benih dan menghasilkan daya berkecambah benih yang lebih baik.

Tabel 4. Benih mati pada perlakuan stratifikasi suhu rendah dan krioprotektan

Perlakuan	Benih mati (%)
P0 (Kontrol)	3,33
P1 (Krioprotektan 2 jam )	2,00
P2 (-5°C 1 jam)	0,00
P3 (Krioprotektan 2 jam + -5°C 1 jam)	0,00

Benih mati tertinggi terdapat pada perlakuan kontrol (P0) sebesar 3,33 % dan benih mati terendah terdapat pada perlakuan disimpan pada suhu -5°C selama 1 jam (P2)

dan direndam dengan krioprotektan selama 2 jam dan disimpan pada suhu -5°C selama 1 jam (P3) sebesar 0,00 % (Tabel 4).

Tabel 5. Indeks vigor pada perlakuan stratifikasi suhu rendah dan krioprotektan

Perlakuan	Indeks vigor (%)
P0 (Kontrol)	22,62 ab
P1 (Krioprotektan 2 jam )	21,10 b
P2 (-5°C 1 jam)	23,02 ab
P3 (Krioprotektan 2 jam + -5°C 1 jam)	23,36 a

Keterangan : Angka-angka yang diikuti notasi yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata menurut Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf 5 %.

Indeks vigor tertinggi terdapat pada perlakuan direndam dengan krioprotektan selama 2 jam dan disimpan pada suhu -5°C selama 1 jam (P3) sebesar 23,36 % dan

indeks vigor terendah terdapat pada perlakuan perendaman dengan krioprotektan selama 2 jam (P1) sebesar 21,10 % (Tabel 5).

Tabel 6. Bobot basah dan bobot kering kecambah pada perlakuan stratifikasi suhu rendah dan krioprotektan

Perlakuan	Bobot basah kecambah (g)	Bobot kering kecambah (g)
P0 (Kontrol)	37,89 a	3,37 a
P1 (Krioprotektan 2 jam )	34,05 b	3,10 b
P2 (-5°C 1 jam)	35,00 b	3,32 a
P3 (Krioprotektan 2 jam + -5°C 1 jam)	38,92 a	3,44 a

Keterangan : Angka-angka yang diikuti notasi yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata menurut Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf 5 %.

Bobot basah dan kering kecambah tertinggi terdapat pada perlakuan direndam dengan krioprotektan selama 2 jam dan disimpan pada suhu -5°C selama 1 jam (P<sub>3</sub>) sebesar 38,92 g dan 3,44 g sedangkan bobot basah dan kering terendah terdapat pada perlakuan perendaman dengan krioprotektan selama 2 jam (P<sub>1</sub>) sebesar 34,05 g dan 3,10 g (Tabel 6).

Secara keseluruhan berdasarkan pengamatan yang dilakukan menunjukkan kecambah normal tertinggi terdapat pada tanpa perlakuan direndam dengan krioprotektan selama 2 jam dan disimpan pada suhu -5°C selama 1 jam (P<sub>3</sub>) dibandingkan dengan perlakuan lainnya begitu juga dengan parameter indeks vigor, bobot basah kecambah dan bobot kering kecambah. Parameter tersebut tidak terlepas peranannya dari hasil kecambah normal.

## KESIMPULAN

Viabilitas benih rosela untuk penyimpanan plasma nutfah dengan jangka waktu yang lama untuk lebih optimal dengan pemberian krioprotektan (PVS2) selama 2 jam dan laju pendinginan pada suhu -5°C selama 1 jam. Pemberian perlakuan tersebut dapat menekan angka kematian benih dan meningkatkan viabilitas benih setelah disimpan pada jangka waktu yang lama.

## DAFTAR PUSTAKA

Fitriyatmi, I. 1996. Pengaruh Suhu Rendah Terhadap Viabilitas Benih Jagung (*Zea*

*mays* L.) Kedelai (*Glycine max* (L) Merr.) Rambutan (*Nephelium lappaceum*) dan Matoa (*Pometia pinnata*) Setelah Pembekuan Dalam Nitrogen Cair. Skripsi. Program Studi Budidaya Pertanian. Fakultas Pertanian. Institut Pertanian Bogor. Bogor. Hal : 2-15.

Khoirinaya, C. 2011. Viabilitas Embrio Mencit (*Mus musculus albinus*) Setelah Kriopreservasi Dengan Vitrifikasi Ganda Pada Tahap Perkembangan Zigot dan Dilanjutkan Pada Tahap Blastosis. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan. Institut Pertanian Bogor. Bogor. Hal : 6-7.

Mardiah, A. Rahayu, R. W. Ashadi, dan Sawarni. 2009. Budi Daya dan Pengolahan Rosela. Simerah Sigudang Manfaat. PT Agromedia Pustaka. Bogor.

Sa'diyah, H. 2009. Pengaruh Invigorasi Menggunakan Polietilena Glikol (PFG) 6000 Terhadap Viabilitas Benih Rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.). Skripsi. Jurusan Biologi. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang. Hal : 17.

Sutopo, L. 1998. Teknologi Benih. PT Raja Grafindo. Jakarta.

Windiastika, G. 2013. Konservasi Plasma Nutfah Tanaman Dengan Teknik Kriopreservasi. Balai Besar Perbenihan

dan Proteksi Tanaman Perkebunan.  
Surabaya.