

## VIABILITAS BENIH WIJEN LOKAL (*Sesamum indicum* L.) SETELAH KRIOPRESERVASI DAN PENYIMPANAN PADA SUHU RENDAH (-40 °C)

*SEED VIABILITY OF LOCAL SESAME (*Sesamum indicum* L.) FOLLOWING  
CRYOPRESERVATION AND STORAGE AT LOW TEMPERATURE (-40 °C)*

**Dody Priadi**

*Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI Jl. Raya Bogor Km.46 Cibinong 16911  
d\_priadi@telkom.net*

### ABSTRACT

Sesame (*Sesamum indicum* L.) seed is useful for human health due to its oil containing antioxidant. In Indonesia, sesame seed are currently stored by using conventional method that is by drying prior to storage. In this research we attempted to obtain optimal condition for storage of sesame seeds conducted by 2 methods that is cryopreservation in liquid nitrogen (-196 °C) for 24 hour, 1, 2, 3 and 4 weeks and storage at low temperature (-40 °C) for 1, 2, 3, 4 and 5 months. Prior to cryopreserve in liquid nitrogen for 24 hours, the seeds were dried in desiccator for 0, 1, 2, 3, 4, 5 and 6 hours. Seeds were thawed at 28 °C for 60 minutes before germination. Result showed that germination percentage of sesame seeds before and after cryopreservation (93.0 - 99.0%), after storage at low temperature (98.3 - 100%) were not significantly different. Thereby both the methods can be recommended for local sesame seeds storage, eventhough cryopreservation method more efficient than storage at low temperature.

*Key words* : sesame (*Sesamum indicum* L.), seed, storage, cryopreservation

### ABSTRAK

Biji wijen (*Sesamum indicum* L.) menghasilkan minyak yang mengandung antioksidan yang berkhasiat untuk kesehatan manusia. Sampai saat ini di Indonesia penyimpanan benih wijen masih dilakukan secara konvensional yaitu dengan cara pengeringan benih sebelum disimpan. Pada penelitian ini dilakukan 2 metode untuk mengetahui kondisi optimal penyimpanan benih wijen yaitu kriopreservasi dalam nitrogen cair (-196 °C) selama 24 jam, 1, 2, 3 dan 4 minggu serta pada suhu rendah (-40 °C) selama 1, 2, 3, 4 dan 5 bulan. Sebelum dikriopreservasi selama 24 jam, benih dikeringkan dalam desikator selama 0, 1, 2, 3, 4, 5 dan 6 jam. Benih dicairkan pada suhu 28 °C selama 60 menit sebelum dikecambahkan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perkecambahan benih wijen sebelum dan sesudah kriopreservasi (93.0 - 99.0%) dan setelah penyimpanan pada suhu rendah (98.3 - 100%) adalah berbeda tidak nyata secara statistik. Oleh karena itu, kedua metode tersebut dapat direkomendasikan untuk penyimpanan benih wijen meskipun kriopreservasi adalah metode yang lebih efisien dibandingkan dengan metode penyimpanan pada suhu rendah.

*Kata kunci*: wijen (*Sesamum indicum* L.), benih, penyimpanan, kriopreservasi

### PENDAHULUAN

Wijen (*Sesamum indicum* L., Pedaliaceae) adalah jenis tanaman yang bijinya dapat diproses untuk menghasilkan minyak dan telah digunakan sejak zaman dahulu secara turun temurun. Tanaman ini berasal dari daratan Afrika

(Ethiopia) dan tersebar ke Asia Tenggara, termasuk Indonesia (Weiss and de la Cruz, 2002). Minyak biji wijen (50% – 60% dari total beratnya) diketahui mengandung lemak tak jenuh dalam jumlah yang cukup tinggi, terdiri atas  $\alpha$ -tocopherol dan sesamol yang merupakan antioksidan (Kobayashi, 1977; Fukuda *et al.*, 1986;

Osawa *et al.*, 1986 In Takebayashi *et al.*, 1994). Antioksidan berguna bagi tubuh manusia sebagai anti kanker. Sampai saat ini para petani Indonesia menyimpan biji-bijian termasuk wijen sebagai sumber benih masih dengan cara tradisional, yaitu dengan cara biji dijemur terlebih dahulu sebelum dikemas dalam kantong plastik pada suhu ruangan. Kelemahan cara tradisional adalah sangat bergantung kepada cuaca dan viabilitasnya cepat menurun.

Penyimpanan benih wijen lokal dengan metode kriopreservasi belum pernah dilaporkan di Indonesia. Penelitian kriopreservasi benih telah banyak dilakukan terutama di daerah sub tropis pada bermacam-macam tanaman, seperti pada benih wasabi (*Wasabia japonica*) (Potts and Lumpkin, 1997) dan jenis-jenis kopi (*Coffea arabica*, *C. costatifructa*, *C. racemosa* dan *C. sessiliflora*) (Dussert *et al.*, 1998). Sebelum dikriopreservasi, benih harus mencapai kadar air yang optimal sehingga benih tidak mengalami kerusakan akibat suhu ultra dingin (*freezing injury*). Oleh karena itu, banyak penelitian penyimpanan benih difokuskan untuk mencari kadar air yang optimal pada benih sebelum disimpan baik pada suhu rendah maupun pada nitrogen cair (-196 °C). Hu *et al.*, (1998) melaporkan bahwa untuk mengurangi kadar air beberapa jenis sereal (barley, kenaf, padi dan oat), metode desikasi dengan silika gel lebih efisien dari pada metode kering beku (*freeze-drying*).

Tujuan penelitian ini adalah untuk mencari metode yang paling sesuai untuk penyimpanan benih wijen lokal.

## METODE PENELITIAN

### *Sumber benih*

Bahan penelitian adalah benih wijen varietas lokal yang dipanen dari pertanaman petani di daerah Ciamis, Jawa Barat. Benih dibawa ke laboratorium menggunakan kemasan kantong plastik hitam kedap udara supaya kondisinya sama seperti sebelum dibawa ke laboratorium. Sebelum diperlakukan, benih wijen disortasi menggunakan

*seed blower* (Hoffman 67-LK, USA) untuk menentukan berat benih yang seragam.

Penelitian dilakukan di Laboratorium Konservasi dan Genetik Tanaman Puslit Bioteknologi-LIPI mulai Pebruari sampai dengan Oktober 2005.

### *Pengeringan (Desikasi)*

Benih wijen yang akan dikeringkan dimasukkan ke dalam kotak aluminium foil berukuran 4 cm x 4 cm x 1 cm yang diletakkan di dalam desikator plastik (diameter 24 cm) yang terlebih dahulu diisi dengan 1000 g silika-gel. Pengeringan benih dilakukan selama 0, 1, 2, 3, 4, 5 dan 6 jam dengan cara mengeluarkan udara dari dalam desikator menggunakan pompa vakum (Gast DOA-P104-BN, USA) dengan kekuatan 600 mmHg. Setiap hari silika gel diganti dengan yang segar (yang telah dikeringkan) untuk menjaga kinerja silika-gel tetap tinggi. Kadar air benih ditentukan berdasarkan berat segar benih (*fresh weight basis*) yaitu dengan cara mengeringkan 1000 benih wijen dalam 3 ulangan di dalam oven (Heraeus T20P, Jerman) pada suhu 103 °C selama 17 jam seperti yang direkomendasikan oleh ISTA (International Seed Testing Association) (1996).

### *Kriopreservasi*

Benih wijen yang telah dikeringkan kemudian dimasukkan ke dalam tabung krio (Nalgene 2.0 mL, USA) dan disimpan di dalam tanki nitrogen cair (Thermolyne Bio Cane 34, USA) selama 24 jam, 1, 2, 3 dan 4 minggu. Sebelum dikecambahkan, benih tersebut dicairkan (*thawing*) pada suhu ruangan (28 °C) di dalam laminar air flow paling sedikit selama 60 menit.

### *Penyimpanan pada suhu -40 °C*

Benih wijen yang akan disimpan di dalam *deep freezer* pada suhu -40 °C (Heraeus HFC286PLUS-V14, USA) terlebih dahulu dimasukkan ke dalam tabung krio. Benih disimpan di dalam *deep freezer* selama 1, 2, 3, 4 dan 5 bulan. Setiap bulan sampel benih diambil untuk diuji daya perkecambahannya. Benih wijen diangin-

anginkan pada suhu 28 °C sebelum dikecambahkan. Sebagai kontrol adalah benih wijen yang telah disimpan selama 30 bulan di dalam kantong plastik kedap udara di luar *deep freezer* pada ruangan yang bersuhu 28 °C.

#### *Perkecambahan*

Benih wijen dikecambahkan pada cawan Petri plastik (diameter 9 cm) yang berisi 4 lapis kertas kertas tisu toilet komersial yang dilembapkan dengan 5 mL akuades. Masing-masing cawan Petri berisi 100 benih wijen dengan 3 ulangan. Pengecambahan dilakukan pada germinator (Heraeus BK 6160, USA) pada suhu  $27 \pm 1$  °C dengan kelembaban relatif 75-80%. Akuades ditambahkan kepada benih sesuai dengan kebutuhan untuk menjaga kelembabannya. Pengamatan perkecambahan dilakukan setiap hari selama 7 hari. Daya kecambah dihitung dari benih wijen yang berkecambah secara sempurna yaitu menghasilkan radikel dan plumulae. Persentase perkecambahan digunakan untuk menentukan viabilitas benih.

#### *Disain penelitian dan analisis statistik*

Penelitian disusun dalam Rancangan Acak Lengkap dengan 3 ulangan. Data hasil penelitian diolah dengan sidik ragam (ANOVA) dan uji jarak berganda Duncan (DMRT) dengan perangkat lunak statistik SPSS versi standard *release* 11.0.0. (2001).

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

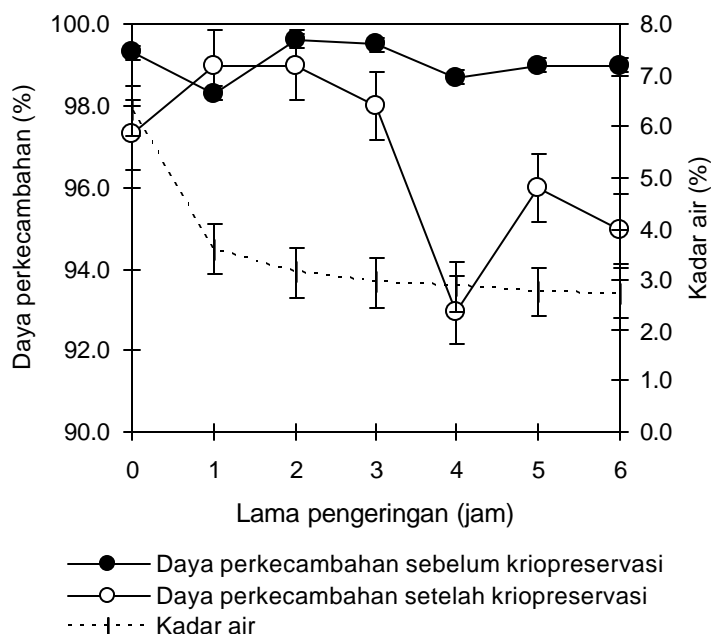
#### *Kriopreservasi*

Sebelum dikriopreservasi di dalam nitrogen cair, benih harus mencapai kadar yang optimum dengan cara diturunkan kadar airnya atau diperlakukan dengan larutan krioprotektan untuk mencegah kerusakan akibat suhu sangat rendah (*freezing injury*) selama dikriopreservasi, sehingga benih tetap mempunyai viabilitas yang tinggi. Pengeringan dapat meningkatkan viabilitas

benih, tetapi pengeringan yang mengakibatkan kadar air yang terlalu rendah akan mengurangi viabilitas benih (Chai *et al.*, 1998). Benih wijen termasuk ke dalam golongan benih ortodoks. Menurut Schmidt (2000) karakteristik benih ortodoks antara lain adalah mempunyai kadar air 2-4% dan suhu penyimpanan yang sesuai adalah -15 °C - -20 °C. Menurut Potts and Lumpkin (1997), krioprotektan tidak diperlukan untuk kriopreservasi benih ortodoks karena HMFL (*high moisture freezing limit*) dapat tercapai hanya dengan pengeringan tanpa mengakibatkan penurunan viabilitasnya.

Kadar air benih wijen sebelum dikeringkan (0 jam) adalah 6.31%, tetapi kemudian cenderung terus menurun seiring dengan makin lamanya waktu pengeringan. Kadar air benih wijen setelah dikeringkan selama 6 jam adalah 2.74% sehingga rata-rata laju pengeringan dengan metode ini sebesar 0.60% per jam. Penurunan kadar air dari 0 sampai dengan 1 jam (2.7%) lebih besar dari pada waktu pengeringan selanjutnya (0.1 – 0.4% per jam) karena pada jam pertama pengeringan, benih wijen masih mengandung kadar air yang tinggi, dan terus menurun hingga mencapai 0.2% per jam pada pengeringan 2 jam. Setelah itu kadar airnya relatif stabil (0.1% per jam) hingga lama pengeringan 6 jam.

Daya perkecambahan benih wijen sebelum dan sesudah kriopreservasi di dalam nitrogen cair rata-rata di atas 90% (Gambar 1). Daya perkecambahan benih sebelum kriopreservasi berkisar antara 98.3% - 99.6%, sedangkan setelah kriopreservasi berkisar antara 93.0% - 99.0%. Hasil uji statistik menunjukkan bahwa daya kecambah benih wijen sebelum maupun sesudah kriopreservasi di dalam nitrogen cair selama 24 jam berbeda tidak nyata untuk setiap waktu pengeringan. Kondisi yang sama terjadi pada kriopreservasi benih *Wasabia japonica* yang dikeringkan terlebih dahulu sampai mencapai kadar air 0.17 g air g<sup>-1</sup> berat kering atau yang diperlakukan dengan bermacam-macam krioprotektan (Potts and Lumpkin, 1997).



Gambar 1. Hubungan antara kadar air dengan daya perkecambahan benih wijen lokal sebelum dan sesudah kriopreservasi di dalam nitrogen cair selama 24 jam. Garis tegak pada setiap titik menunjukkan standar error dari 3 ulangan

Tabel 1. Daya perkecambahan (%) benih wijen pada berbagai waktu kriopreservasi di dalam nitrogen cair tanpa perlakuan pengeringan

Lama penyimpanan (minggu)	Rata-rata	Standar deviasi	Standar error
1	100.0 a	0.00	0.00
2	100.0 a	0.00	0.00
3	99.0 a	1.00	0.58
4	99.0 a	0.00	0.00

Angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata menurut DMRT taraf 5%

Tabel 2. Daya perkecambahan (%) benih wijen yang disimpan pada suhu  $-40^{\circ}\text{C}$  di dalam *deep freezer* selama 5 bulan

Lama penyimpanan (bulan)	Rata-rata	Standar deviasi	Standar error
Kontrol	51.7 b	2.08	1.20
1	98.3 a	2.08	1.20
2	100.0 a	0.00	0.00
3	100.0 a	0.00	0.00
4	99.7 a	0.58	0.33
5	99.0 a	1.73	1.00

Pengamatan perkecambahan dilakukan pada hari ketujuh; Kontrol disimpan di luar *deep freezer* pada suhu  $28^{\circ}\text{C}$  selama 30 bulan; Angka yang diikuti huruf yang berbeda menunjukkan berbeda nyata menurut DMRT taraf 5%

Pada penelitian ini benih wijen yang dikeringkan sampai mencapai kadar air 2.74-6.31% menghasilkan daya perkecambahan 90%, tetapi Chai *et. al.* (1998) melaporkan bahwa kadar air optimum benih wijen untuk menghasilkan daya tumbuh terbaik adalah 1.8-2.5%. Perbedaan tersebut adalah karena keterbatasan kemampuan daya hisap pompa vakum untuk mengeluarkan udara yang lebih banyak dari benih di dalam desikator. Penelitian Salomao (2002) menunjukkan bahwa benih tanaman daerah tropis pada umumnya toleran terhadap nitrogen cair sehingga tidak mempengaruhi daya perkecambahannya. Faktor yang berperan penting terhadap daya perkecambahan antara lain adalah suhu. Carvalho *et al.* (2001) melaporkan bahwa suhu 18.8 °C - 43.2 °C pada waktu perkecambahan tidak berpengaruh secara statistik terhadap daya perkecambahan wijen. Sebaliknya, induksi kalus yang berasal dari kecambah benih wijen sangat dipengaruhi oleh suhu. Pada suhu 35 °C kalus wijen tumbuh secara cepat (Takebayashi *et al.*, 1994). Pada penelitian ini, benih dikecambahkan pada kisaran suhu optimum sehingga menghasilkan daya kecambah yang optimal.

Karena daya perkecambahan benih sebelum dan sesudah kriopreservasi berbeda tidak nyata untuk setiap waktu pengeringan, maka pada percobaan selanjutnya benih wijen langsung disimpan ke dalam nitrogen cair selama 1-4 minggu tanpa dikeringkan terlebih dahulu. Hal ini untuk mengetahui pengaruh lama kriopreservasi terhadap daya perkecambahan benih wijen (Tabel 1).

Lama kriopresevasi di dalam nitrogen cair adalah berbeda tidak nyata secara statistik untuk setiap lama penyimpanan (Tabel 1). Kondisi yang sama terjadi pada kriopreservasi benih *Centaurea hyssoifolia* dan *Limonium dichotomum*, di mana pelembaban pada waktu pengecambahan, penyimpanan di dalam nitrogen cair dan *thawing* tidak berpengaruh terhadap perkembangan perkecambahan (Gonzalez-Benito *et. al.*, 1998).

#### *Penyimpanan benih wijen pada suhu -40 °C*

Benih wijen yang disimpan selama 5 bulan pada suhu -40 °C (kadar air awal 6.3%) menunjuk

kan persentase rata-rata daya perkecambahan antar perlakuan penyimpanan berbeda tidak nyata, tetapi berbeda nyata (5%) dengan kontrol, yakni daya perkecambahannya turun sebesar hampir 50% dari daya perkecambahan awal. Dengan demikian penyimpanan benih wijen lokal selama 5 bulan pada suhu -40 °C tidak berpengaruh terhadap daya perkecambahannya (Tabel 2). Oleh karena itu, kadar air 6.3% telah sesuai untuk benih wijen lokal yang disimpan pada suhu rendah tersebut, karena menurut Cromarty *et al.* (1990), standar internasional kadar air penyimpanan benih ortodoks untuk kepentingan konservasi plasma nutfah adalah sebesar 5±1% pada suhu -18 °C atau lebih rendah, di dalam kemasan kedap udara. Sebaliknya benih mangium (*Acacia mangium*) yang disimpan pada suhu yang sama, daya perkecambahannya cenderung makin menurun seiring dengan makin lamanya waktu penyimpanan (Sumiasri *et al.*, 1999). Penelitian Chai *et al.* (1998) menunjukkan bahwa benih yang disimpan dengan kadar air yang sangat tinggi mengakibatkan rendahnya daya perkecambahan sedangkan apabila kadar airnya terlalu rendah akan mengakibatkan menurunnya viabilitas dan vigor benih.

## KESIMPULAN

Benih wijen mempunyai sifat yang toleran terhadap suhu rendah (-40 °C) maupun kriopreservasi (-196 °C), sehingga untuk penyimpanan dalam jangka panjang dapat menggunakan kedua metode penyimpanan tersebut, tetapi metode yang paling efisien adalah kriopreservasi karena investasi peralatan kriopreservasi dalam jangka waktu yang panjang relatif lebih murah dibandingkan dengan penyimpanan pada suhu rendah yang memerlukan pasokan dan ketersediaan tenaga listrik yang berkesinambungan.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dr. Enny Sudarmonowati, APU sebagai Koordinator Kelompok Penelitian Konservasi dan

Genetik Tanaman Puslit Bioteknologi-LIPI yang telah memberikan izin penggunaan fasilitas kriopreservasi.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Chai, J., R. Ma, L. Li and Y. Du. 1998. Optimum moisture contents of seeds stored at ambient temperatures. *Seed Science Research* 8 Supplement. 1 : 23-28.
- Cromarty, A.S., Ellis, R.H., and Roberts, E.H. 1990. The Design of Seed Storage Facilities for Genetic Conservation. International Board for Plant Genetic Resources, Rome.
- De Carvalho, P.G.B, F. Borghetti, M.S. Buckeridge, L. Morhy and E.X.F. Filho. 2001. Temperature-dependent germination and endo- $\beta$ -mannase activity in sesame seeds. *Bras. Fisiol.Veg.*, 13(2) : 139-148.
- Dussert S., N. Chabrillange, F. Engelmann, F. Anthony, J. Louarn and S. Hamon. 1998. Cryopreservation of seeds of four coffee species (*Coffea arabica*, *C. Costatifructa*, *C. Racemosa* and *C. Sessiliflora*) : importance of water content and cooling rate. *Seed Science Research* 8 : 9-15.
- Gonzalez-Benito, M.E., F. Fernandez-Llorente and F. Perez-Garcia. 1998. Interaction between cryopreservation, rewarming rate and seed humidification on the germination of two Spanish endemic species. *Annals of Botany* 82: 683-686.
- Hu, X., Y. Zhang, C. Hu, M. Tao and S. Chen. 1998. A comparison of methods for drying seeds : vacuum freeze-dryer versus silica-gel. *Seed Science Research* 1 : 29-33.
- ISTA (International Seed Testing Association). 1996. International Rules for Seed Testing, 1996. *Seed Science and Technology* 21(Suppl.): 1B288.
- Potts, S.E. and T.A. Lumpkin. 1997. Cryopreservation of *Wasabia* spp. seeds. *Cryo-Letters* 18 : 185-190.
- Salomao, A.N. 2002. Tropical seeds species' responses to liquid nitrogen exposure. *Braz. J. Plant Physiol.* 14(2) : 133-138.
- Schmidt, L. 2000. Guide to handling of tropical and subtropical forest seed. Danida Forest Seed Centre.
- Sumiasri, N., D. Priadi, dan N.S. Indarto. 1999. Pengaruh penyimpanan suhu rendah dan pembersihan biji terhadap pertumbuhan biji mangium (*Acacia mangium* Willd). *Dinamika Pertanian* XIV 2: 29-42.
- Takebayashi, K., A. Mimura, A. Ichikawa, M. Niwano, Y. Takahara and T. Osawa. 1994. Cultivation of *Sesamum indicum* L. callus cells at 35°C. *Plant Tissue Culture Letters* 11(2) : 129-133.
- Weiss, E.A. and de la Cruz, Q.D. 2002. *Sesamum orientale* L. p. 123-128. In van der Vossen, H.A.M. and Umali, B.E. (Eds). *Plant Resources of South East Asia No.14 Vegetable oils and fats*. Prosea Foundation, Bogor, Indonesia.