

## EFEKTIVITAS FORMULASI STERILAN TERHADAP JENIS EKSPLAN PADA KULTUR DURIAN LAHUNG (*Durio dulcis*)

### *Effectiveness of Sterilant Formulation on Type of Explant in Durian Lahung Tissue Culture*

**Nofia Hardarani\* dan Chatimatun Nisa**

Fakultas Pertanian Universitas Lambung Mangkurat, Kalimantan Selatan-Indonesia

\*Email : [hardaraninofia@gmail.com](mailto:hardaraninofia@gmail.com); Kontak WhatsApp: 081348071023

#### **Abstract**

*Durian lahung is a type of endemic durian to Kalimantan which has a unique characteristic, namely its red skin. The existence of this plant is almost extinct so that conservation needs to be done and one way is to use tissue culture techniques. As first step, it is necessary to conduct experiments to obtain the right sterilization method in order to obtain aseptic planting material. This study aims to determine the effectiveness of sterilant formulation on type of explant for lahung durian culture. This study was designed using two factors factorial Completely Randomized Design (CRD) and was repeated four times. The first factor was formulation of sterilant which consists of five levels and the second factor was type of explant which consists of two levels, i.e leaf and node. The results showed that the combination of sterilant formulation tween 20, fungicide, bactericide, Bayclin 20%, alcohol 70%, HgCl<sub>2</sub> 0,05%, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 17,6% with leaf explant produced the highest percentage of browning until 4 wap. There was no browning in all combinations of sterilant formulations with node explant. The sterilant formulation tween 20, fungicide, baktericide, alcohol 70% gave the longest time to appear contamination and browning, smaller percentage of contamination and greater percentage of live explants at 2 and 3 wap, while at 4 wap it was obtained from the sterilant formulation tween 20, fungicide, bactericide, Bayclin 20%, alcohol 70%, HgCl<sub>2</sub> 0,05%. Leaf explants had lower percentage of contamination and higher percentage of live explants than node explants.*

**Keywords : explant, durian, lahung, sterilization**

#### **Abstrak**

Durian lahung merupakan salah satu jenis durian endemik Kalimantan yang memiliki ciri yang unik yaitu kulitnya yang berwarna merah. Keberadaan tanaman ini sudah hampir punah sehingga perlu dilakukan konservasi dan salah satu caranya adalah menggunakan teknik kultur jaringan. Sebagai langkah awal, perlu dilakukan penelitian untuk memperoleh metode sterilisasi yang tepat sehingga diperoleh bahan tanam yang aseptik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas formulasi sterilan terhadap jenis eksplan untuk kultur durian lahung. Penelitian ini didesain menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial dua faktor dan diulang sebanyak empat kali. Faktor pertama adalah formulasi sterilan yang terdiri dari lima taraf dan faktor kedua berupa jenis eksplan yang terdiri atas dua taraf, yaitu daun dan buku. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi antara formulasi sterilan tween 20, fungisida, bakterisida, Bayclin 20%, alkohol 70%, HgCl<sub>2</sub> 0,05%, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 17,6% dengan

eksplan daun menghasilkan persentase *browning* yang terbesar hingga umur 4 mst. Pada semua kombinasi antara formulasi sterilan dengan eksplan buku tidak terjadi *browning*. Formulasi sterilan tween 20, fungisida, bakterisida, alkohol 70% memberikan waktu muncul kontaminasi dan *browning* yang terlama, persentase kontaminasi yang lebih kecil dan persentase eksplan hidup yang lebih besar pada umur 2 dan 3 mst, sedangkan pada umur 4 mst diperoleh dari formulasi sterilan tween 20, fungisida, bakterisida, Bayclin 20%, alkohol 70%, HgCl<sub>2</sub> 0,05%. Eksplan daun memiliki persentase kontaminasi yang lebih kecil dan persentase eksplan hidup yang lebih besar dibandingkan dengan eksplan buku.

**Kata kunci : eksplan, durian, lahung, sterilisasi**

## PENDAHULUAN

Durian (*Durio zibethinus*) merupakan salah satu buah yang mempunyai nilai ekonomis yang cukup tinggi karena sangat digemari masyarakat Indonesia. Durian menjadi salah satu komoditas hortikultura yang ditargetkan untuk terus ditingkatkan produksi dan kualitasnya (Sugiyarto & Kuswandi, 2013).

Tirtawinata *et al.* (2016) menyatakan bahwa 20 dari 29 spesies liar durian di dunia, terdapat di Indonesia. Dari 20 spesies yang ada di Indonesia, tujuh spesies ditemukan di Kalimantan, tujuh spesies ditemukan di Sumatera dan satu spesies ditemukan masing-masing di Jawa, Bali, Sulawesi, Maluku dan Papua. Sebagian besar spesies durian yang berada di Kalimantan merupakan spesies endemik yang umumnya tumbuh liar dan hanya ditemukan di hutan Kalimantan.

Pulau Kalimantan dinyatakan sebagai pusat persebaran *Durio* terpenting di dunia karena tingginya jumlah jenis

*Durio* yang endemik di pulau ini. Di Kalimantan ditemukan sembilan jenis *Durio* yang dapat dimakan buahnya (*edible fruits*). Sembilan jenis tersebut, yaitu *Durio zibethinus* (durian), *Durio dulcis* (lahung), *Durio excelsus* (apun), *Durio grandiflorus* (sukang), *Durio graveolens* (tuwala), *Durio kutejensis* (lai), *Durio lowianus* (teruntung), *Durio oxleyanus* (kerantungan), dan *Durio testudinarum* (sekura) (Uji, 2005).

Sebagian besar dari jenis *Durio* di atas sudah mulai jarang ditemukan yang menunjukkan terjadinya pengikisan plasma nutfah terhadap jenis buah ini. Tantra (1983) dalam Antarlina (2009) menjelaskan bahwa faktor penyebab terjadinya pengikisan plasma nutfah terjadi pada buah-buahan lokal di Kalimantan khususnya dari jenis durian adalah teknologi budidaya yang tidak memadai. Mengingat pada umumnya durian merupakan tanaman tahunan yang memiliki umur berbuah yang terlalu lama, sehingga orang enggan menanamnya.

Dampaknya populasi menjadi semakin berkurang akibat pohon yang telah tua tanpa regenerasi tanaman. Kelangkaan keberadaan tanaman ini yang mengakibatkan kelestarian tanaman durian lokal menjadi terancam.

Lahung (*Durio dulcis*) merupakan salah satu jenis durian endemik Kalimantan. Jenis durian ini memiliki warna yang menarik dan rasa yang sangat manis, sehingga berpotensi untuk dikembangkan di masa mendatang (Maysyarah *et al.*, 2019). Oleh sebab itu, perlu upaya untuk pengembangan durian jenis ini sebagai buah unggulan lokal Kalimantan Selatan. Hal ini untuk mengurangi semakin tergerusnya produk buah lokal yang sampai saat ini masih merupakan buah hutan dan belum dibudidayakan akibat semakin gencarnya buah impor membanjiri Indonesia, termasuk di Kalimantan Selatan (Susi, 2017).

Berdasarkan data IUCN *Redlist* status keberadaan durian lahung di alam adalah rawan atau genting. Saat ini keberadaannya sudah sulit dijumpai bahkan tergolong hampir punah. Salah satu penyebabnya adalah penebangan pohon untuk diambil kayunya. Kayu durian lahung banyak dimanfaatkan sebagai bahan bangunan karena kualitasnya yang

bagus. Hal ini menyebabkan saat ini pohon dewasa semakin sulit ditemukan. Ditambah lagi habitatnya semakin terganggu akibat degradasi hutan untuk berbagai kepentingan (*World Conservation Monitoring Centre (WCMC) dalam* Aprilianti, 2019).

Kenyataan ini memerlukan perhatian dari semua pihak dalam rangka pelestarian plasma nutfah khususnya durian dan kerabatnya yang spesifik di Kalimantan. Upaya konservasi ini dapat dilakukan dengan cara menanam komoditas tersebut pada kebun koleksi (Antarlina, 2009). Namun, terdapat kelemahan dari konservasi *ex situ* di lapangan, yaitu terjadinya kehilangan plasma nutfah akibat serangan organisme pengganggu tanaman (OPT), seperti hama dan penyakit, selain cekaman lingkungan abiotik (Towill & Jarret, 2005). Untuk mengatasi masalah tersebut, pengembangan koleksi plasma nutfah secara *in vitro* merupakan strategi alternatif sebagai cadangan plasma nutfah yang dikonservasi di lapangan. Teknologi *in vitro* saat ini sudah menjadi kebutuhan dalam strategi pemeliharaan diversitas tanaman dalam bentuk koleksi aktif (*active collections*) dan koleksi dasar (*base collections*) (Keller *et al.*, 2006).

Salah satu faktor keberhasilan dalam kultur jaringan adalah pemilihan jenis dan bagian eksplan (bahan tanam) yang tepat untuk dapat membentuk tunas atau kalus secara *in vitro*. Eksplan yang dapat digunakan untuk kultur jaringan yaitu berasal dari jaringan meristematic, salah satunya adalah daun (Widiastuti *et al.*, 2019). Penggunaan daun sering dipilih sebagai eksplan dibandingkan dengan organ tanaman yang lain adalah karena ketersediaan daun yang melimpah pada bahan induknya (Budiarti, 2017).

Faktor pembatas dalam keberhasilan kultur jaringan adalah kontaminasi. Salah satu penyebab kontaminasi adalah sumber kontaminan hidup yang melekat pada permukaan eksplan dan terbawa saat pengambilan eksplan dari luar (Handayani *et al.*, 2018), yang umumnya berupa spora jamur dan bakteri (Fauzan *et al.*, 2017). Pencegahan terhadap kontaminasi dapat dilakukan dengan menggunakan metode sterilisasi yang tepat (Handayani *et al.*, 2018). Penggunaan kombinasi bahan-bahan sterilan, diantaranya fungisida dan bakterisida ditambahkan dengan berbagai jenis desinfektan dapat digunakan untuk membunuh jamur dan bakteri pada sterilisasi permukaan.

Pengujian terkait formulasi sterilan yang tepat untuk tanaman yang baru pertama kali dikulturkan umumnya diperlukan. Begitu pula halnya dengan tanaman lahung yang belum pernah ada laporan penelitian sebelumnya tentang kultur jaringan pada tanaman ini.

Tanaman lahung sudah jarang sekali ditemui di hutan. Masyarakat pun tidak ada yang membudidayakan sehingga keberadaan pohon ini terancam punah. Alasan inilah yang membuat penelitian ini penting untuk dilakukan, agar plasma nutfah tanaman endemik Kalimantan (khususnya durian lahung) tidak punah. Maka dari itu perlu adanya upaya konservasi terhadap tanaman ini. Jenis perbanyakan yang dipilih adalah kultur jaringan dengan menggunakan beberapa jenis eksplan. Dikarenakan hal ini baru pertama kali dilakukan maka perlu diteliti prosedur sterilisasinya.

## **BAHAN DAN METODE**

### **Waktu dan Tempat**

Penelitian ini dilaksanakan selama dua bulan yaitu pada bulan Juli-Agustus 2022 di Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Lambung Mangkurat Banjarbaru.

### **Alat dan Bahan**

Alat yang digunakan berupa botol kultur, peralatan dalam pembuatan media MS dan peralatan tanam secara *in vitro*. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari daun muda dan buku yang diambil dari bibit durian lahung, bahan kimia dalam media MS, (zat pengatur tumbuh) ZPT, aquades dan sterilan.

### Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan percobaan di laboratorium yang didesain menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial dua faktor. Faktor pertama adalah formulasi sterilan (S) yang terdiri dari 5 taraf, yaitu:

s<sub>1</sub>: tween 20, Bayclin 20%, alkohol 70%

s<sub>2</sub>: tween 20, fungisida, bakterisida, alkohol 70%

s<sub>3</sub>: tween 20, fungisida, bakterisida, Bayclin 20%, alkohol 70%

s<sub>4</sub>: tween 20, fungisida, bakterisida, Bayclin 20%, alkohol 70%, HgCl<sub>2</sub> 0,05%

s<sub>5</sub>: tween 20, fungisida, bakterisida, Bayclin 20%, alkohol 70%, HgCl<sub>2</sub> 0,05%, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 17,6%.

Faktor kedua berupa jenis eksplan (J) yang terdiri dari 2 taraf, yaitu j<sub>1</sub>: daun dan j<sub>2</sub>: buku.

Eksplan yang digunakan berupa daun muda dan buku pertama dan kedua dari pucuk. Eksplan kemudian disterilisasi

sesuai dengan perlakuan lalu di media tanam. Media yang digunakan adalah media MS dengan penambahan ZPT BAP 5 ppm dan 2,4D 1 ppm. Variabel yang diamati terdiri dari waktu muncul kontaminasi (hst), waktu muncul *browning* (hst), persentase kontaminasi eksplan (%), persentase *browning* (%) dan persentase eksplan hidup (%) hingga umur 4 mst. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Lambung Mangkurat Banjarbaru.

### Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan diuji kehomogenannya dengan uji Bartlett. Jika data homogen maka dilakukan analisis ragam (ANOVA) pada taraf nyata 5%. Namun, jika data tidak homogen, maka perlu dilakukan transformasi data. Apabila analisis ragam berpengaruh nyata, dilakukan uji Duncan (DMRT) pada taraf nyata 5% apabila interaksi atau faktor tunggal formulasi sterilan berpengaruh nyata. Sedangkan apabila faktor jenis eksplan yang berpengaruh nyata, akan dilakukan uji t. Pengujian statistik menggunakan *software Genstat*.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

**Waktu Muncul Kontaminasi dan Browning**

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa formulasi sterilan berpengaruh nyata terhadap waktu muncul kontaminasi

dan waktu muncul *browning*. Rata-rata pengaruh formulasi sterilan terhadap waktu muncul kontaminasi (hst) dan waktu muncul *browning* (hst) tersaji pada Tabel 1.

Tabel 1. Rata-rata pengaruh formulasi sterilan terhadap waktu muncul kontaminasi (hst) dan waktu muncul *browning* (hst)

Formulasi sterilan	Waktu muncul kontaminasi (hst)	Waktu muncul <i>browning</i> (hst)
s <sub>1</sub> (tween 20, Bayclin 20%, alkohol 70%)	6,94 <sup>b</sup>	19,03 <sup>b</sup>
s <sub>2</sub> (tween 20, fungisida, bakterisida, alkohol 70%)	9,98 <sup>a</sup>	27,94 <sup>a</sup>
s <sub>3</sub> (tween 20, fungisida, bakterisida, Bayclin 20%, alkohol 70%)	8,49 <sup>ab</sup>	19,86 <sup>b</sup>
s <sub>4</sub> (tween 20, fungisida, bakterisida, Bayclin 20%, alkohol 70%, HgCl <sub>2</sub> 0,05%)	10,17 <sup>a</sup>	17,42 <sup>b</sup>
s <sub>5</sub> (tween 20, fungisida, bakterisida, Bayclin 20%, alkohol 70%, HgCl <sub>2</sub> 0,05%, H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 17,6%)	8,49 <sup>ab</sup>	11,20 <sup>c</sup>

Keterangan : angka yang diikuti dengan huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata menurut uji DMRT taraf nyata 5%

Tabel 1 menunjukkan bahwa kontaminasi muncul paling cepat pada perlakuan tween 20, Bayclin 20%, alkohol 70% (6,94 hst) dan paling lama pada perlakuan tween 20, fungisida, bakterisida, Bayclin 20%, alkohol 70% (9,98 hst) namun tidak berbeda nyata dengan formulasi sterilan tween 20, fungisida, bakterisida, alkohol 70% HgCl<sub>2</sub> 0,05%. Sedangkan *browning* muncul paling cepat pada perlakuan tween 20, fungisida, bakterisida, Bayclin 20%, alkohol 70%, HgCl<sub>2</sub> 0,05%, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 17,6% (11,20 hst) dan

paling lama pada perlakuan tween 20, fungisida, bakterisida, alkohol 70% (27,94 hst).

**Persentase Kontaminasi**

Analisis ragam menunjukkan bahwa faktor tunggal formulasi sterilan berpengaruh nyata terhadap persentase kontaminasi pada umur 2-3 mst. Sedangkan faktor tunggal jenis eksplan berpengaruh nyata terhadap persentase kontaminasi umur 1-4 mst. Rata-rata pengaruh formulasi sterilan dan jenis eksplan terhadap persentase kontaminasi (%) dapat dilihat pada Tabel 2.

Berdasarkan Tabel 2, persentase kontaminasi pada umur 1 mst berkisar antara 36,25-55,00 (%). Formulasi sterilan yang memberikan persentase kontaminasi yang lebih kecil pada umur 2 dan 3 mst adalah tween 20, fungisida, bakterisida, Bayclin 20%, alkohol 70% berturut-turut yaitu 58,75 dan 71,25% yang tidak berbeda nyata dengan persentase kontaminasi dari formulasi sterilan tween 20, fungisida, bakterisida, Bayclin 20%, alkohol 70%, HgCl<sub>2</sub> 0,05% dimana formulasi sterilan ini

memberikan persentase kontaminasi yang lebih kecil pada umur 4 mst, yaitu sebesar 68,75% yang tidak berbeda nyata dengan yang dihasilkan dari perlakuan tween 20, fungisida, bakterisida, Bayclin 20%, alkohol 70%, HgCl<sub>2</sub> 0,05%, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 17,6%. Sementara persentase kontaminasi pada eksplan daun lebih kecil dibandingkan dengan eksplan buku pada umur 1-4 mst masing-masing 32,0; 45,0; 48,0 dan 49,5%.

Tabel 2. Rata-rata pengaruh formulasi sterilan dan jenis eksplan terhadap persentase kontaminasi (%) pada umur 1-4 mst

Formulasi sterilan	Persentase kontaminasi (%)			
	1 mst	2 mst	3 mst	4 mst
s <sub>1</sub> (tween 20, Bayclin 20%, alkohol 70%)	55,00	71,25 <sup>a</sup>	76,25 <sup>a</sup>	76,25 <sup>a</sup>
s <sub>2</sub> (tween 20, fungisida, bakterisida, alkohol 70%)	40,00	68,75 <sup>a</sup>	78,75 <sup>a</sup>	82,50 <sup>a</sup>
s <sub>3</sub> (tween 20, fungisida, bakterisida, Bayclin 20%, alkohol 70%)	46,25	58,75 <sup>ab</sup>	71,25 <sup>ab</sup>	76,25 <sup>a</sup>
s <sub>4</sub> (tween 20, fungisida, bakterisida, Bayclin 20%, alkohol 70%, HgCl <sub>2</sub> 0,05%)	36,25	50,00 <sup>b</sup>	61,25 <sup>b</sup>	68,75 <sup>ab</sup>
s <sub>5</sub> (tween 20, fungisida, bakterisida, Bayclin 20%, alkohol 70%, HgCl <sub>2</sub> 0,05%, H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 17,6%)	36,25	52,50 <sup>b</sup>	61,25 <sup>b</sup>	61,25 <sup>b</sup>
j <sub>1</sub> : daun	32,00	45,00	48,00	49,50
j <sub>2</sub> : buku	53,50	75,50	91,50	96,50

Keterangan : angka yang diikuti dengan huruf yang sama pada kolom yang sama untuk formulasi sterilan menunjukkan tidak berbeda nyata menurut uji DMRT taraf nyata 5%. Untuk jenis eksplan berbeda nyata menurut uji t

### Persentase *Browning*

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa interaksi antara formulasi sterilan dengan jenis eksplan berpengaruh nyata terhadap persentase *browning*. Rata-rata

pengaruh interaksi antara formulasi sterilan dengan jenis eksplan berpengaruh nyata terhadap persentase *browning* (%) disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Rata-rata pengaruh interaksi antara formulasi sterilan dengan jenis eksplan berpengaruh nyata terhadap persentase *browning* (%) pada umur 1-4 mst

Formulasi sterilan	Jenis eksplan	Persentase <i>browning</i> (%)			
		1 mst	2 mst	3 mst	4 mst
s <sub>1</sub> (tween 20, Bayclin 20%, alkohol 70%)	Daun	5,0 <sup>bc</sup>	7,5 <sup>bc</sup>	7,5 <sup>bc</sup>	22,5 <sup>b</sup>
	Buku	0,0 <sup>c</sup>	0,0 <sup>c</sup>	0,0 <sup>c</sup>	0,0 <sup>c</sup>
s <sub>2</sub> (tween 20, fungisida, bakterisida, alkohol 70%)	Daun	0,0 <sup>c</sup>	0,0 <sup>c</sup>	0,0 <sup>c</sup>	5,0 <sup>c</sup>
	Buku	0,0 <sup>c</sup>	0,0 <sup>c</sup>	0,0 <sup>c</sup>	0,0 <sup>c</sup>
s <sub>3</sub> (tween 20, fungisida, bakterisida, Bayclin 20%, alkohol 70%)	Daun	2,5 <sup>bc</sup>	10,0 <sup>b</sup>	10,0 <sup>b</sup>	20,0 <sup>b</sup>
	Buku	0,0 <sup>c</sup>	0,0 <sup>c</sup>	0,0 <sup>c</sup>	0,0 <sup>c</sup>
s <sub>4</sub> (tween 20, fungisida, bakterisida, Bayclin 20%, alkohol 70%, HgCl <sub>2</sub> 0,05%)	Daun	12,5 <sup>b</sup>	17,5 <sup>b</sup>	17,5 <sup>b</sup>	37,5 <sup>b</sup>
	Buku	0,0 <sup>c</sup>	0,0 <sup>c</sup>	0,0 <sup>c</sup>	0,0 <sup>c</sup>
s <sub>5</sub> (tween 20, fungisida, bakterisida, Bayclin 20%, alkohol 70%, HgCl <sub>2</sub> 0,05%, H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 17,6%)	Daun	22,5 <sup>a</sup>	42,5 <sup>a</sup>	42,5 <sup>a</sup>	60,5 <sup>a</sup>
	Buku	0,0 <sup>c</sup>	0,0 <sup>c</sup>	0,0 <sup>c</sup>	0,0 <sup>c</sup>

Keterangan : angka yang diikuti dengan huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata menurut uji DMRT taraf nyata 5%

Tabel 3 menunjukkan bahwa persentase *browning* terbesar diperoleh dari kombinasi perlakuan tween 20, fungisida, bakterisida, Bayclin 20%, alkohol 70%, HgCl<sub>2</sub> 0,05%, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 17,6% dengan eksplan daun pada umur 1-4 mst berturut-turut 22,5; 42,5; 42,5 dan 60,5%. Semua kombinasi perlakuan formulasi sterilan dengan eksplan buku tidak terjadi *browning* (0%) pada umur 1-4 mst.

**Persentase Eksplan Hidup**

Analisis ragam menunjukkan bahwa faktor tunggal formulasi sterilan

berpengaruh nyata terhadap persentase eksplan hidup pada umur 2-3 mst. Sedangkan faktor tunggal jenis eksplan berpengaruh nyata terhadap persentase eksplan hidup umur 1-4 mst. Rata-rata pengaruh formulasi sterilan dan jenis eksplan terhadap persentase eksplan hidup (%) dapat dilihat pada Tabel 4.

Berdasarkan Tabel 4, persentase eksplan hidup pada umur 1 mst berkisar antara 45,00-63,75 (%). Formulasi sterilan yang memberikan persentase eksplan hidup yang lebih besar pada umur 2 dan 3

mst adalah tween 20, fungisida, bakterisida, Bayclin 20%, alkohol 70% masing-masing sebesar 41,25 dan 28,75% yang tidak berbeda nyata dengan persentase kontaminasi dari formulasi sterilan tween 20, fungisida, bakterisida, Bayclin 20%, alkohol 70%, HgCl<sub>2</sub> 0,05% dimana formulasi sterilan ini memberikan persentase eksplan hidup yang lebih besar pada umur 4 mst, yaitu sebesar 31,25%

yang tidak berbeda nyata dengan yang dihasilkan dari perlakuan tween 20, fungisida, bakterisida, Bayclin 20%, alkohol 70%, HgCl<sub>2</sub> 0,05%, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 17,6%. Sementara persentase eksplan hidup pada eksplan daun lebih besar dibandingkan dengan eksplan buku pada umur 1-4 mst masing-masing 68,0; 55,0; 52,0 dan 50,0%.

Tabel 4. Rata-rata pengaruh formulasi sterilan dan jenis eksplan terhadap persentase eksplan hidup (%) pada umur 2-4 mst

Formulasi sterilan	Persentase eksplan hidup (%)			
	1 mst	2 mst	3 mst	4 mst
s <sub>1</sub> (tween 20, Bayclin 20%, alkohol 70%)	45,00	28,75 <sup>b</sup>	23,75 <sup>b</sup>	23,75 <sup>bc</sup>
s <sub>2</sub> (tween 20, fungisida, bakterisida, alkohol 70%)	60,00	31,25 <sup>b</sup>	21,25 <sup>b</sup>	17,50 <sup>c</sup>
s <sub>3</sub> (tween 20, fungisida, bakterisida, Bayclin 20%, alkohol 70%)	53,75	41,25 <sup>ab</sup>	28,75 <sup>ab</sup>	23,75 <sup>bc</sup>
s <sub>4</sub> (tween 20, fungisida, bakterisida, Bayclin 20%, alkohol 70%, HgCl <sub>2</sub> 0,05%)	63,75	50,00 <sup>a</sup>	38,75 <sup>a</sup>	31,25 <sup>ab</sup>
s <sub>5</sub> (tween 20, fungisida, bakterisida, Bayclin 20%, alkohol 70%, HgCl <sub>2</sub> 0,05%, H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 17,6%)	63,75	47,50 <sup>a</sup>	30,75 <sup>ab</sup>	38,75 <sup>a</sup>
j <sub>1</sub> : daun	68,00	55,00	52,00	50,50
j <sub>2</sub> : buku	46,50	24,50	8,50	3,50

Keterangan : angka yang diikuti dengan huruf yang sama pada kolom yang sama untuk formulasi sterilan menunjukkan tidak berbeda nyata menurut uji DMRT taraf nyata 5%.

Untuk jenis eksplan berbeda nyata menurut uji t

### Pembahasan

Hasil penelitian menunjukkan kisaran munculnya kontaminasi antara 1-2 mst dimana pada formulasi sterilan tween 20, fungisida, bakterisida, alkohol 70%, kontaminasi baru muncul di atas satu minggu. Pada umumnya, kontaminasi permukaan yang disebabkan oleh jamur

akan muncul di bawah umur satu minggu apabila prosedur sterilisasinya belum sesuai. Sementara apabila baru terjadi kontaminasi lebih dari satu minggu, kemungkinan disebabkan oleh kontaminan internal seperti bakteri atau spora jamur yang pada awalnya dalam keadaan dorman. Sesuai dengan pernyataan Santoso

dan Nursandi (2002) bahwa sumber kontaminan tidak hanya berada pada bagian permukaan eksplan saja namun juga ada pada bagian dalam eksplan. Respon kontaminasi yang berasal dari permukaan eksplan biasanya sangat cepat yaitu 2 x 24 jam. Namun, bila bersifat internal respon muncul setelah beberapa hari bahkan 1 bulan setelah tanam.

Kontaminasi muncul lebih cepat pada formulasi sterilan yang tidak menggunakan fungisida dan bakterisida. Hal ini menunjukkan fungisida dan bakterisida memang diperlukan dalam rangkaian sterilisasi eksplan tanaman lahung. Di lain sisi penggunaan agen sterilan kuat seperti  $\text{HgCl}_2$  (merkuri klorida) dan  $\text{H}_2\text{O}_2$  (hidrogen peroksida) tidak cukup kuat untuk memperlambat kemunculan kontaminasi. Hal ini diduga konsentrasi dan waktu yang digunakan dalam penelitian ini yang belum mencapai level optimum, dimana konsentrasi  $\text{HgCl}_2$  yang digunakan sebesar 0,05% dengan waktu perendaman selama satu menit. Sedangkan untuk konsentrasi  $\text{H}_2\text{O}_2$  yang digunakan sebesar 17,6% dengan perendaman selama lima menit. Menurut Gunawan (1992)  $\text{HgCl}_2$  merupakan disinfektan yang sangat efektif untuk membunuh jamur dan bakteri pada sterilisasi permukaan dalam kisaran

konsentrasi 0,1-0,2 % dengan lama perendaman 10-20 menit. Sementara kisaran konsentrasi  $\text{H}_2\text{O}_2$  yang dapat meniadakan kontaminasi pada kultur embrio kepel diperoleh antara 5-15 % dengan perendaman selama 10 dan 15 menit (Handayani, 2019).

Kontaminasi yang terjadi dalam perbanyakan secara *in vitro* umumnya disebabkan oleh mikroorganisme dari golongan jamur dan bakteri. Patogen penyebab kontaminan akan mudah tumbuh di media tanam yang mengandung sukrosa dan hara yang tinggi serta kondisi suhu dan kelembaban yang umumnya sesuai bagi pertumbuhan mikroorganisme. Hal ini yang menyebabkan kontaminan dapat berkembang sangat cepat dan mengalahkan pertumbuhan eksplan (Henuhili, 2013). Oleh sebab itu diperlukan percobaan untuk memperoleh prosedur sterilisasi yang tepat bagi suatu jenis tanaman. Kunci utama sterilisasi adalah membunuh atau menghilangkan penyebab kontaminasi tetapi tidak merusak atau mematikan jaringan tanaman yang diinisiasi. Kunci tersebut seringkali menjadi kendala tersendiri untuk mendapatkan bahan kultur yang benar-benar aseptik, terutama untuk jenis-jenis tanaman berkayu dan tahunan (Fauzan *et al.*, 2017). Sterilisasi tanaman berkayu

umumnya memiliki kendala yang lebih besar atau lebih sulit daripada tanaman semusim (Antony *et al.*, 2015).

Hasil pengujian menunjukkan persentase kontaminasi mulai umur 2-4 mst masih tergolong tinggi (di atas 50%). Persentase kontaminasi yang lebih rendah pada umur 4 mst, yaitu sebesar 68,75% terjadi pada formulasi sterilan tween 20, fungisida, bakterisida, Bayclin 20%, alkohol 70%, HgCl<sub>2</sub> 0,05% yang tidak berbeda nyata dengan persentase kontaminasi pada kombinasi perlakuan tween 20, fungisida, bakterisida, Bayclin 20%, alkohol 70%, HgCl<sub>2</sub> 0,05%, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 17,6%. Namun, persentase kontaminasi dalam penelitian ini lebih kecil jika dibandingkan dengan hasil dari penelitian Widiastuti *et al.* (2019) yang menunjukkan bahwa eksplan yang berasal dari daun yang diperlakukan dengan Clorox 20%, Clorox 10%, alkohol 70%, antibiotik 50 mg L<sup>-1</sup>, fungisida dan bakterisida 2% dan Betadine 5% mengalami kontaminasi jamur paling kecil (75%) pada kultur durian merah secara *in vitro*.

Semakin lama masa inkubasi menunjukkan semakin efektifnya penggunaan HgCl<sub>2</sub> dalam formulasi sterilan dalam menekan terjadinya kontaminasi. Menurut Fauzan *et al.* (2017) HgCl<sub>2</sub> merupakan bahan sterilan yang

memiliki sifat sangat kuat untuk membunuh jamur dan bakteri pada konsentrasi rendah. Hal yang perlu diperhatikan bahwa sterilisasi menggunakan HgCl<sub>2</sub> umumnya memiliki konsentrasi dan lama perendaman yang berbeda-beda, tergantung dari jenis tanaman dan eksplan yang disterilisasi. Baghel *et al.* (2008) melakukan sterilisasi eksplan kotiledon jati menggunakan HgCl<sub>2</sub> 0,1% selama 3 menit sedangkan Fauzan *et al.* (2017) memperoleh hasil bahwa perlakuan HgCl<sub>2</sub> 300 mg L<sup>-1</sup> selama 3 menit merupakan konsentrasi terbaik untuk sterilisasi kultur tunas samping jati yang dapat menghasilkan kultur dengan tingkat aseptik tertinggi (85%). Sementara Phulwaria *et al.* (2011) melakukan sterilisasi pada tanaman *Salvadora persica* menggunakan HgCl<sub>2</sub> 0,1% selama 5 – 7 menit dan Daud *et al.* (2012) menggunakan waktu yang lebih singkat, yaitu 15 – 30 detik dengan konsentrasi 2 0,1%, dan persentase kontaminasi pada eksplan daun dan ruas batang *Aquilaria malaccensis* sebesar 10-17 %.

Jenis eksplan juga memberikan pengaruh yang berbeda pada penelitian ini terhadap persentase kontaminasi. Hasil pengujian menunjukkan eksplan buku lebih tinggi tingkat kontaminasinya dibandingkan dengan eksplan daun. Hal ini

diduga pada eksplan buku lahung, larutan sterilan tidak seluruhnya menjangkau bagian lipatan pada buku sehingga kontaminan di bagian tersebut masih dapat hidup. Di satu sisi, pada eksplan daun terjadi kontak permukaan yang sempurna antara bahan sterilan dengan eksplan sebagai dampak penggunaan tween 20 sehingga sterilan dapat lebih efektif bekerja pada eksplan daun. Sesuai dengan pendapat Prayoga (2016) bahwa tween 20 digunakan dengan tujuan untuk memperluas kontak permukaan antara bahan sterilan dan eksplan.

Selain kontaminasi, penyebab kematian eksplan pada kultur jaringan dapat disebabkan oleh adanya *browning*. Peristiwa *browning* atau pencoklatan eksplan terjadi karena adanya pelukaan pada bagian tanaman yang dijadikan eksplan seperti pemotongan eksplan daun. Pelukaan tersebut menyebabkan keluarnya senyawa fenolik yang kemudian teroksidasi dan menghasilkan senyawa yang berwarna coklat. Walaupun *browning* merupakan peristiwa alamiah yang umum terjadi saat tanaman terluka, namun di dalam kultur jaringan apabila terlalu tinggi akan meracuni jaringan tanaman dan menyebabkan kematian pada eksplan.

Tanaman berkayu pada umumnya memiliki kandungan fenolik yang tinggi

sehingga menyebabkan tingkat *browning* yang tinggi. Oleh sebab itu, diperlukan penambahan senyawa antioksidan ke dalam media untuk meminimalisir *browning* yang terjadi. Salah satu bahan yang dapat diberikan dan berfungsi sebagai senyawa antioksidan adalah PVP (polivinil pirolidon) (Dwiyani, 2015). Senyawa antioksidan akan menyerap senyawa fenolik yang keluar sehingga mencegah terjadinya *browning* (Antony *et al.*, 2015).

Pemberian PVP dalam media pada penelitian ini cukup dapat menekan terjadinya *browning* hingga umur 4 mst pada eksplan yang disterilisasi tanpa menggunakan senyawa desinfektan yang kuat seperti HgCl<sub>2</sub> dengan persentase *browning* sebesar 22,5% yang didapatkan dari formulasi sterilan tween 20, Bayclin 20%, alkohol 70%. Penggunaan agen sterilan seperti HgCl<sub>2</sub> apabila dalam konsentrasi dan dengan lama perendaman yang tidak tepat justru dapat mematikan jaringan tanaman. Hal ini sejalan dengan penelitian Kariena *et al.* (2020) yang mendapati eksplan daun stevia menjadi berwarna coklat pada perlakuan fungisida, bakterisida, HgCl<sub>2</sub> 0,1%, alkohol 70%, Bayclin 5%. Menurut Fauzan *et al.* (2017) penggunaan HgCl<sub>2</sub> juga berpengaruh terhadap kerusakan jaringan tanaman. Hal ini didukung oleh hasil penelitian yang

dilakukan oleh Tiwari *et al.* (2012) dimana sterilisasi eksplan tanaman tebu (*Saccharum officinarum*) menggunakan  $\text{HgCl}_2$  0,2% selama 12 menit menyebabkan eksplan mengalami *browning* dan mati pada hari ke 4 sampai 7 setelah tanam.

Dalam penelitian ini, eksplan buku lahung tidak mengalami *browning* selain disebabkan efek penggunaan PVP, juga karena ukuran eksplan yang cukup kecil yaitu panjang buku 1 cm. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Fauzan *et al.* (2017) dimana ukuran eksplan yang kecil, yaitu panjang 1 cm dan diameter 0,2 mm dapat mendukung proses sterilisasi dan mengurangi tingkat *browning* pada kultur *in vitro*. Hasil ini diperkuat oleh hasil penelitian Singh dan Patel (2016) pada tanaman delima (*Punica granatum* L.) dimana ukuran eksplan berpengaruh terhadap tingkat *browning*. Hasil penelitian tersebut diperoleh bahwa semakin panjang ukuran eksplan ( $> 1,5$  cm) maka tingkat *browning* juga semakin tinggi, sehingga terdapat hubungan intensitas *browning* yang dihasilkan terhadap ukuran tunas yang ditanam. Sementara ukuran eksplan daun yang ditanam dalam penelitian ini sebesar 1x1 cm. persentase *browning* yang lebih tinggi pada eksplan daun diduga karena luasan bagian eksplan daun yang

mengalami pelukaan lebih besar dibandingkan dengan eksplan buku sehingga senyawa fenolik yang keluar juga semakin banyak.

Persentase hidup eksplan akan berbanding terbalik dengan persentase kontaminasi. Pada semua formula sterilan cenderung terjadi penurunan persentase eksplan hidup setiap minggunya hingga umur 4 mst dimana persentase hidup yang lebih tinggi diperoleh pada formulasi sterilan tween 20, fungisida, bakterisida, Bayclin 20%, alkohol 70%,  $\text{HgCl}_2$  0,05% (31,25%) yang tidak berbeda nyata dengan persentase hidup pada perlakuan tween 20, Bayclin 20%, alkohol 70%,  $\text{H}_2\text{O}_2$  17,6%. Hal ini menunjukkan untuk sterilisasi daun dan buku durian lahung yang meningkatkan persentase hidup maka perlu penggunaan  $\text{HgCl}_2$ . Walaupun  $\text{HgCl}_2$  termasuk agen sterilan dengan toksisitas yang tinggi, namun dapat efektif mematikan jamur dan bakteri penyebab kontaminasi. Tentunya dengan batasan konsentrasi dan lama perendaman yang sesuai. Oleh sebab itu, diperlukan pengujian terlebih dahulu terhadap konsentrasi dan waktu perendaman yang tepat untuk menekan kontaminasi tanpa merusak jaringan eksplan sehingga memperbesar persentase hidup eksplan. Seperti halnya hasil penelitian yang

dilakukan Antony *et al.* (2015), dimana menggunakan  $\text{HgCl}_2$  pada konsentrasi 0,15% selama 15 menit pada eksplan jati menunjukkan tingkat keberhasilan kultur yang rendah (41,68%). Hal ini diduga lama perendaman yang terlalu lama sehingga jaringan eksplan justru mengalami kerusakan. Hasil yang berbeda diperoleh Mekonnen *et al.* (2013) menggunakan  $\text{HgCl}_2$  0,1% dengan waktu 10 menit pada tanaman tebu (*Saccharum officinarum*) dapat menghasilkan tingkat hidup sebesar 73,33%.

Eksplan daun menunjukkan persentase hidup yang lebih besar dibandingkan dengan eksplan buku. Hal ini disebabkan pada bagian buku kemungkinan besar masih terdapat bagian yang tidak terjangkau larutan sterilan sehingga mikroorganisme penyebab kontaminasi pada bagian tersebut tidak mati. Akibatnya tingkat kontaminasi pada eksplan daun menjadi tinggi dan menyebabkan kematian eksplan. Hal ini dikarenakan kontaminan baik fungi maupun bakteri bersifat kompetitor terhadap perebutan nutrisi pada media dan parasit bagi eksplan dikarenakan kontaminan menghambat perkembangan eksplan sehingga eksplan mati (Imanudin, 2016). Selain itu, beberapa kontaminan baik bakteri maupun fungi dapat

mengeluarkan persenyawaan semacam eksudat yang bersifat racun bagi eksplan sehingga eksplan mati (Shofiyani & Hajoeningtjas, 2011). Sejalan dengan hasil penelitian Kariena *et al.* (2020) dimana rata-rata kombinasi jenis sterilan dengan eksplan daun (38,89%) lebih besar daripada yang dengan eksplan buku (11,11%) pada kultur tanaman stevia.

### KESIMPULAN

Kombinasi antara formulasi sterilan tween 20, fungisida, bakterisida, Bayclin 20%, alkohol 70%,  $\text{HgCl}_2$  0,05%,  $\text{H}_2\text{O}_2$  17,6% dengan eksplan daun menghasilkan persentase *browning* yang terbesar hingga umur 4 mst yaitu sebesar 60,5%. Pada semua kombinasi antara formulasi sterilan dengan eksplan buku tidak terjadi *browning*. Formulasi sterilan tween 20, fungisida, bakterisida, alkohol 70% memberikan waktu muncul kontaminasi dan *browning* yang terlama masing-masing sebesar 9,98 dan 27,94 hst, persentase kontaminasi yang lebih kecil pada umur 2 dan 3 mst (58,75 dan 71,25%) dan persentase eksplan hidup yang lebih besar (41,25 dan 28,75%), sedangkan pada umur 4 mst diperoleh dari formulasi sterilan tween 20, fungisida, bakterisida, Bayclin 20%, alkohol 70%,  $\text{HgCl}_2$  0,05%, yaitu persentase kontaminasi 68,75% dan

persentase hidup sebesar 31,25%. Eksplan daun memiliki persentase kontaminasi yang lebih kecil dan persentase eksplan hidup yang lebih besar dibandingkan dengan eksplan buku.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Antarlina, S.S. 2009. Identifikasi sifat fisik dan kimia buah-buahan lokal Kalimantan. *Buletin Plasma Nutfah*, 15(2): 80-90.
- Aprilianti, P. 2019. Konservasi ex-situ *Durio* spp. di Kebun Raya Bogor (Jawa Barat) dan Kebun Raya Katingan (Kalimantan Tengah). *Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia* 5(1), 123-128.
- Baghel, R.S., Tiwari, S., Tripathi, M.K. 2008. Comparison of morphogenic and plant regeneration ability of some explants of teak (*Tectona grandis* Linn.). *J. Agri.c Technol.* 4: 125-136.
- Budiarti, C. 2017. Pengaruh teknik sterilisasi dan zat pengatur tumbuh 2,4-D (2,4-diklorofenoksiasetat), BAP (benzil amino purin) terhadap induksi kalus nilam. *Diploma Thesis*, Universitas Islam Negeri Sunan Gunung Djati.
- Daud, N.H., Jayaraman, S., Mohamed, R. 2012. Methods Paper: An improved surface sterilization technique for introducing leaf, nodal and seed explants of *Aquilaria malaccensis* from field sources into tissue culture. *Aspac J. Mol. Biol. Biotechnol.*, 20: 55-58.
- Fauzan, Y.S.A., Supriyanto, Tajuddin, T. 2017. Efektivitas merkuri klorida (HgCl<sub>2</sub>) pada sterilisasi tunas samping jati (*Tectona grandis*) in vitro. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia*, 4(2); 78-84.
- Handayani, R. S., Ismayadi, Sayuti, M., & Cici, R.H. 2018. Pengaruh bahan sterilan etanol dan merkuri klorida terhadap pertumbuhan eksplan tunas durian (*Durio zibethinus*) secara in vitro. *Prosiding Forum Komunikasi Perguruan Tinggi Pertanian Indonesia (FKPTPI) Universitas Syiah Kuala Banda Aceh*, 271-276.
- Henuhili, V. 2013. Kultur jaringan tanaman. *Pelatihan Peningkatan Pengetahuan dan Skill Guru SMA Tentang Bioteknologi Tanaman Melalui Metode Kultur Jaringan Anggrek Jurusan Pendidikan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Yogyakarta*.
- Imanudin. 2016. Pengaruh penambahan air rebusan kentang (*Solanum tuberosum* L.), BAP dan NAA terhadap induksi tunas jati emas (*Cordia subcordata*) secara in vitro. *Thesis*, Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.
- Keller, E.R.J., Senula, A., Leunufna, S., Grube, M. 2006. Slow growth storage and cryopreservation-tools to facilitate germplasm maintenance of vegetatively propagated crops in living plant collections. *Int. J. Refrig.*, 29; 411-417.

- Maysyarah, Rudiyanasyah, Alimuddin, A.H. 2019. Karakteristik senyawa triterpenoid dari fraksi diklorometana kulit batang durian merah (*Durio dulcis* Becc.). *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 8(2): 22-27.
- Mekonnen, T., Diro, M., Sharma, M. 2013. An alternative safer and cost effective surface sterilization method for sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) explants. *Afr. J. Biol.*, 1, 28-32.
- Phulwaria, M., Ram, K., Gahlot, P., Shekhawat, N.S. 2011. Micropropagation of *Salvadora persica* - A tree of arid horticulture and forestry. *New Forests* 42: 317-327.
- Prayoga, L. 2016. Proses sterilisasi dan penanganan kontaminasi. Jurusan Biologi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Soedirman. Semarang.
- Santoso, U., Nursandi, F. 2003. *Kultur Jaringan Tanaman*. Malang, Universitas Muhammadiyah Press.
- Shofiyani, A., Hajoeningtjas, O.D. 2011. Pengaruh sterilan dan waktu perendaman pada eksplan daun kencur (*Kaempferia galanga* L.) untuk meningkatkan keberhasilan kultur kalus. *Jurnal Agritech*, 12(1): 11-29.
- Sugiyarto, L., Kuswandi, P.C. 2013. Eksplorasi metode sterilisasi dan macam media untuk perbanyak durian (*Durio zibethinus*) secara *in vitro*. *Jurnal Sains Dasar*, 2(1): 20-24.
- Towill, L.E., Jarret, R.L. 1992. Cryopreservation of sweet potato (*Ipomoea batatas* [L.] Lam.) shoot by vitrification. *Plant Cell Rep.*, 11: 175-178.
- Singh P., Patel, R.M. 2016. Factors affecting *in vitro* degree of browning and culture establishment of pomegranate. *Afr. J. Plant Sci.*, 10: 43-49.
- Susi. 2017. Identifikasi komponen kimia dan fitokomia durian lahung (*Durio dulcis*) indigenous Kalimantan. *Jurnal Al Ulum Sains dan Teknologi*, 3(1), 49-56.
- Tirtawinata, M.R., Santoso, P.J., Apriyanti, L.H. 2016. *Durian: Pengetahuan Dasar untuk Pecinta Durian*. Jakarta, Agriflo.
- Tiwari A.K., Tripathi, S., Lal, M., Mishra, S. 2012. Screening of chemical some disinfectants for media sterilization during *in vitro* micropropagation of sugarcane. *Sugar Tech.*, 14: 364-369.
- Uji, T. 2005. Keanekaragaman jenis dan sumber plasma nutfah Durio (*Durio* spp.) di Indonesia. *Buletin Plasma Nutfah*, 11(1): 28-33.
- Widiastuti, Y., Bariyyah, K., Istianingrum, P., Hartatik, S., Restanto, D.P. 2019. Eksplorasi bagian eksplan biji durian merah untuk pembentukan kalus secara *in vitro*. *Prosiding SEMNASDAL (Seminar Nasional Sumber Daya Lokal) II*, 372-379.