

Pengaruh Jenis dan Lama Perendaman Bahan Sterilan Terhadap Eksplan Anter Gambir (*Uncaria gambir* (Hunter) Roxb.)

Elara Resigia, Welly Herman

Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Tamansiswa Padang, Sumatera Barat Indonesia,
Corresponding Author, email : elara.resigia@gmail.com

Submitted : 09-11-2017, Reviewed : 23-01-2018, Accepted : 14-03-2018

DOI : <http://doi.org/10.22216/jbvt.v2i2.2802>

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan kombinasi jenis sterilan dan lama perendaman bahan sterilan terhadap keberhasilan kultur anter tanaman gambir. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan 1 faktor terdiri atas 6 perlakuan dan 3 ulangan. Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif. Hasil penelitian menunjukkan metode sterilisasi bunga gambir terbaik adalah bunga gambir disemprot dengan fungisida dan bakterisida pada sore hari dan diisolasi sebelum bunga diambil pada besok pagi, bunga dari lapangan, dibilas air mengalir dan direndam bayclin 10 % selama 1 menit serta dibilas aquades steril tiga kali, terakhir bunga direndam asam askorbit 0,02 % selama 5 menit.

Kata kunci : Bunga gambir; kultur in vitro; sterilisasi

ABSTRACT

The aim of this research is to get combination of sterilan type and duration of immersion of sterilan material to the success of anther culture of gambir plants. This study used a Completely Randomized Design with 1 factor consisting of 6 treatments and 3 replications. The data obtained were analyzed descriptively. The best gambir flower sterilization method was gambir flower sprayed with fungicide and bactericide in the afternoon and isolated before flower taken tomorrow morning, flower from the field, rinsed water and soaked 10% bayclin for 1 minute and rinsed sterile aquades three times, last flower soaked 0.02% ascorbic acid for 5 minutes

Keywords: Gambir flower; in vitro culture; sterilization

PENDAHULUAN

Bahan tanaman (eksplan) yang bebas kontaminasi merupakan langkah awal dalam keberhasilan kultur jaringan. Sterilisasi bahan tanam menjadi salah satu faktor dalam keberhasilan dalam kultur ini. Tingkat kontaminasi permukaan bahan tanaman tergantung pada : (a) jenis tanaman; (b) bagian yang dipergunakan; (c) morfologi permukaan; (d) lingkungan tumbuh; (e) musim; (f) umur tanaman; dan (g) kondisi tanaman (Suliansyah, 2013). Keadaan tersebut menyukarkan penentuan suatu prosedur sterilisasi standar yang berlaku untuk semua tanaman ataupun bagian tanaman itu sendiri. Setiap bahan tanaman ditentukan melalui berbagai percobaan.

Bahan tanam harus disterilisasi dengan baik. Hal penting yang harus diperhatikan dalam sterilisasi ini adalah sel tanaman dan kontaminan adalah sama-sama benda hidup. Kontaminasi harus dihilangkan tanpa mematikan sel tanaman. Di negara-negara tropis, kontaminasi permukaan ini biasanya merupakan hal yang cukup serius. Oleh sebab itu, maka tahap sterilisasi harus dilakukan (Gunawan, 1988).

Sumber kontaminasi, yang paling sulit diatasi adalah yang berasal dari eksplan. Untuk menghilangkan sumber infeksi, bahan tanaman harus disterilkan sebelum ditanamkan pada media tumbuh (Zulkarnain, 2011). Eksplan yang ditanam harus bebas dari kontaminasi terutama sumber eksplan yang diambil di lapangan yang mengandung banyak mikroorganisme pengkontaminan. Selain itu, gambir mengandung senyawa fenolik berkadar tinggi yang akan

menyebabkan terjadinya pencoklatan jaringan (browning). Pencoklatan ini disebabkan oleh oksidasi polyphenol, katekin dan tanin yang dirangsang oleh pelukaan jaringan tanaman. Pencoklatan ini akan menghambat pertumbuhan bahkan menyebabkan kematian dari eksplan. Keadaan tersebut menyukarkan penentuan suatu prosedur sterilisasi standar yang berlaku untuk semua tanaman ataupun bagian tanaman itu sendiri. Setiap bahan tanaman ditentukan melalui berbagai percobaan. Adapun tujuan dari penelitian ini Oleh karena itu, diperlukan metode sterilisasi bahan tanam yang tepat untuk mencapai keberhasilan kultur anter tanaman gambir tersebut. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk memperoleh metode sterilisasi yang tepat dalam kultur anter tanaman gambir

METODE PENELITIAN

Penelitian ini telah dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Fakultas Pertanian Universitas Andalas, pada Februari 2015. Bahan tanaman yang digunakan adalah bunga gambir dan media yang digunakan adalah media MS, agar bacto dengan konsentrasi 2 gram per liter media, sukrosa 30 gram per liter media, arang aktif 1 g/l, HCl 0,1 N, KOH 0,1 N, spiritus, aquades steril, alkohol 70%, fungisida (dithane-45), bakterisida (agrept 20 wp), bayclin, sabun, asam askorbit 0,02 %, plastik wrap, alumunium foil, plastik bening, karet gelang, tissue, karton hitam, lakban dan lain-lain yang dirasa perlu. Alat yang digunakan adalah gunting, pinset, botol kultur, LAFC (Laminar Air Flow Cabinet), gelas beker, gelas ukur, labu semprot, autoklaf, hot plate - magnetic stirer, pengaduk gelas, pipet mikro, pH meter, handsprayer, karton hitam, timbangan analitik, label, alat tulis, plastik wrap, lakban bening, rak kultur yang dilengkapi dengan lampu flouresence dan ruangan yang dilengkapi pengatur suhu, kamera digital, serta alat-alat lain yang dirasa perlu. Penelitian ini menurut jenisnya merupakan penelitian eksperimen yang bertujuan untuk mendapatkan kombinasi jenis sterilan dan lama perendaman dari bahan sterilan dalam kultur *in vitro*. Data hasil penelitian dianalisis secara deskriptif. Adapun rancangan yang digunakan pada tahap ini adalah rancangan acak lengkap (RAL) dengan 6 perlakuan dan 3 ulangan. Dalam 1 ulangan terdapat 5 botol, sehingga total satuan percobaan adalah 90. Adapun perlakuan sterilisasi yang dilakukan adalah sebagai berikut:

- a. Bunga dari lapangan → rendam fungisida 10 menit → cuci sabun → bilas air mengalir → rendam bayclin 5 % 5 menit → bilas aquades steril tiga kali → rendam asam askorbit 0,02 % 2 menit.
- b. Bunga dari lapangan → rendam fungisida 2 menit → cuci sabun → bilas air mengalir → rendam alkohol 70% 1 menit → bilas aquades steril tiga kali → rendam asam askorbit 0,02 % 2 menit.
- c. Bunga dari lapangan → rendam fungisida 7 menit → bilas air mengalir → rendam bayclin 10 % 5 menit → bilas aquades steril tiga kali → rendam asam askorbit 0,02% 2 menit.
- d. Bunga disemprot dengan fungisida dan bakterisida pada sore hari dan diisolasi sebelum bunga diambil pada besok pagi. Bunga dari lapangan → bilas air mengalir → rendam bayclin 10 % 5 menit → bilas aquades steril tiga kali → rendam asam askorbit 0,02 % 5 menit.
- e. Bunga disemprot dengan fungisida dan bakterisida pada sore hari dan diisolasi sebelum bunga diambil pada besok pagi. Bunga dari lapangan → bilas air mengalir → rendam bayclin 10 % 1 menit → bilas aquades steril tiga kali → rendam asam askorbit 0,02 % selama 5 menit.
- f. Bunga disemprot dengan fungisida dan bakterisida pada sore hari dan diisolasi sebelum bunga diambil pada besok pagi. Bunga dari lapangan → bilas air mengalir → rendam sabun 1 menit → bilas aquades steril tiga kali → rendam asam askorbit 0,02 % 5 menit.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan metode sterilisasi eksplan (Tabel 1), maka metode yang tepat untuk tahapan penelitian selanjutnya adalah Bunga disemprot dengan fungisida dan bakterisida pada sore hari dan diisolasi sebelum bunga diambil pada besok pagi. Bunga dari di lapangan, kemudian dibilas dengan air mengalir dan direndam dengan bayclin 10 % selama 1 menit serta dibilas dengan aquades steril sebanyak tiga kali. Terakhir bunga gambir direndam dengan asam askorbit 0,02 % selama 5 menit. Sterilisasi ini digunakan karena jumlah eksplan hidup yang diperoleh paling tinggi dan sedikit kontaminan serta eksplan yang browning tidak ada sampai minggu ke-4.

Berdasarkan hasil penelitian (Payamanour, Bezdi, Mehrdad, & Ahmadi, 2014) bahwa pada sterilisasi *Tilia platyphyllos*, diperoleh senyawa fenolik superabundan dapat dikurangi dengan menggunakan asam askorbat. Protokol optimum menggunakan larutan pra sterilisasi asam askorbat 600 mg/L, fungisida captan 4g/L dan larutan natrium hipoklorit 5% selama 20 menit.

Tabel 1. Pengaruh jenis dan lama perendaman bahan sterilan terhadap eksplan anter gambir

No	Perlakuan	Σ Eksplan Hidup	Σ Kontaminan	Σ Browning
1	Bunga yang telah diambil di lapangan, direndam dengan fungisida selama 10 menit. Kemudian dicuci dengan sabun dan dibilas dengan air mengalir. Setelah itu, bunga gambir direndam dengan bayclin 5 % selama 5 menit. Setelah itu, bunga dibilas dengan aquades steril sebanyak tiga kali. Terakhir bunga direndam dengan asam askorbit 0,02 % selama 2 menit.	-	1	14 (Gam 1)
2	Bunga yang telah diambil di lapangan, direndam dengan fungisida selama 2 menit. Kemudian dicuci dengan sabun dan dibilas dengan air mengalir. Setelah itu, bunga gambir direndam dengan alkohol 70% selama 1 menit. Setelah itu, bunga dibilas dengan aquades steril sebanyak tiga kali. Terakhir bunga direndam dengan asam askorbit 0,02 % selama 2 menit.	-	-	15 (Gam 1)
3	Bunga yang telah diambil di lapangan, direndam dengan fungisida selama 7 menit. Kemudian dibilas dengan air mengalir. Setelah itu, bunga gambir direndam dengan bayclin 10 % selama 5 menit. Bunga dibilas dengan aquades steril sebanyak tiga kali. Terakhir bunga direndam dengan asam askorbit 0,02 % selama 2 menit.	-	2	13 (Gam 1)
4	Bunga gambir yang dijadikan sebagai eksplan disemprot dengan fungisida dan bakterisida pada sore hari dan diisolasi sebelum bunga diambil pada besok pagi. Bunga yang telah diambil di lapangan, kemudian dibilas dengan air mengalir dan direndam dengan bayclin 10 % selama 5 menit serta dibilas dengan aquades steril sebanyak tiga kali. Terakhir bunga gambir direndam dengan asam askorbit 0,02 % selama 5 menit.	3	3	9 (Gam 1)
5	Bunga gambir yang dijadikan sebagai eksplan disemprot dengan fungisida dan bakterisida pada sore hari dan diisolasi sebelum bunga diambil pada besok pagi. Bunga yang telah diambil di lapangan, kemudian dibilas dengan air mengalir. Setelah itu, bunga direndam dengan bayclin 10 % selama 1 menit dan dibilas dengan aquades steril sebanyak tiga kali. Terakhir bunga gambir direndam dengan asam askorbit 0,02 % selama 5 menit.	12	3	-
6	Bunga gambir yang dijadikan sebagai eksplan disemprot dengan fungisida dan bakterisida pada sore hari dan diisolasi sebelum bunga diambil pada besok pagi. Setelah bunga diambil di lapangan, bunga dibilas dengan air mengalir. Setelah itu, bunga gambir direndam dengan sabun selama 1 menit dan dibilas dengan aquades steril sebanyak tiga kali. Terakhir bunga gambir direndam dengan asam askorbit 0,02 % selama 5 menit.	1	14	-

Keterangan : tanda (-) pada Σ eksplan hidup berarti tidak adanya eksplan yang hidup, hingga akhir pengamatan eksplan *browning* dan mati
 tanda (-) pada Σ kontaminasi berarti hingga akhir pengamatan eksplan tidak terkontaminasi
 tanda (-) pada Σ *browning* berarti hingga akhir pengamatan tidak ada eksplan yang *browning*
 Percobaan dilakukan untuk lama penyimpanan bunga selama 0 - 1 hari

Sterilisasi eksplan yang bebas kontaminasi merupakan langkah awal dalam keberhasilan dalam kultur jaringan pada umumnya dan kultur anter khususnya. Biasanya bahan tanaman yang berasal dari lapangan mengandung berbagai kontaminasi baik pada permukaannya maupun kontaminan internal (Suliansyah, 2013). Salah satu kontaminan pada bunga gambir yang terdapat di lapangan yaitu jamur. Penggunaan bahan sterilan selain menghambat perkembangan mikroorganisme kontaminan juga dapat menyebabkan eksplan mengalami *browning* terutama pada bahan tanaman yang relatif muda. Proses *browning* menghambat pertumbuhan eksplan dan menurunkan fungsi fisiologi dari eksplan hingga eksplan mengalami kematian. Penggunaan bahan sterilan selain menghilangkan sumber kontaminan juga memberikan dampak terhadap terjadinya proses *browning* pada eksplan paulownia (Wulandari & Nasution, 2014).

Menurut Hendaryono dan Wijayani (1994) sterilisasi eksplan dapat dilaksanakan dengan dua cara, yaitu secara mekanik dan secara kimia. Sterilisasi eksplan secara mekanik digunakan untuk eksplan yang keras atau berdaging, yaitu dengan membakar eksplan tersebut di atas lampu spiritus sebanyak tiga kali. Sedangkan sterilisasi eksplan secara kimia digunakan untuk eksplan yang lunak (jaringan muda) seperti daun, tangkai daun, anther, dan sebagainya.



Gambar 1. Eksplan anter gambir yang *browning* setelah tanam (ditunjukkan oleh panah)

SIMPULAN

Metode sterilisasi bunga gambir terbaik adalah bunga gambir disemprot dengan fungisida dan bakterisida pada sore hari dan diisolasi sebelum bunga diambil pada besok pagi, bunga dari lapangan, dibilas air mengalir dan direndam bayclin 10 % selama 1 menit serta dibilas aquades steril tiga kali, terakhir bunga direndam asam askorbit 0,02 % selama 5 menit.

DAFTAR PUSTAKA

- Gunawan, L. W. 1988. Teknik Kultur Jaringan Tumbuhan. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Institut Pertanian Bogor : Bogor
- Hendaryono, D. P. S. dan A. Wijayani. 2002. Teknik Kultur Jaringan: Pengenalan dan Petunjuk

Perbanyak Tanaman Secara Vegetatif-Modem. Kanisius : Yogyakarta.

Payamanour, V., Bezdi, K., Mehrdad, M., & Ahmadi, A. (2014). Optimization of In Vitro Sterilization Protocol for Obtaining Contamination Free Cultures of *Tilia platyphyllos*. *Nusantara Bioscience*, 6(1), 7–12. <https://doi.org/10.13057/nusbiosci/n060102>

Suliansyah, I. 2013. Kultur Jaringan Tanaman. LeutikaPrio : Yogyakarta.

Wulandari, A. S., & Nasution, S. S. (2014). Pengaruh Bahan Sterilan terhadap Keberhasilan Inisiasi Eksplan Paulownia (*Paulownia elongata* SY Hu) secara In Vitro. *Jurnal Silvikultur Tropika*, 5(1), 1–6.

Zulkarnain. 2011. Kultur Jaringan Tanaman. Jakarta: Bumi Aksara