

PENGARUH FORMULASI BAHAN STERILAN DAN POSISI DAUN PADA KULTUR DURIAN LAHUNG (*Durio dulcis*)

Nofia Hardarani*, Chatimatun Nisa

Program Studi Agronomi Fakultas Pertanian Universitas Lambung Mangkurat, Jl. Jend A. Yani Km 36
Simpang Empat Banjarbaru, Kalimantan Selatan, Indonesia

*Penulis korespondensi: nofia.hardarani@ulm.ac.id

Abstrak. Salah satu jenis durian endemik Kalimantan ada yang memiliki ciri yang unik yaitu kulitnya berwarna merah. Durian jenis ini dinamakan lahung dan termasuk tanaman yang keberadaannya sudah hampir punah sehingga perlu dilakukan konservasi. Salah satu upaya konservasi ex-situ yang dapat dilakukan adalah menggunakan teknik kultur jaringan. Namun perbanyakannya secara in vitro untuk tanaman ini belum pernah dilakukan sehingga memerlukan prosedur sterilisasi yang tepat sehingga dapat diperoleh bahan tanam yang steril. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui formulasi bahan sterilan dan posisi daun yang tepat untuk kultur daun durian lahung. Penelitian ini didesain menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial dua faktor dan diulang sebanyak empat kali. Faktor pertama adalah formulasi bahan sterilan yang terdiri dari lima taraf dan faktor kedua berupa posisi daun yang terdiri atas dua taraf. Hasil penelitian menunjukkan bahwa waktu muncul kontaminasi dan *browning* yang paling lama diperoleh dari formulasi sterilan tween 20, fungisida, bakterisida, alkohol 70%. Pada kombinasi antara formulasi sterilan tween 20, fungisida, bakterisida, alkohol 70% dengan daun kedua memberikan persentase eksplan hidup yang lebih tinggi dan persentase kontaminasi yang lebih rendah pada umur 1-4 mst. Sedangkan persentase *browning* yang lebih rendah diperoleh dari formulasi sterilan tween 20, Bayclin 20%, alkohol 70% pada umur 1-4 mst.

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

1. PENDAHULUAN

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

Sebanyak 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. Spesies durian yang berada di Kalimantan tersebut Sebagian besarnya merupakan spesies endemik yang biasanya tumbuh liar dan hanya ditemukan di hutan Kalimantan (Tirtawinata *et al.*, 2016).

Tantra (1983) dalam Antarlina (2009) menyatakan terjadi pengikisan plasma nutfah terjadi pada buah-buahan lokal di Kalimantan khususnya dari jenis durian. Salah satu sebagai faktor penyebabnya adalah teknologi budidaya yang tidak memadai. Ditambah lagi durian merupakan jenis tanaman tahunan yang memiliki umur berbuah yang cukup lama, sehingga orang enggan menanamnya. Pohon yang ada umumnya sudah berumur tua namun tidak ada upaya regenerasi tanaman sehingga menyebabkan populasi menjadi semakin berkurang dan mengakibatkan kelangkaan keberadaan tanaman ini. Hal ini sebagai penyebab utama kelestarian tanaman durian lokal menjadi terancam.

Menurut Uji (2005), 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). Disebabkan tingginya jumlah jenis *Durio* yang



endemik di Pulau Kalimantan mengakibatkan Kalimantan dinyatakan sebagai pusat persebaran *Durio* terpenting di dunia.

Lahung (*Durio dulcis*) merupakan salah satu jenis durian endemik Kalimantan yang memiliki warna kulit merah sehingga memiliki keunikan tersendiri. Selain itu, jenis durian ini memiliki rasa yang sangat manis. Hal ini menjadikan lahung berpotensi untuk dikembangkan di masa mendatang (Maysyarah *et al.*, 2019). Upaya pengembangan durian lahung perlu dilakukan agar dapat menjadi salah satu buah unggulan lokal Kalimantan Selatan. Hal ini juga perlu dilakukan agar tidak semakin tergerusnya jenis buah lokal akibat semakin gencarnya buah impor membanjiri Indonesia, termasuk di Kalimantan Selatan. Mengingat hingga saat ini lahung masih merupakan buah hutan dan belum dibudidayakan secara memadai (Susi, 2017).

Hal ini dipertegas oleh *World Conservation Monitoring Centre* (WCMC) dalam Aprilianti (2019) yang menyatakan bahwa berdasarkan data IUCN *Redlist*, salah satu tanaman yang memiliki status keberadaan rawan atau genting di alam adalah durian lahung. Fakta di lapangan menunjukkan bahwa keberadaan tanaman lahung sudah sulit dijumpai bahkan tergolong hampir punah walau di hutan sekalipun. Kayu durian lahung banyak dimanfaatkan sebagai bahan bangunan karena kualitasnya yang bagus. Oleh sebab itu pohon durian lahung sering ditebang untuk diambil kayunya namun tidak ada upaya penanaman kembali dengan jenis tanaman yang sama. Hal ini yang kemudian menyebabkan saat ini pohon dewasa lahung semakin sulit ditemukan. Ditambah lagi habitatnya semakin terganggu akibat degradasi hutan untuk berbagai kepentingan.

Oleh sebab itu diperlukan perhatian dari semua pihak dalam rangka upaya pelestarian plasma nutfah khususnya durian dan kerabatnya yang spesifik di Kalimantan. Salah satu upaya konservasi ini dapat dilakukan dengan cara menanam komoditas tersebut secara *ex-situ* di kebun koleksi (Antarlina, 2009). Namun, konservasi *ex-situ* di lapangan dapat mengalami kendala yaitu terjadinya kehilangan plasma nutfah akibat adanya cekaman abiotik atau biotik seperti organisme pengganggu tanaman (OPT), yaitu hama dan penyakit yang menyerang tanaman (Towill, 2005).

Pengembangan koleksi plasma nutfah secara *in vitro* merupakan strategi alternatif untuk mengatasi masalah budidaya plasma nutfah yang dikonservasi di lapangan. Teknologi *in vitro* saat ini sudah menjadi kebutuhan dalam upaya pemeliharaan diversitas tanaman dalam bentuk koleksi aktif (*active collections*) dan koleksi dasar (*base collections*) (Keller *et al.*, 2006).

Upaya konservasi plasma nutfah menggunakan Teknik kultur jaringan tentunya perlu memperhatikan faktor-faktor penentu keberhasilannya. Salah satunya adalah pemilihan bagian tanaman yang akan digunakan sebagai bahan tanam (eksplan). Salah satu jenis eksplan yang dapat digunakan adalah daun muda. Hal ini karena daun muda merupakan salah satu organ yang memiliki jaringan meristematik (Widhiastuti *et al.*, 2019). Budiarti (2017) menyatakan bahwa ketersediaan daun yang melimpah pada bahan induknya. Hal ini yang menjadi alasan penggunaan daun sering dipilih sebagai eksplan dibandingkan dengan organ tanaman yang lain.

Hal lain yang perlu diperhatikan dalam perbanyakan tanaman secara kultur jaringan adalah adanya 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). Perlu dilakukan upaya untuk meminimalisir terjadinya kontaminasi dalam setiap penanaman eksplan yaitu dengan menggunakan metode sterilisasi yang tepat (Handayani *et al.*, 2018). Umumnya dalam sterilisasi eksplan sering digunakan kombinasi bahan-bahan sterilan, diantaranya fungisida dan bakterisida dan juga berbagai jenis desinfektan dapat digunakan untuk membunuh jamur dan bakteri pada sterilisasi permukaan. Setiap jenis tanaman dan jenis eksplan yang digunakan sering berbeda prosedur sterilisasinya. Oleh sebab itu perlu dilakukan percobaan untuk memperoleh formulasi sterilant yang tepat untuk kultur daun tanaman lahung.

2. METODE

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari daun muda yang diambil dari bibit durian lahung, bahan kimia dalam media MS, ZPT, aquades, dan sterilan. Sedangkan alat yang digunakan berupa botol kultur, peralatan dalam pembuatan media MS dan peralatan tanam secara *in vitro*.

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:

s₁: tween 20, Bayclin 20%, alkohol 70%

s₂: tween 20, fungisida, bakterisida, alkohol 70%

s₃: tween 20, fungisida, bakterisida, Bayclin 20%, alkohol 70%

s₄: tween 20, fungisida, bakterisida, Bayclin 20%, alkohol 70%, HgCl₂ 0,05%

s₅: tween 20, fungisida, bakterisida, Bayclin 20%, alkohol 70%, HgCl₂ 0,05%, H₂O₂ 17,6%.

Faktor kedua berupa posisi daun (D) yang terdiri dari 2 taraf, yaitu d₁: daun muda pertama dan d₂: daun muda kedua.

Dengan demikian terdapat sepuluh kombinasi perlakuan dengan empat kali ulangan sehingga terdapat 40 satuan percobaan. Tiap satuan percobaan terdiri dari sepuluh botol sehingga keseluruhan terdapat 400 botol tanam.

Media yang digunakan adalah media MS dengan penambahan ZPT BAP (*benzyl amino purine*) 5 ppm + 2,4D (*dichlorophenoxy acetic acid*) 1 ppm. Variabel yang diamati terdiri dari waktu muncul kontaminasi (hst/hari setelah tanam), waktu muncul *browning* (hst), persentase eksplan hidup (%), persentase kontaminasi eksplan (%) dan persentase *browning* (%) hingga umur 4 mst *minggu setelah tanam). Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman Fakultas Pertanian ULM.

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 terjadi pengaruh nyata dari interaksi atau faktor tunggal formulasi sterilan. Sedangkan apabila faktor posisi daun yang berpengaruh nyata, akan dilakukan uji t. Pengujian statistik menggunakan *software Genstat*.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Waktu Muncul Kontaminasi dan *Browning*

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. Berdasarkan Tabel 1, formulasi sterilan tween 20, fungisida, bakterisida, alkohol 70% menghasilkan waktu muncul kontaminasi dan waktu muncul *browning* yang paling lama, masing-masing yaitu 11,82 dan 28,55 hst

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.

Penggunaan agen sterilan kuat seperti HgCl₂ (merkuri klorida) dan H₂O₂ (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 HgCl_2 yang digunakan sebesar 0,05% dengan waktu perendaman selama satu menit. Sedangkan untuk konsentrasi H_2O_2 yang digunakan sebesar 17,6% dengan perendaman selama lima menit.

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 ₁ (tween 20, Bayclin 20%, alkohol 70%)	7,22 ^b	19,03 ^b
s ₂ (tween 20, fungisida, bakterisida, alkohol 70%)	11,82 ^a	28,55 ^a
s ₃ (tween 20, fungisida, bakterisida, Bayclin 20%, alkohol 70%)	6,23 ^b	20,04 ^b
s ₄ (tween 20, fungisida, bakterisida, Bayclin 20%, alkohol 70%, HgCl_2 0,05%)	8,98 ^{ab}	17,42 ^{bc}
s ₅ (tween 20, fungisida, bakterisida, Bayclin 20%, alkohol 70%, HgCl_2 0,05%, H_2O_2 17,6%)	7,16 ^b	11,20 ^c

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

Menurut Gunawan (1992) HgCl_2 merupakan desinfektan 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 H_2O_2 yang dapat meniadakan kontaminasi pada kultur embrio kepel diperoleh antara 5-15 % dengan perendaman selama 10 dan 15 menit (Handayani, 2019).

3.2. Persentase Eksplan Hidup (%)

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa interaksi antara formulasi sterilan dengan jenis eksplan berpengaruh nyata terhadap persentase eksplan hidup pada umur 1-4 mst. Rata-rata pengaruh interaksi antara formulasi sterilan dengan jenis eksplan terhadap persentase eksplan hidup (%) dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Rata-rata pengaruh interaksi antara formulasi sterilan dengan jenis eksplan berpengaruh nyata terhadap persentase eksplan hidup (%) umur 1-4 mst

Formulasi sterilan	Posisi daun ke-	Persentase eksplan hidup (%)			
		1 mst	2 mst	3 mst	4 mst
s ₁ (tween 20, Bayclin 20%, alkohol 70%)	1	40 ^c	35 ^c	30 ^{cd}	30 ^{de}
	2	70 ^{abc}	65 ^{ab}	60 ^{ab}	60 ^{abc}
s ₂ (tween 20, fungisida, bakterisida, alkohol 70%)	1	75 ^{abc}	45 ^{bc}	25 ^d	20 ^e
	2	85 ^{ab}	55 ^{abc}	55 ^{abc}	50 ^{bcd}
s ₃ (tween 20, fungisida, bakterisida, Bayclin 20%, alkohol 70%)	1	45 ^c	35 ^c	35 ^{bcd}	35 ^{cde}
	2	65 ^{abc}	60 ^{abc}	60 ^{ab}	60 ^{abc}
s ₄ (tween 20, fungisida, bakterisida, Bayclin 20%, alkohol 70%, HgCl_2 0,05%)	1	95 ^a	75 ^a	75 ^a	70 ^{ab}
	2	50 ^{bc}	40 ^{bc}	40 ^{bcd}	40 ^{cde}
s ₅ (tween 20, fungisida, bakterisida, Bayclin 20%, alkohol 70%, HgCl_2 0,05%, H_2O_2 17,6%)	1	70 ^{abc}	60 ^{abc}	60 ^{ab}	60 ^{abc}
	2	85 ^{ab}	80 ^a	80 ^a	80 ^a

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

Tabel 2 menunjukkan persentase eksplan hidup tertinggi pada umur 1-4 mst diperoleh dari kombinasi formulasi sterilan tween 20, fungisida, bakterisida, Bayclin 20%, alkohol 70%, HgCl₂ 0,05%, H₂O₂ 17,6% dengan daun kedua namun tidak berbeda nyata dengan persentase hidup pada kombinasi antara tween 20, Bayclin 20%, alkohol 70% dengan daun kedua (berturut-turut 70, 65, 60 dan 60%). Terdapat kecenderungan bahwa rata-rata persentase hidup pada daun kedua lebih besar daripada daun pertama pada semua kombinasinya dengan formulasi sterilan.

Persentase hidup eksplan pada semua formula sterilan cenderung terjadi penurunan setiap minggunya hingga umur 4 mst dimana persentase hidup tertinggi diperoleh pada kombinasi perlakuan tween 20, fungisida, bakterisida, Bayclin 20%, alkohol 70%, HgCl₂ 0,05%, H₂O₂ 17,6% dengan daun kedua (80%) yang tidak berbeda nyata dengan persentase hidup pada kombinasi perlakuan tween 20, Bayclin 20%, alkohol 70% dengan daun kedua (60%). Hal ini menunjukkan untuk sterilisasi daun durian lahung yang menghasilkan persentase hidup yang tinggi cukup menggunakan tween 20, Bayclin 20%, alkohol 70% tanpa menggunakan sterilan lain seperti fungisida, bakterisida, HgCl₂ dan H₂O₂. Diduga penyebabnya adalah eksplan tidak banyak memperoleh efek toksisitas yang dimiliki oleh agen sterilan yang tinggi dari fungisida, bakterisida, HgCl₂ maupun H₂O₂ yang justru dapat mematikan eksplan.

Hasil penelitian yang dilakukan Antony *et al.* (2015), dimana menggunakan HgCl₂ pada konsentrasi 0,15% selama 15 menit pada eksplan jati menunjukkan tingkat keberhasilan kultur yang rendah (41,68%). Kunci utama sterilisasi adalah membunuh atau menghilangkan penyebab kontaminasi tetapi tidak merusak atau mematikan jaringan tanaman yang diinisi. 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).

Kecenderungan daun kedua yang memberikan persentase eksplan hidup yang lebih tinggi dibandingkan dengan daun pertama diduga daya tahan daun pertama terhadap efek sterilan yang lebih kecil karena umur yang lebih muda dan memiliki jaringan yang belum kuat. Hal ini menyebabkan jaringan daun lebih mudah teracuni oleh larutan sterilan.

3.3. Persentase Kontaminasi (%)

Analisis ragam menunjukkan bahwa interaksi antara formulasi sterilan dengan jenis eksplan juga berpengaruh nyata terhadap persentase kontaminasi pada umur 1-4 mst. Rata-rata pengaruh interaksi antara formulasi sterilan dengan jenis eksplan terhadap persentase kontaminasi (%) dapat dilihat pada Tabel 3.

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

Formulasi sterilant	Posisi daun ke-	Persentase kontaminasi (%)			
		1 mst	2 mst	3 mst	4 mst
s ₁ (tween 20, Bayclin 20%, alkohol 70%)	1	60 ^a	65 ^a	70 ^{ab}	70 ^{ab}
	2	30 ^{abc}	35 ^{bc}	40 ^{cd}	40 ^{cde}
s ₂ (tween 20, fungisida, bakterisida, alkohol 70%)	1	25 ^{abc}	55 ^{ab}	75 ^a	80 ^a
	2	15 ^{bc}	45 ^{abc}	45 ^{bcd}	50 ^{bcd}
s ₃ (tween 20, fungisida, bakterisida, Bayclin 20%, alkohol 70%)	1	55 ^a	65 ^a	65 ^{abc}	65 ^{abc}
	2	35 ^{abc}	40 ^{abc}	40 ^{cd}	40 ^{cde}
s ₄ (tween 20, fungisida, bakterisida, Bayclin 20%, alkohol 70%, HgCl ₂ 0,05%)	1	5 ^c	25 ^c	25 ^d	30 ^{de}
	2	50 ^{ab}	60 ^{ab}	60 ^{abc}	60 ^{abc}
s ₅ (tween 20, fungisida, bakterisida, Bayclin 20%, alkohol 70%, HgCl ₂ 0,05%, H ₂ O ₂ 17,6%)	1	30 ^{abc}	40 ^{abc}	40 ^{cd}	40 ^{cde}
	2	15 ^{bc}	20 ^c	20 ^d	20 ^e

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

Berdasarkan Tabel 3, persentase kontaminasi terendah pada umur 1-4 mst diperoleh dari kombinasi formulasi sterilan tween 20, fungisida, bakterisida, Bayclin 20%, alkohol 70%, HgCl₂ 0,05%, H₂O₂ 17,6% dengan daun kedua namun tidak berbeda nyata dengan persentase hidup pada kombinasi antara tween 20, Bayclin 20%, alkohol 70% dengan daun kedua (berturut-turut 30, 35, 40 dan 40%). Terdapat kecenderungan bahwa rata-rata kontaminasi pada daun kedua lebih kecil daripada daun pertama pada semua kombinasinya dengan formulasi sterilan.

Disebabkan persentase hidup pada eksplan yang cenderung turun setiap minggunya, maka sebaliknya dengan persentase kontaminasi yang cenderung meningkat. Persentase kontaminasi yang paling rendah pada umur 4 mst, yaitu sebesar 20% terjadi pada kombinasi perlakuan tween 20, fungisida, bakterisida, Bayclin 20%, alkohol 70%, HgCl₂ 0,05%, H₂O₂ 17,6% dengan daun kedua yang tidak berbeda nyata dengan persentase hidup pada kombinasi perlakuan tween 20, Bayclin 20%, alkohol 70% dengan daun kedua sebesar 40%.

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⁻¹, fungisida dan bakterisida 2% dan Betadine 5% mengalami kontaminasi jamur paling kecil (75%) pada kultur durian merah secara *in vitro*.

3. 4. Persentase *Browning* (%)

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa faktor tunggal formulasi sterilan berpengaruh nyata terhadap persentase *browning* pada umur 1-4 mst. Rata-rata pengaruh formulasi sterilan terhadap persentase *browning* (%) dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Rata-rata pengaruh formulasi sterilan terhadap persentase *browning* (%) umur 1-4 mst

Formulasi sterilan	Persentase kontaminasi (%)			
	1 mst	2 mst	3 mst	4 mst
s ₁ (tween 20, Bayclin 20%, alkohol 70%)	5,0 ^b	7,5 ^{bc}	7,5 ^{bc}	22,5 ^{bc}
s ₂ (tween 20, fungisida, bakterisida, alkohol 70%)	0,0 ^b	0,0 ^c	0,0 ^c	5,0 ^c
s ₃ (tween 20, fungisida, bakterisida, Bayclin 20%, alkohol 70%)	2,5 ^b	10,0 ^{bc}	10,0 ^{bc}	20,0 ^{bc}
s ₄ (tween 20, fungisida, bakterisida, Bayclin 20%, alkohol 70%, HgCl ₂ 0,05%)	12,5 ^{ab}	17,5 ^b	17,5 ^b	37,5 ^b
s ₅ (tween 20, fungisida, bakterisida, Bayclin 20%, alkohol 70%, HgCl ₂ 0,05%, H ₂ O ₂ 17,6%)	22,5 ^a	42,5 ^a	42,5 ^a	60,0 ^a

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%.

Tabel 4 menunjukkan bahwa persentase *browning* pada umur 1-4 mst yang terkecil diperoleh dari formulasi sterilan tween 20, fungisida, bakterisida, alkohol 70% pada umur 1-4 mst namun tidak berbeda nyata dengan persentase *browning* umur 1-4 mst pada formulasi sterilan tween 20, Bayclin 20%, alkohol 70% masing-masing 5,0; 7,5; 7,5 dan 22,5%.

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 HgCl₂ dengan persentase *browning* sebesar 22,5% yang didapatkan dari formulasi sterilan tween 20, Bayclin 20%, alkohol 70%. Penggunaan agen sterilan seperti HgCl₂ 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, HgCl₂ 0,1%, alkohol 70%, Bayclin 5%.

4. SIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa waktu muncul kontaminasi dan *browning* yang paling lama diperoleh dari formulasi sterilan tween 20, fungisida, bakterisida, alkohol 70% masing-masing 11,82 dan 28,55 hst. Pada kombinasi antara formulasi sterilan tween 20, fungisida, bakterisida, alkohol 70% dengan daun kedua memberikan persentase eksplan hidup yang lebih tinggi pada umur 1-4 mst, yaitu 75, 65, 60 dan 60% serta persentase kontaminasi yang lebih rendah pada umur 1-4 mst berturut-turut 30, 35, 40 dan 40%. Sedangkan persentase *browning* yang lebih rendah diperoleh dari formulasi sterilan tween 20, Bayclin 20%, alkohol 70% pada umur 1-4 mst masing-masing 5,0; 7,5; 7,5 dan 22,5%.

5. UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih diucapkan kepada Rektor Universitas Lambung Mangkurat melalui LPPM (Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat) selaku sponsor riset yang memberikan pendanaan sehingga penelitian ini dapat terlaksana melalui Program Dosen Wajib Meneliti (PDWM) Tahun 2022.

6. DAFTAR PUSTAKA

- Antarlina, S.S. (2009). Identifikasi Sifat Fisik dan Kimia Buah-buahan Lokal Kalimantan. *Buletin Plasma Nutraf*. 15(2): 80-90.
- Antony, T., Anees P.V.M., Kumar V., Sangamithra, D., Philip, T., & Santhoshkumar, A.V. (2015). Application of mercury chloride and charcoal in micro-propagation of teak (*Tectona grandis*). *Indian J. Trop. Biodiv.* 23:157-166.
- 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.
- Budiarti, C. (2017). Pengaruh Teknik Sterilisasi dan Zat Pengatur Tumbuh 2,4-D (2,4-Diklorofenoksiasetat), BAP (Benzil Amino Purin) terhadap Induksi Kalus Nilam. Bandung: Universitas Islam Negeri Sunan Gunung Djati.
- Dwiyani, R. (2015). *Kultur Jaringan Tanaman*. Denpasar: Penerbit Pelawa Sari.
- Fauzan, Y.S.A., Supriyanto, & Tajuddin, T. (2017). Efektivitas Merkuri Klorida (HgCl₂) pada Sterilisasi Tunas Samping Jati (*Tectona grandis*) *In Vitro*. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia*. 4(2): 78-84.
- Gunawan, L.W. (1992). *Teknik Kultur Jaringan Tanaman*. PAU Bioteknologi. dan Departemen Pendidikan Kebudayaan. Bogor: Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi. Institut Pertanian Bogor.
- Handayani, E. (2019). Optimasi Sterilisasi Menggunakan Hidrogen Peroksida (H₂O₂) pada Kultur *In Vitro* Embrio Kepel (*Stelechocarpus burahol* [Bl] Hook. F. & Thomson). Thesis. Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Yogyakarta. Yogyakarta.
- 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.
- Kariena, R., Hardarani, N & Susanti, H. (2020). The Success Rate of Two Explant Types of Stevia (*Stevia rebaudina* Bertoni) in Various Sterilant Formulas. *Journal of Tropical Horticulture*. 3(2): 92-95.
- 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, Rudyansyah, & Alimuddin, A.H. (2019). Karakteristik Senyawa Triterpenoid dari Fraksi Diklorometana Kulit Batang Durian Merah (*Durio dulcis* Becc.). *Jurnal Kimia Khatulistiwa*. 8(2): 22-27.

- Rahmadi, A., Wicaksana, N., Nurhadi, B., Suminar, E., Pakki, S.R.T., & Mubarak, S. (2020). Induksi Kalus pada Eksplan Daun Muda Tanaman Durian (*Durio zibethinus* Murr.) Klon Baru Kamajaya dengan Kombinasi Zat Pengatur Tumbuh 2,4-D dan Kinetin secara *In Vitro*. *Jurnal Agrikultura*. 31(3): 222-227.
- 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.
- Susi. (2017). Identifikasi Komponen Kimia dan Fitokimia 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.
- 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, November 2019*: 372-379.