



Pengaruh Pemberian Fungisida Mancozeb Terhadap Teknik Sterilisasi Tanaman Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) Secara *In Vitro*

Dwi Eki Rianti*, Ike Apriani, Riri Novita Sunarti

Universitas Islam Negeri Raden Fatah Palembang, Indonesia

*e-mail korespondensi: dwiekirianti26@gmail.com

ABSTRACT: *Stevia is known as a natural sweetener plant originating from the highlands of Paraguay usually referred to as "the sweet herb of Paraguay". Stevia leaves can produce 70-400 times the sweetness of sugar cane. Stevia propagation can be done by using tissue culture techniques (in vitro). The initial factor which determines the success of propagation in vitro is using explants which are free from contamination. One of the efforts that can be done with fungicide Mancozeb in the sterilization of explants can help to reduce contamination of the explants. This study aimed to determine the effect of giving fungicide with the active ingredient Mancozeb on the explant sterilization technique of Stevia and to determine the optimal fungicide concentration for the explant sterilization technique of Stevia. This research was an experimental study with a quantitative descriptive analysis method, based on factorial completely randomized design (CRD), it consisted of 6 treatment combinations, V1A0 (soaked with fungicide 0 g/L), V1A1 (soaked with fungicide 1 g/L), V1A2 (soaked in fungicide 2.5 gr/L), V2A0 (sprayed with a fungicide 0 gr/L), V2A1 (sprayed with a fungicide 1gr/L), V2A2 (sprayed with a fungicide 2.5 g/L) and repeated 4 times. The results showed that V1A2 treatment had the highest percentage of live explants at 50%, followed by V1A1 treatment at 25% and V2A2 treatment at 12.5%. While in V1A0, V2A0 and V2A1 had the highest risk of contamination up to 100% and 75% for browning explants in V2A1 treatment which could cause death. Thus, the immersion V1A2 treatment with 2.5 gr/L of Fungicide was a treatment which had a good effect on live explants, level and type of contamination, contaminant growth time and browning.*

Keywords: *In Vitro*, Stevia, Mancozeb, Fungicide, Sterilization

ABSTRAK : Stevia dikenal sebagai tanaman pemanis alami yang berasal dari dataran tinggi Paraguay biasa disebut dengan "the sweet herb of Paraguay". Daun stevia mampu menghasilkan rasa manis 70-400 kali dari manisnya gula tebu. Perbanyakan Stevia dapat dilakukan dengan teknik kultur jaringan (*in vitro*). Faktor awal penentu keberhasilan perbanyakan secara *in vitro* adalah menggunakan eksplan yang bebas dari kontaminasi. Salah satu upaya yang dapat dilakukan dengan penambahan fungisida Mancozeb dalam sterilisasi eksplan dapat membantu mengurangi kontaminasi pada eksplan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian Fungisida berbahan aktif Mancozeb terhadap teknik sterilisasi eksplan tanaman Stevia dan mengetahui konsentrasi Fungisida yang optimal untuk teknik sterilisasi eksplan tanaman Stevia. Penelitian ini bersifat eksperimen dengan metode analisis deksriptif kuantitatif, berdasarkan



rancangan acak lengkap (RAL) factorial, terdiri dari 6 kombinasi perlakuan V1A0 (Direndam fungisida 0 gr/L), V1A1 (Direndam fungisida 1 gr/L), V1A2 (Direndam fungisida 2,5gr/L), V2A0 (Disemprot fungisida 0 gr/L), V2A1 (Disemprot fungisida 1gr/L), V2A2 (Disemprot fungisida 2,5 gr/L) dan diulang sebanyak 4 kali. Hasil penelitian menunjukkan perlakuan V1A2 memiliki persentase eksplan hidup tertinggi yaitu sebesar 50% diikuti dengan perlakuan V1A1 sebesar 25% dan V2A2 sebesar 12,5%. Sedangkan pada perlakuan V1A0, V2A0 dan V2A1 merupakan perlakuan yang memiliki resiko paling besar terkontaminasi hingga mencapai 100% dan eksplan browning mencapai 75% pada perlakuan V2A1 yang dapat menyebabkan kematian. Sehingga, perlakuan V1A2 perendaman dengan Fungisida 2,5 gr/L merupakan perlakuan yang berpengaruh baik terhadap eksplan hidup, tingkat dan jenis kontaminasi, waktu pertumbuhan kontaminan serta browning.

Kata Kunci : *In Vitro*, Stevia, Mancozeb, Fungisida, Sterilisasi

PENDAHULUAN

Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) dikenal dengan tanaman pemanis alami non-kalori yang berasal dari dataran tinggi Paraguay di Amerika Selatan. Tanaman ini merupakan famili *Asteraceae*, yang termasuk kedalam jenis tanaman tahunan dengan habitus semi herba yang tingginya hingga dua meter dan memiliki genus sekitar 200 spesies (Syabana dkk, 2017). Tanaman ini berbentuk perdu dengan ketinggian berkisar 1 m, termasuk tanaman tahunan yang memiliki peresentase hidup 2-4 tahun bahkan lebih tergantung dengan perawatannya dan dapat dipanen 6-7 kali pertahun (Limanto, 2017). Daun Stevia mengandung pemanis alami non-kalori dan dapat menghasilkan rasa manis 70-100 kali dibandingkan dengan manisnya gula tebu (Raini, 2015). Selain itu, penggunaan bahan pemanis alami yang berasal dari Stevia cukup aman untuk di konsumsi. Keunggulan lainnya yaitu tidak toksik, bukan senyawa karsinogenik dan rendah kalori; sehingga aman dikonsumsi. Steviosida aman dikonsumsi oleh penderita diabetes mellitus dan penderita obesitas. Steviosida tidak difermentasi oleh bakteri di mulut, sehingga tidak menyebabkan gigi berlubang (Wiryoendjoyo, 2014). Sehingga hal tersebut dapat membuktikan bahwa manfaat Stevia sangat banyak dan berguna bagi tubuh sehingga tanaman ini layak untuk dibudidayakan. Dalam perbanyak tanaman Stevia dapat dilakukan dengan banyak cara, salah satunya untuk mengatasi permasalahan perbanyak tanaman Stevia dengan rendahnya persediaan bibit dan perkecambahan benih sangat kecil adalah dengan menggunakan perbanyak tanaman secara teknik *in vitro* (Syabana, 2017).

Kelebihan menggunakan teknik *in vitro* yaitu dapat menghasilkan bahan tanam unggul secara massal dan cepat, keuntungan lain yang terdapat pada teknik kultur jaringan yaitu produksi metabolit sekunder dapat dilakukan sepanjang tahun tanpa dipengaruhi oleh cuaca (Syabana, 2017). Menurut Asmono (2017), teknik kultur jaringan merupakan cara yang efektif untuk mengembangkan bibit berkualitas dan tingkat keseragaman yang tinggi pada berbagai jenis tanaman. Produksi bibit tanaman unggul banyak dilakukan dengan teknik kultur jaringan. Produksi bibit tanaman unggul banyak dilakukan dengan teknik kultur jaringan.



Dari beberapa perbanyakan dengan kultur jaringan sering kali dilakukan dengan menambahkan media dengan zat pengatur tumbuhan untuk meningkatkan pertumbuhan dan perkembangan eksplan (Ermayanti dkk, 2017).

Tingkat keberhasilan dalam pelaksanaan kultur *in vitro* sendiri dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, terutama pada tingkat sterilisasi dan komposisi media. Menurut Faizah (2019), kegiatan kultur *in vitro* sendiri dapat dilakukan pada lingkungan yang steril dan menggunakan bahan-bahan yang steril. Namun, dalam pelaksanaan kultur *in vitro* sendiri terdapat kendala yang sangat umum terjadi dan harus ditemukan solusinya dengan baik dan tepat. Adapun permasalahan tersebut adalah kontaminasi, adanya kontaminasi ini dapat menurunkan tingkat keberhasilan secara drastis. Kontaminasi sendiri dapat berasal dari beberapa faktor, faktor internal dan faktor eksternal. Sedangkan, sumber kontaminasi yang paling sulit diatasi adalah sumber kontaminan yang berasal dari faktor internal biasanya di temukan dari eksplan (bahan tanaman) itu sendiri (Zulkarnain, 2017).

Usaha yang dapat dilakukan untuk mencegah dan menghindari kontaminasi yaitu dengan proses sterilisasi. Proses sterilisasi bahan eksplan merupakan salah satu kegiatan penting dalam teknik kultur jaringan, yang bertujuan untuk mengeliminasi mikroorganisme yang mungkin terbawa saat pengambilan eksplan (Faizah, 2019). Oleh karena itu, dalam penggunaan bahan sterilisasi dan perlakuan secara fisik harus dilakukan dengan tepat. Menurut faizah (2016), bahan sterilan yang sering digunakan adalah deterjen, bakterisida dan fungisida.

Menurut Zulkarnain (2017), fungisida yang biasa dipakai dalam sterilisasi eksplan adalah Dithane-M45. Dithane M-45 mengandung bahan aktif Mencozeb yang berspektrum luas yang dapat menghambat enzim-enzim patogen pada tanaman (Sari dkk,2014). Fungisida yang mengandung bahan aktif Mancozeb merupakan salah satu fungisida kontak yang banyak digunakan untuk mengendalikan jamur yang muncul di permukaan tanaman, berupa tepung berwarna kuning kehijau-hijauan yang di suspensikan kedalam air, fungisida ini untuk tanaman tidak menimbulkan fitotoksik bila konsentrasi yang digunakan tidak berlebihan, tidak menggumpal dan cepat larut dalam air dan efektif untuk campuran fungisida dalam pembibitan.

Menurut penelitian oleh Resigia.E dan Herman.W (2017), penggunaan bahan sterilan alkohol 70%, fungisida Dithane-45 (bahan aktif Mancozeb), bakterisida Agrept 20 wp, bayclin, sabun dan asam askorbit terhadap eksplan anter gambir (*Uncaria gambir* (Hunter)Roxb) mendapatkan hasil terbaik pada proses sterilisasi bunga gambir, sehingga dapat mengurangi jumlah kontaminan mikroorganisme dan tingkat browning. Selanjutnya hasil penelitian Neliyati dkk (2019), bahan steril yang digunakan air steril, alkohol (70% dan 96%), Dithane-M-45(bahan aktif Mancozeb), Agrept 20 wp, Tween dan deterjen cair terhadap sterilisasi eksplan kecambah kultur jaringan kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq), terbukti paling efektif untuk membasmi mikroorganisme yang mencemari permukaan kecambah

kelapa sawit berkecambah dalam kondisi terkendali. Hal tersebut menunjukkan bahwa fungisida yang mengandung bahan aktif Mancozeb, efektif dalam mengurangi sumber kontaminan yang terdapat pada eksplan.

Kelebihan lain dari fungisida jenis Mancozeb sendiri adalah memiliki harga ekonomis dan merk dagang yang sudah banyak di ketahui masyarakat, sehingga masyarakat dapat melakukan perbanyakkan *in vitro* dengan skala rumah tangga dengan harga yang terbilang ekonomis. Oleh karena itu, perlunya dilakukan penelitian untuk menguji Mancozeb sebagai bahan untuk teknik sterilisasi pada tanaman (*Stevia rebaudiana* Bartoni) secara *in vitro*.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan pada bulan Agustus-Oktober 2020. Bertempat di Laboratorium Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Raden Fatah Palembang. Penelitian ini menggunakan metode analisis deskriptif kuantitatif yang bersifat eksperimen. Penelitian yang menentukan dan menjelaskan apa adanya dengan melibatkan pengumpulan data sebenarnya dengan melihat langsung fakta-fakta yang ada (Leo Susanto, 2013). Menurut (Anggreani, 2016) analisis deskriptif kuantitatif yaitu penelitian yang menyajikan data-data faktual kemudian dianalisis dan ditampilkan dalam bentuk tabel. Rancangan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL) Faktorial. Faktor yang diteliti yaitu metode pemberian fungisida dan konsentrasi fungisida.

Tabel 1. Susunan kombinasi Perlakuan antara metode pemberian fungisida (V) dengan konsentrasi fungisida (A).

Kombinasi Perlakuan	Uraian Perlakuan (V/A)
V1A0	Direndam / Kontrol
V1A1	Direndam / 1 gr/l
V1A2	Direndam / 2,5 gr/l
V2A0	Disemprot/ Kontrol
V2A1	Disemprot / 1 gr/l
V2A2	Disemprot / 2,5 gr/l

Teknik Analisis Data

Penelitian dilakukan secara bertahap dan bersifat eksplorasi (deskriptif). Oleh karena itu data dapat dianalisa secara kuantitatif dan kualitatif dengan menggunakan tabel dan rumus untuk perhitungan persentase. Pengamatan data kualitatif dapat dilakukan secara visual dengan melihat sumber kontaminasi, jenis kontaminasi dan browning. Adapun data kuantitatif dapat dilakukan dengan menghitung rumus persentase dari masing-masing parameter pengamatan dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut (Nasution, 2013) :

$$\% \text{ Eksplan Hidup} = \sum \frac{\text{Eksplan hidup}}{\text{Jumlah seluruh eksplan}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} & \% \text{ Hari Ter-Kontaminasi} \\ & = \sum \frac{\text{Jumlah Kontaminasi perhari}}{\text{Jumlah seluruh eksplan}} \times 100\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} & \% \text{ Jenis kontaminasi} \\ & = \sum \frac{\text{Eksplan Terkontaminasi} \\ & \quad (\text{jamur,bakteri,media,eksplan})}{\text{Jumlah seluruh eksplan}} \times 100\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} & \% \text{ Eksplan Browning} \\ & = \sum \frac{\text{Eksplan browning}}{\text{Jumlah seluruh eksplan}} \times 100\% \end{aligned}$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Persentase Eksplan Hidup

Tabel 2. Persentase Eksplan Hidup

Perlakuan	Persentase Eksplan Hidup (%)
V1A0	0
V1A1	25
V1A2	50
V2A0	0
V2A1	0
V2A2	12,5



(a)



(b)

**Gambar 4.1 (a) Eksplan hidup
(b) Eksplan mati**

Pada Tabel 4.1 diatas perlakuan V1A2 (Eksplan direndam dengan Fungisida 2,5gr/l) menunjukkan persentase eksplan hidup yang tertinggi yaitu 50% hal tersebut ditandai dengan munculnya 2-4 helai daun dan morfologi yang dapat dilihat adalah eksplan yang berwarna hijau dan tidak terkontaminasi. Kemudian persentase eksplan hidup tertinggi diikuti dengan perlakuan V1A1 sebesar 25% dan V1A2 sebesar 12,5%. Hal tersebut menandakan bahwa teknik perendaman dan pemberian konsentrasi fungisida dengan konsentrasi tinggi memberikan pengaruh baik dalam menghambat pertumbuhan mikroorganismenya. Menurut

Winarto Budi (2017), yang menyatakan bahwa penggunaan fungisida mancozeb dengan dosis tinggi dan waktu perendaman yang tepat mampu mencegah tingkat kontaminan pada eksplan tunas pucuk.

Persentase Eksplan yang hidup pada penelitian ini dapat dilihat dengan munculnya 2-4 helai daun dan eksplan berwarna hijau sampai hari terakhir pengamatan. Pertumbuhan pada eksplan dapat dipengaruhi oleh penambahan zat pengatur tumbuhan berupa IAA 0,35 mg/l dan BAP 1,13 mg/l didalam media tanam yang dapat memacu pertumbuhan daun. Menurut Zulkarnain (2017) kelompok senyawa auksin yang paling banyak digunakan dalam kultur *in vitro* adalah IAA yang fungsinya dapat merangsang pemanjangan sel-sel pucuk dan senyawa sitokinin yang paling banyak digunakan dalam kultur *in vitro* adalah BA atau BAP berfungsi untuk meningkatkan pembelahan sel, poliferasi pucuk dan morfogenesis pucuk, apabila konsentrasi sitokinin relatif lebih tinggi dibanding konsentrasi auksin dalam media.

2. Persentase Hari Ter-Kontaminasi

Hasil pengamatan hari terkontaminasi menunjukkan bahwa rerata waktu munculnya kontaminasi yang beragam. Namun, dalam pengamatan ini hari terkontaminasi dilihat sejak 7 hari setelah inokulasi sampai dengan 30 hari (4 minggu setelah inokulasi). Hal tersebut karena waktu munculnya kontaminasi biasanya meningkat pada minggu pertama dan minggu kedua setelah inokulasi sedangkan pada minggu selanjutnya tingkat kontaminasi mulai stabil.

Tabel 3. Persentase Hari Ter-Kontaminasi

Perlakuan	Persentase Hari Ter-kontaminasi (%)			
	7	14	21	30
V1A0	87,5	100	100	100
V1A1	12,5	50	50	50
V1A2	0	12,5	12,5	12,5
V2A0	62,5	100	100	100
V2A1	50	87,5	100	100
V2A2	37,5	62,5	75	87,5



(a)

(b)

(c)

(d)

Gambar 4.2 (a) kontaminasi jamur hari ke-7 (b) kontaminasi jamur hari ke-14 (c) kontaminasi jamur hari ke-21 (d) kontaminasi jamur hari ke-30.

Kontaminasi menurut Nasution (2014) biasanya mulai terjadi pada minggu pertama/hari ke-7 setelah inokulasi dan terus meningkat pada minggu kedua, sedangkan pada minggu-minggu selanjutnya kontaminasi yang terjadi stabil. Berdasarkan hasil tabel 4.2 persentase tertinggi kontaminasi pada hari ke-7 adalah perlakuan V1A0 dan V2A0 (Kontrol) dengan nilai sebesar 87,5% dan 62,5%, hal tersebut menandakan bahwa perlakuan yang diberi senyawa mancozeb mampu menekan waktu terjadinya pertumbuhan kontaminasi, karena perlakuan yang mampu memberikan pengaruh baik terhadap rentan waktu munculnya kontaminasi adalah perlakuan V1A2 (Eksplan direndam fungisida 2,5gr/l). Perbedaan waktu terjadi kontaminasi diduga terkait dengan jenis kontaminasi eksternal dan internal. Pada penelitian ini, kontaminasi yang terjadi merupakan kontaminasi internal karena pada minggu kedua hari ke-14 tingkat kontaminasi dapat mencapai 100% pada beberapa perlakuan (tabel 4.2). Menurut Shofiyani dan Damajanti (2015), kontaminasi eksternal terjadi jika waktu penyerangan kurang dari 10 hari setelah tanam, jika lebih dari 10 hari setelah tanam termasuk kedalam kontaminasi internal.

3. Persentase Kontaminasi dan Jenis Kontaminasi

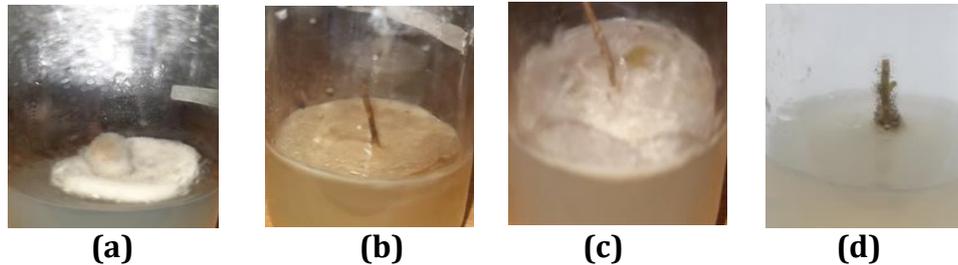
Pada tabel 4.3 dapat dilihat jenis-jenis kontaminasi. Parameter yang diamati pada jenis kontaminasi penelitian ini adalah persentase kontaminasi jamur, persentase kontaminasi bakteri, persentase kontaminasi media dan persentase kontaminasi eksplan.

Tabel 4. Persentase Kontaminasi dan Jenis Kontaminasi

Perlakuan	Kontaminasi Jamur (%)	Kontaminasi Bakteri (%)	Kontaminasi Media (%)	Kontaminasi Eksplan (%)
V1A0	100	0	37,5	62,5
V1A1	50	12,5	50	0
V1A2	12,5	0	12,5	0
V2A0	62,5	37,5	62,5	37,5
V2A1	75	25	62,5	37,5
V2A2	50	37,5	37,5	62,5

Eksplan yang diambil dari lapangan biasanya lebih banyak mengandung resiko mikroorganisme pengkontaminan (Resigia dan Herman, 2017). Jenis sumber kontaminasi yang tertinggi dapat dilihat dari tabel 4.3 yaitu kontaminasi yang berasal dari jamur dapat mencapai 62,5% - 100% pada perlakuan V2A0 dan V1A0. Jamur merupakan mikroorganisme yang sangat cepat pertumbuhannya dengan menggunakan spora. Pada kondisi yang aseptis, spora dapat tumbuh apalagi jika media tanam kaya akan nutrisi. Pada penelitian ini kontaminasi didominasi oleh jamur, hanya saja pada perlakuan V1A2 kontaminasi jamur yang relatif rendah sebesar 12,5% dan bakteri 0% (tabel

4.3). Sedangkan Kontaminasi yang disebabkan oleh bakteri ditandai dengan munculnya lendir atau koloni di sekeliling eksplan pada media (gambar 4.3(b)) Bakteri adalah mikroba yang dapat hidup didalam sel atau ruangan antar sel tanaman (*endofitik*). Kebanyakan pada tanaman berasal dari sumber eksplan yang sulit diatasi dengan sterilisasi permukaan. Menurut Rahmawati dan Lukmana (2019), menyatakan bahwa kontaminasi yang disebabkan oleh bakteri sering belum muncul pada saat pertama kali eksplan dikulturkan, berbeda dengan kontaminasi jamur.



Gambar 4.3 (a) Kontaminasi Jamur (b) Kontaminasi Bakteri (c) Kontaminasi Media (d) Kontaminasi eksplan

Kontaminasi jamur dapat muncul mulai bagian tepi media dan permukaan eksplan. Kontaminasi yang disebabkan oleh jamur umumnya lebih cepat dibanding dengan pertumbuhan kontaminasi bakteri, tak jarang kontaminasi jamur dapat menutup seluruh permukaan media dan eksplan (gambar 4.2(d)). dalam pengamatan selama 30 HSI, hal yang menarik terdapat pada perlakuan V1A2, dimana eksplan hanya terkontaminasi jamur sebesar 12,5% sedangkan kontaminasi bakteri yang tidak ditemukan. Menurut Rahmawati dan Lukmana (2019), hal tersebut dikarenakan miselium jamur yang mampu menutupi seluruh permukaan bakteri. Sehingga kontaminasi yang disebabkan oleh bakteri hampir tidak kelihatan. Kontaminasi dapat berasal dari faktor Internal dan Eksternal. Kontaminasi secara internal merupakan kontaminan yang terdapat pada jaringan tanaman, sedangkan kontaminasi eksternal berada dipermukaan eksplan yang dapat disebabkan oleh lingkungan kerja yang tak jarang dapat menyebabkan kontaminasi pada media kultur (Shofiyan dkk, 2019).

Media kultur sangat mendukung pertumbuhan mikroorganisme karena mengandung air, sumber karbon, sumber mineral, sumber nitogen dan vitamin. Sehingga tidak menutup kemungkinan kontaminan dalam kultur *in vitro* berasal dari media kultur itu sendiri. Hal tersebut dapat dilihat pada persentase kontaminasi yang terjadi pada media lebih besar dibandingkan kontaminasi pada eksplan (tabel 4.3). Menurut Oratmangun dkk (2017), kontaminasi media dapat disebabkan karena kondisi ruang kerja yang kurang aseptik baik dari pekerja, alat dan kondisi lingkungan. Kontaminasi yang dapat terjadi pada media dan eksplan dapat dilihat pada (gambar 4.3 (c&d)). Pada penelitian ini kontaminasi tidak terjadi pada media saja tetapi pada eksplan tanpa mengkontaminasi media. Namun, jika terjadi kontaminasi pada media maka eksplan juga ikut terkontaminasi. Hal tersebut terjadi karena,

mikroorganisme yang muncul pada media akan menyerang eksplan melalui luka akibat potongan dan penanganan pada saat sterilisasi eksplan (Oratmangun dkk 2017). Tak jarang eksplan yang terkontaminasi jamur sulit untuk melihat respon eksplan terhadap tingkat browning (pencokelatan). Karena selain kontaminasi, eksplan juga dapat mengalami mati fisiologis. Ciri khusus dari kultur yang mati fisiologis ditandai dengan browning (pencokelatan).

4. Persentase Browning

Browning (pencokelatan) merupakan suatu karakter munculnya warna coklat atau hitam yang sering kali membuat pertumbuhan dan perkembangan eksplan terhambat dan menyebabkan kematian pada jaringan. Pada penelitian ini persentase browning cukup besar yaitu mencapai 75% pada perlakuan V2A1 (tabel 4.4) dan persentase browning terkecil mencapai 37,5% terdapat pada perlakuan V1A2, contoh browning dapat dilihat pada (gambar 4.4).

Tabel 5. Persentase Eksplan Browning

Perlakuan	Persentase Browning (%)
V1A0	50
V1A1	50
V1A2	37,5
V2A0	62,5
V2A1	75
V2A2	50



(a)



(b)

**Gambar 4.3 (a) Eksplan hidup
(b) Eksplan Browning**

Browning (pencokelatan) adalah proses atau peristiwa teroksidasinya senyawa fenol menjadidi quinon yang berasal dari eksplan. Menurut Fitriani dkk (2019), browning dapat disebabkan oleh penggunaan bahan tanam yang tidak marismatik atau jaringan belum cukup umur, perlakuan sterilisasi yang berlebihan, media yang tidak cocok atau lingkungan yang tidak mendukung.

Pada penelitian ini diduga dari penggunaan bahan sterilisasi yang berlebihan seperti penggunaan clorox dengan konsentrasi tinggi dan waktu perendaman yang cukup lama sedangkan jaringan yang digunakan terlalu

muda. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Zulkarnain (2017), bahan sterilisasi pun bersifat dapat meracuni jaringan. Oleh karena itu, tingkat konsentrasi dan lamanya perlakuan harus benar-benar diperhatikan untuk mengurangi resiko kerusakan pada jaringan. Penggunaan clorox (Na-hipoklorit) terbaik yang terbukti efektif dan tidak merusak jaringan berkisar 0,3%-0,6% dengan lama perendaman 15 menit, sedangkan pada penelitian ini menggunakan konsentrasi sebesar 5%-10%. Adapun faktor lain yang dapat menyebabkan terjadinya browning adalah faktor yang berasal dari teknis penanaman, seperti penggunaan pinset yang masih panas (Fitriani dkk, 2019).

5. Pengaruh Konsentrasi Mancozeb Terhadap Teknik Sterilisasi

Pemberian fungisida Mancozeb dengan teknik sterilisasi perendaman pada konsentrasi 2,5 gr/l (V1A2), mampu memberikan pengaruh terbaik terhadap tingkat kontaminasi yang dapat dilihat dari variabel pengamatan eksplan hidup, hari ter-kontaminasi, jenis kontaminasi dan browning.

Senyawa Mancozeb merupakan fungisida yang sering digunakan pada sterilisasi teknik kultur *in vitro*, karena senyawa mancozeb dalam merk dagang Dithane-M45 dapat mencegah infeksi jamur dengan menghambat perkecambahan spora yang menempel dipermukaan tanaman (Djojsumarto, 2004). Fungisida yang berbahan aktif mancozeb yang termasuk kedalam golongan fungisida ditiokarbamat bekerja sebagai agen pengkhelat unsur yang dibutuhkan oleh jamur, sehingga terjadinya proses penghambatan pada pertumbuhan jamur, dengan mekanisme kerja yang biasa disebut dengan *multisites action* atau bekerja pada banyak tempat (nonspesifik) (Sumardiyono, 2018). Sehingga, fungisida yang memiliki kandungan senyawa Mancozeb ini mampu menekan pertumbuhan kontaminasi dan tingkat kematian pada jaringan.

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Armila, dkk (2014) perendaman fungisida dengan konsentrasi rendah tidak mampu menekan resiko tingkat kontaminasi, tetapi perendaman fungisida dengan konsentrasi yang lebih pekat disertai waktu perendaman yang lama mampu menekan tingkat kontaminasi. Pada perbanyak *in vitro*, eksplan yang bebas dari kontaminasi merupakan langkah awal keberhasilan dalam kultur jaringan (Resigia dan Herman, 2018).

KESIMPULAN

Pemberian fungisida Mancozeb mampu memberikan pengaruh baik terhadap teknik sterilisasi eksplan tanaman Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) dan teknik perendaman dengan konsentrasi fungisida mancozeb 2,5gr/l merupakan konsentrasi yang optimal untuk memberikan pengaruh baik terhadap teknik sterilisasi eksplan tanaman stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni).



DAFTAR PUSTAKA

- [1] Asmono, SL., Sari., dan Wardana,R.2017. Induksi Tunas Stevia (*Stevia Rebaudiana* Bertoni) pada Beberapa Jenis Sitokinin. *Prosiding Seminar Nasional Hasil Penelitian Jurusan Produksi Peertanian, Politeknik Negeri Jember*. ISBN : 978-602-14917-5-
- [2] Anggreani,A. 2016. Optimasi Teknik Sterilisasi dan Aplikasi Zat Pengatur Tumbuh Untuk Meningkatkan Perkecambahan Biji Kenikir (*Cosmos caudatus*) Secara *In Vitro*. *Jurnal Biologi*. 5 (5)
- [3] Djojosumarto, P. 2004. Teknik Aplikasi Pestisida Pertanian. Yogyakarta:Kansius.
- [4] Ermayanti, TM., Rantau,DE., Hafiizh., dan Maulana, E. 2017. Peningkatan Pertumbuhan Kultur Tunas *Stevia rebaudiana* Bertoni pada Media dengan Peningkatan Kadar Vitamin dan Glisin serta Penggunaan Jenis Tutup Tabung Berbeda. *Jurnal Biologi Indonesia*. 13 (2): 213-222.
- [5] Faizah, K.N. 2019. Pengaruh Jenis Antibiotik Plant Preservative Mixture dan Propolis Pada Berbagai Konsentrasi Terhadap Pertumbuhan Tunas Tanaman Sirsak (*Annona muricata* L.) Secara *In Vitro*. *Skripsi Biologi Universitas Islam Negeri Malang*.
- [6] Fitriani, Y., Wijana, G., dan Darmawati.2019. Teknik Sterilisasi dan Efektivitas 2,4-D terhadap Pembentukan Kalus Eksplan Daun Nilam (*Pogostemon cablin* Benth) *In Vitro*. *Jurnal Agronomi*. 8 (1) : ISSN: 2302-0113
- [7] Limanto, Agus. 2017. Stevia, Pemanis Pengganti Gula dari Tanaman *Stevia rebaudiana*. *Jurnal Kedokteran Meditek*. 23 (61) : 1-12.
- [8] Leo Susanto. 2013. *Kiat Jitu Menulis Skripsi, Tesis dan Disertasi*. Erlangga: PT Gelora Aksara Pratama
- [9] Nasution,S.S.2013. Pengaruh Teknik Sterilisasi Terhadap Keberhasilan Inisiasi Eksplan Paulownia (*Paulownia Elongata* Sy. Hu) Secara *In Vitro*. *Skripsi Kehutanan Institut Pertanian Bogor*.
- [10] Nurazizah, L.L. 2018. Induksi Proliferasi Tunas Stevia (*Stevia Rebaudiana* Bertoni) Melalui Pemberian Gula, Bap, Dan Kitosan Serta Waktu Panen Untuk Optimasi Produksi Biomassa Secara *In Vitro*. *Skripsi Pertanian Institut Pertanian Bogor*.
- [11] Neliyati., Lizawati., dan Zulkarnain. 2019. The evaluation of sterilization protocol for sprout explants in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) tissue culture . *Journal of Physics : Conference Series*. 10.1088/1742-6596.
- [12] Oratmangun, K.M., D. Pandiangana dan F.E., Kandou. 2017. Deskripsi Jenis-jenis Kontaminan dari Kultur Kalus *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. *Jurnal Mipa Unsrat Online*. 6 (1): 47-52.
- [13] Raini,M. 2015. Kajian Pestisida Berbahan Aktif Antibiotik. *Jurnal Media Litbangkes*. 25 (1): 33-42.
- [14] Resigia,E., dan Herman,W. 2017. Pengaruh Jenis dan Lama Perendaman Bahan Sterilan Terhadap Eksplan Gambir (*Uncaria gambir* (Hunter)Roxb). *Jurnal Bibiet*. 2 (2) : 44-48.
- [15] Rahmawati, L., Lukmana,M. 2019. Pengaruh Lama Perendaman Sterilisasi Eksplan Daun Karet (*Hevea brasiliensis*) Secara *In vitro*. *Jurnal Budidaya Tanaman Perkebunan*. 44 (3) hal 301-308 ISSN:1412-1468 E-ISSN: 2355-3545.
- [16] Sari, E.M., Suwirman., dan Noli,Z.Z. 2014. Pengaruh Penggunaan Fungisida (Dithane M-45) Terhadap Pertumbuhan Tanaman Jagung (*Zea mays* L.) dan



- Kepadatan Spora Fungi Mikoriza Arbuskula (FMA). *Jurnal Biologi Universitas Andalas*. 3 (3): 188-194
- [17] Sumardiyono, C. 2018. Ketahanan Jamur Terhadap Fungisida Di Indonesia. *Jurnal Perlindungan Tanaman*. 14 (1) : 1-5.
- [18] Syabana, MA., Marianingsih,P., Hermita., dan Rohimah iim. 2017. Induksi Dan Pertumbuhan Kalus Tanaman Stevia (*Stevia Rebaudiana Bertoni M.*) Dengan Perbedaan Konsentrasi Peg (Polyethylene Glycol) Pada Kondisi Pencahayaan Secara *In Vitro*. *Jurnal Biodidaktika*. 12 (2): p-ISSN: 1907-087X; e-ISSN: 2527-4562.
- [19] Shofiyan,A.,Purnawanto,AM., Zahara,R.,Aziz. 2019. Pengaruh Berbagai Sterilan Dan Waktu Perendaman Terhadap Keberhasilan Sterilisasi Eksplan Daun Kencur (*Kaempferia galanga L*) Pada Teknik Kultur *In Vitro*. *Jurnal Agroekoteknologi*. ISBN: 978-602-6697-43-1
- [20] Winarto budi,. 2017. *Teknologi Produksi Benih Berkualitas Pada Krisan Menggunakan Tunas Pucuk Sebagai Sumber Eksplan*. Ebook Iptek Hortikultura. Jawa Barat : Balai Penelitian Tanaman.
- [21] Wiryosoendjoyo, K., dan Supriyadi. 2014. Pengaruh Kinetin dan Glukosa terhadap Kandungan Steviosida dalam Kalus dan Planlet Daun Stevia. *Jurnal Biomedika*. 7 (2) : 53-56.
- [22] Zulkarnain. 2017. *Kultur Jaringan Tanaman Solusi Perbanyak Tanaman Budidaya*. Jakarta : Bumi Aksara.