

OPTIMASI TEKNIK STERILISASI DAN APLIKASI ZAT PENGATUR TUMBUH UNTUK MENINGKATKAN PERKECAMBAHAN BIJI KENIKIR (*Cosmos caudatus*) SECARA IN VITRO

Sterilization Techniques and Growth Regulator Hormone to Germination of Kenikir Seed

Oleh: Anisa Anggraeni, Universitas Negeri Yogyakarta
anisaanggraeni3@gmail.com

Abstrak

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui teknik sterilisasi dan media pertumbuhan yang optimum untuk meningkatkan perkecambahan biji kenikir (*Cosmos caudatus*). Terdapat tiga teknik sterilisasi yang dilakukan dalam penelitian ini yaitu teknik sterilisasi 1 (TS1), teknik sterilisasi 2 (TS2), dan teknik sterilisasi 3 (TS3). Medium pertumbuhan yang digunakan adalah *Murashige Skoog* (MS) baik tanpa ataupun dengan penambahan 1 ppm BAP dan 0,25 ppm NAA (*Shoot Induction Medium/SIM*). Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif kuantitatif dengan parameter pengamatan berupa waktu berkecambah yang dinyatakan dalam hari setelah tanam (hst), persentase biji yang berkecambah, persentase eksplan yang terkontaminasi, persentase jenis kontaminan yang tumbuh, dan persentase biji yang tumbuh menjadi tanaman. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kombinasi sterilan yang tepat dapat menekan kontaminasi pada kultur biji kenikir. Teknik sterilisasi yang tepat adalah TS3 yaitu sterilisasi menggunakan detergen selama 5 menit dan alkohol 70% selama 10 menit. Masing-masing sterilan digunakan sebanyak 2 kali dan setiap pergantian sterilan, eksplan dibilas dengan akuades selama 5 menit. Penggunaan media SIM terbukti mampu meningkatkan perkecambahan biji kenikir.

Kata kunci: kenikir, perkecambahan, sterilisasi, zat pengatur tumbuh

Abstract

*The purpose of this study are to determine the sterilization techniques and optimum growth media to improve seed germination of kenikir (*Cosmos caudatus*). There are three sterilization techniques carried out in this research that sterilization technique 1 (TS1), sterilization techniques 2 (TS2), and sterilization techniques 3 (TS3). Growth medium used was *Murashige Skoog* (MS) either without or with the addition of 1 ppm BAP and 0.25 ppm NAA (*Shoot Induction Medium/ SIM*). This research analyze is quantitative descriptive with 5 parameters include time observation germinated expressed in days after planting (dap), the percentage of seeds that germinate, the percentage of contaminated explants, the percentage of contaminants that grow, and the percentage of seeds that grow into plants. The results of this study indicate that the combination of optimum sterilizing can suppress contamination of kenikir seed culture. Optimum sterilization techniques are TS3 that soaking in detergent for 5 minutes and in 70% alcohol for 10 minutes. Each sterilan used 2 times and rinsed with distilled water for 5 minutes between sterilization. The use of SIM media showed to increase kenikir seed germination .*

Keywords: kenikir, germination, sterilization, plant growth regulators

PENDAHULUAN

Kenikir (*Cosmos caudatus*) merupakan tanaman perenial berumur pendek yang tergolong dalam famili *Asteraceae*. Tanaman ini banyak mengandung senyawa metabolit sekunder yang dapat digunakan sebagai sumber obat-obatan seperti flavonoid, senyawa aromatik, polifenol, saponin, glikosida, kuersentin, hidroksiegenol, dan koneferil alkohol (Hayati *et al.*, 2012:2; Abas *et al.*, 2003:245; Fuzzati *et al.*, 1995:409). Oleh karena itu, diperlukan metode yang efektif dan efisien guna memperoleh bahan-bahan aktif yang bermanfaat dari kenikir dalam jumlah yang banyak dan waktu yang singkat. Salah satu metode yang dapat digunakan untuk meningkatkan produksi senyawa metabolit sekunder adalah kultur kalus.

Eksplan untuk kultur kalus dapat berasal dari tanaman, baik yang ditanam secara konvensional (*in vivo*) maupun *in vitro*. Eksplan yang ditanam secara *in vitro* memiliki kelemahan karena membutuhkan teknik sterilisasi yang lebih sulit. Untuk mengurangi tingkat

kegagalan kultur kalus karena kontaminasi, banyak peneliti menggunakan eksplan dari tanaman yang ditanam secara *in vitro*. Eksplan tersebut umumnya diperoleh dengan mengecambahkan biji.

Perkecambahan *in vitro* seringkali mengalami kendala karena sangat dipengaruhi oleh viabilitas biji dan keberhasilan sterilisasi eksplan. Peningkatan perkecambahan dapat dilakukan dengan menambahkan zat pengatur tumbuh pada media kultur *in vitro* seperti BAP dan NAA.

Tahap awal kultur *in vitro* yang memiliki peranan penting dalam keberhasilan kultur tersebut adalah sterilisasi bahan tanaman atau eksplan agar terbebas dari kontaminasi. Sterilisasi merupakan penghancuran atau pemusnahan terhadap semua kontaminan. Hal yang terpenting dalam sterilisasi adalah mengkombinasikan antara usaha untuk mendapatkan eksplan yang steril dan menjaga agar jaringan eksplan tidak rusak akibat tingginya konsentrasi desinfektan (Pancaningtyas, 2011:5) Sterilisasi dapat dilakukan secara kimiawi

dengan menggunakan deterjen dan alkohol 70%. Deterjen adalah bahan sterilan yang digunakan untuk menghilangkan lapisan lilin yang melekat di permukaan eksplan dan menghilangkan sebagian mikroba yang melekat. Alkohol merupakan denaturan protein, suatu sifat yang memberikan aktivitas antimikrobia pada alkohol. Alkohol yang umum dipakai untuk sterilisasi adalah alkohol konsentrasi 70% karena efektif memecah protein yang ada di dalam mikroorganisme (Adji, 2007:2). Penelitian ini difokuskan pada kajian penggunaan bahan sterilan dan media tumbuh untuk meningkatkan perkecambahan biji kenikir.

METODE PENELITIAN

Jenis Penelitian

Penelitian ini menggunakan analisis deskriptif kuantitatif yaitu penelitian yang menyajikan data-data faktual kemudian dianalisis dan ditampilkan dalam bentuk tabel.

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September 2015-Juni 2016 di Laboratorium Kultur Jaringan

Jurusan Pendidikan Biologi FMIPA UNY.

Target/ Subjek Penelitian

Populasi dari penelitian ini adalah tanaman kenikir (*Cosmos caudatus*), sementara itu sampel dari penelitian ini adalah biji kenikir (*Cosmos caudatus*).

Prosedur

Penelitian ini dilakukan dengan mensterilisasi alat dan media tumbuh yang akan digunakan memakai autoclaf; membuat media tumbuh berupa MS0 dan SIM, kemudian melakukan sterilisasi dan penanaman sesuai dengan rancangan penelitian.

Data, Instrumen, dan Teknik

Pengumpulan Data

Parameter waktu berkecambah yang dinyatakan dalam hari setelah tanam (hst), persentase biji yang berkecambah, persentase eksplan yang terkontaminasi, persentase jenis kontaminan yang tumbuh, dan persentase biji yang tumbuh menjadi tanaman.

Tabel 1. Rancangan penelitian

Perlakuan	Media tanam	TS 1	TS 2	TS3
A	MS0	v	-	-
B	SIM	v	-	-
C	MS0	-	v	-
D	SIM	-	v	-
E	MS0	-	-	v
F	SIM	-	-	v

Keterangan:

- TS : Teknik Sterilisasi
- TS 1 : alkohol 10 menit + alkohol 10 menit
- TS 2: deterjen 5 menit + alkohol 10 menit + alkohol 10 menit
- TS 3: deterjen 5 menit + deterjen 5 menit + alkohol 10 menit + alkohol 10 menit
- MS0: Media dasar *Murashige and Skoog*
- SIM: MS0 + 1 ppm BAP + 0,25 NAA

Teknik Analisis Data

Teknik analisis data untuk setiap parameter penelitian yang digunakan adalah sebagai berikut.

- Waktu berkecambah dihitung menggunakan rumus hari pertama berkecambah tiap eksplan dibagi jumlah eksplan
- Persentase biji yang berkecambah dihitung

menggunakan rumus jumlah biji yang berkecambah dibagi jumlah eksplan dikali 100%

- Persentase eksplan yang terkontaminasi dihitung menggunakan rumus: eksplan yang terkontaminasi tiap perlakuan dibagi dengan jumlah eksplan tiap perlakuan dikali 100%
- Jenis kontaminan dibedakan menjadi dua yaitu jamur dan bakteri yang dinyatakan dalam bentuk persentase
- Persentase eksplan yang berkecambah dihitung dengan rumus: eksplan yang berkecambah tiap perlakuan dibagi dengan jumlah eksplan tiap perlakuan dikali 100%

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Waktu Berkecambah

Waktu berkecambah setiap eksplan berbeda-beda (tabel 2). Waktu berkecambah pada perlakuan A, B, dan F secara berurutan adalah 22 hst, 8 hst, dan 8 hst. Sementara itu, perlakuan C, D, dan E tidak menunjukkan adanya perkecambahan

biji tanaman. Waktu berkecambah paling cepat ditunjukkan oleh perlakuan B dan F.

Tabel 2. Perkecambahan lebih cepat pada media SIM

Perlakuan	Waktu Berkecambah (hst)
A	22
B	8
C	0
D	0
E	0
F	8

Penelitian ini menunjukkan bahwa penggunaan zat pengatur tumbuh pada medium akan memberikan respon yang berbeda pada eksplan yang ditanam. Gowen dan Altman (Pamungkas, 2015:12) mengatakan bahwa pembentukan tunas secara *in vitro* dipengaruhi oleh adanya sitokinin yang tinggi pada media kultur dan jenis sitokinin yang paling efektif adalah BAP. Namun, penambahan sitokinin pada media yang diikuti dengan penambahan auksin akan menghambat inisiasi tunas. Secara fisiologis, jika auksin eksogen ditambahkan maka akan menghambat keluarnya sitokinin endogen pada eksplan. Pada saat auksin eksogen ditambahkan, maka berapapun sitokinin yang

ditambahkan tidak cukup mampu untuk merangsang inisiasi tunas pada eksplan secara *in vitro*.

Persentase Biji yang Berkecambah

Persentase eksplan yang berkecambah pada perlakuan A, B, C, D, E, dan F secara berurutan adalah 10%, 15%, 0%, 0%, 0%, dan 10%. Eksplan yang paling banyak berkecambah terdapat pada perlakuan B dengan persentase perkecambahan sebesar 15% dan eksplan yang tidak berkecambah terdapat pada perlakuan C, D, dan E (tabel 3).

Tabel 3. Persentase Biji yang Berkecambah lebih banyak pada media SIM

Perlakuan	Persentase Biji yang Berkecambah (%)
A	10
B	15
C	0
D	0
E	0
F	10

Penambahan zat pengatur tumbuh pada media kultur dapat meningkatkan persentase perkecambahan. Kauth (2005:92) menyatakan bahwa untuk meningkatkan persentase perkecambahan pada biji tanaman

dapat dilakukan dengan memberikan zat pengatur tumbuh seperti sitokinin dan auksin yang penting untuk mendorong perkecambahan biji.

Faktor yang mempengaruhi persentase perkecambahan biji secara *in vitro* antara lain tingkat kematangan biji, kesterilan ruang, alat, dan media yang digunakan dalam kultur jaringan. Selain itu, keadaan biji yang belum masak juga akan terhambat dalam pertumbuhannya (Lestiana, 2015:9). Menurut Kuswanto (2003:20) laju penurunan viabilitas biji dipengaruhi oleh sifat genetik dari varietas atau spesies, kondisi biji pada waktu disimpan, kondisi ruang penyimpanan biji, keseragaman *seed lot*, dan serangan cendawan.

Persentase Eksplan yang Tidak Terkontaminasi

Persentase eksplan yang tidak terkontaminasi pada setiap perlakuan berbeda-beda karena pada penelitian ini masih terdapat eksplan yang terkontaminasi. Persentase eksplan yang terkontaminasi pada perlakuan A, B, C, D, E, dan F secara berurutan adalah 90%, 85%, 100%, 100%, 100%, dan 90%. Kontaminasi muncul

pada semua perlakuan tetapi dengan waktu kemunculan yang berbeda-beda. Waktu munculnya kontaminasi pada perlakuan A, B, C, D, E, dan F secara berurutan adalah 6; 11,5; 11,7; 5,5; 10,7; dan 12,1 (tabel 4).

Tabel 4. Persentase Eksplan yang Terkontaminasi paling Sedikit pada Perlakuan B

Perlakuan	Persentase Eksplan yang Terkontaminasi (%)	Waktu Munculnya Kontaminasi (hst)
A	90	6
B	85	11,5
C	100	11,7
D	100	5,5
E	100	10,7
F	90	12,1

Usaha pencegahan kontaminasi eksternal dilakukan dengan sterilisasi permukaan bahan tanaman. Namun, infeksi internal tidak dapat dihilangkan dengan sterilisasi permukaan. Upaya menghilangkan kontaminan internal ditempuh dengan perlakuan antibiotik atau fungisida yang sistemik. Menurut Sutakaria (Rahmawati, 2008:23) patogen dapat mempertahankan diri dalam bentuk miselium atau dalam bentuk lain di dalam embrio, endosperm, kulit atau permukaan eksplan.

Persentase Jenis Kontaminan

Persentase jenis kontaminan berupa jamur pada perlakuan A, B, C, D, E, dan F secara berurutan adalah 55%, 35%, 30%, 10%, 40%, dan 60%. Persentase jenis kontaminan berupa bakteri pada perlakuan A, B, C, D, E, dan F secara berurutan adalah 25%, 45%, 55%, 65%, 60%, dan 65% (tabel 5).

Tabel 5. Jenis Kontaminan yang Paling Banyak Muncul

Perlakuan	Persentase Jenis Kontaminan (%)	
	Jamur	Bakteri
A	55	25
B	35	45
C	30	55
D	10	65
E	40	60
F	60	65

Kontaminasi terjadi langsung pada eksplan yang ditandai dengan munculnya lendir berwarna putih hingga kuning di sekeliling eksplan yang menyebabkan tanaman akan basah. Hal ini dikarenakan bakteri langsung menyerang terhadap jaringan dari tubuh tumbuhan itu sendiri (Tuhuteru dan Raharjo, 2012:5). Kontaminasi yang disebabkan oleh jamur dapat terlihat jelas pada media. Kontaminasi yang

disebabkan oleh jamur mula-mula terlihat di permukaan dan atau tepi media yang kontak langsung dengan dinding botol. Media dan eksplan tampak diselimuti oleh hifa berbentuk kapas berwarna putih dan spora yang berwarna hitam.

Persentase Biji yang Tumbuh menjadi Tanaman

Penelitian ini menunjukkan bahwa eksplan yang berkecambah menjadi tanaman terdapat pada perlakuan A, B, dan F secara berurutan adalah 10%, 15%, dan 10%. Sedangkan perlakuan C, D, dan E tidak tumbuh menjadi tanaman baru. Rata-rata pertumbuhan tanaman kenikir yang ditanam pada media MS0 adalah 3,33% dan Rata-rata pertumbuhan tanaman kenikir yang ditanam pada media SIM adalah 8,33% (tabel 6).

Tabel 6. Persentase Rata-rata Pertumbuhan Biji yang Paling Baik Ditanam pada Media Tumbuh SIM

Perlakuan	MS0	SIM
A	10%	-
B	-	15%
C	0%	-
D	-	0%
E	0%	-
F	-	10%
Rerata	3,33%	8,33%

Gunawan (1992:80) mengungkapkan bahwa dengan adanya NAA dan BAP dalam medium dapat menstimulasi sel-sel jaringan parenkim untuk membelah. Sitokinin telah diketahui memainkan peranan penting dalam hampir semua aspek pertumbuhan dan perkembangan tanaman termasuk di dalamnya pembelahan sel, inisiasi, dan pertumbuhan tunas, serta perkembangan fotomorfogenesis.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa teknik sterilisasi yang tepat dapat menekan kontaminasi pada kultur biji kenikir seperti pada perlakuan F yang disterilisasi menggunakan deterjen selama 5 menit, dibilas menggunakan akuades selama 5 menit lalu dimasukkan ke deterjen lagi selama 5 menit dan dibilas dengan akuades selama 5 menit. Eksplan selanjutnya dimasukkan ke dalam alkohol 70% selama 10 menit dibilas akuades selama 5 menit dan

direndam alkohol 70% selama 10 menit lagi lalu dibilas menggunakan akuades selama 5 menit. Medium SIM (MS0 + 1 ppm BAP dan 0,25 ppm NAA) dapat menginduksi perkecambahan kenikir seperti pada perlakuan B.

Saran

Saran dari penelitian adalah diperlukan adanya kajian lebih mendalam tentang penggunaan desinfektan untuk mengurangi kontaminasi internal yang terbawa oleh eksplan maupun kontaminasi eksternal yang berasal dari lingkungan dalam kultur biji kenikir. Selain itu juga diperlukan kajian lebih mendalam tentang variasi konsentrasi BAP dan NAA serta diperlukan adanya percobaan penggunaan sitokinin jenis lain seperti zeatin, BA, Zip dan auksin jenis lain seperti 2,4-D; IAA; dan IBA untuk meningkatkan keberhasilan kultur biji kenikir

DAFTAR PUSTAKA

Abas, F., Shaari, K., Lajis, N.H., Israf, D.A., dan Kalsom, Y.U. 2003 Antioxidative and radical scavenging properties of the constituents isolated from *Cosmos caudatus* Kunth. *Nat.*

Prod. Sciences, Volume 9,
Nomor 4. Hlm. 245-248.

- Adji, Dhirgo. 2007. Perbandingan Efektivitas Sterilisasi Alkohol 70%, Inframerah,, Otoklaf, dan Ozon terhadap Pertumbuhan Bakteri *Bacillus subtilis*. *Jurnal Sain Veteriner*, Volume 25, Nomor 1. Hlm. 17-24.
- Fuzzati, Nicola, Sutarjadi, Wahyu Dyatmiko, Abdul Rahman, dan Kurt Hostettmann. 1995. Phenylpropane derivatives from roots of *Cosmos caudatus*. *Phytochemistry*, Vol. 39. Hlm. 409-412.
- Gunawan. 1988. *Teknik Kultur Jaringan Tumbuhan*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Hayati, Septi Nur, Ema Damayanti, Hardi Julendra, dan Ahmad Sofyan. 2012. Antibacterial Activity of Kenikir (*Tagetes erecta* L.) Leaves Extract Against Pathoogenic Bacteria and Lactic Acid Bacteria Isolated from Chickens. *Proceeding*. Hlm. 1-8.
- Kauth. 2005. *In vitro* Seed Germination and Seedling Development of *Calapogon tuberosus* and *Sacoila lanceolata* Two Florida Native Terrestrial Orchids. *Thesis*. Florida: University of Florida.
- Kuswanto, Hendarto. 2003. *Teknologi Pemrosesan Pengemasan & Penyimpanan Benih*. Yogyakarta: Kanisius.
- Lestiana, Afif. 2015. Pertumbuhan Biji Anthurium secara *in vitro* pada Media Alternatif Pupuk Daun dan Lama Pencahayaan yang Berbeda. *Skripsi*. Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Pamungkas, Saktiyono. 2015. Pengaruh Konsentrasi NAA dan BAP terhadap Pertumbuhan Tunas Eksplan Tanaman Pisang Cavendish (*Musa paradisiaca*) melalui Kultur *In Vitro*. *Gontor Agrotech Science Jurnal*, Volume 2, Nomor 1. Hlm. 32-45.
- Pancaningtyas, Sulistyani dan Cahya Ismayadi. 2011. Sterilisasi Uang pada Perbanyakan Somatic Embryogenesis Kakao (*Theobroma cacao* L.) untuk Penyelamatan Embrio Terkontaminasi. *Pelita Perkebunan*, Vol 27, No. 1. Hlm. 1-10.
- Rahmawati, Melly Siti. 2008. Pengaruh BAP dan GA3 terhadap Perkecambahan *Heliconia caribaea* Lam. secara *In Vitro*. *Skripsi*. Bogor: IPB.
- Tuhuteru, Hehanussa, dan Raharjo. 2012. Pertumbuhan dan Perkembangan Anggrek *Dendrobium anosmum* pada Media Kultur *in vitro* dengan Beberapa Konsentrasi Air Kelapa. *Agrologia*, Volume 1, Nomor 1. Hlm. 1-12.