

## Tingkat Pencoklatan Eksplan Salak Unggul Harapan Baru Asal Tasikmalaya

Selvy Isnaeni<sup>1\*</sup> dan Roza Yunita<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Perjuangan Tasikmalaya  
Jl. Pembela Tanah Air (PETA) no.177 Kota Tasikmalaya 46115

\*email: Isnaeniselvy20@gmail.com

### ABSTRAK

*Jenis tanaman salak yang baru saja ditemukan oleh tim peneliti dari UNPAD diduga merupakan turunan dari salak manonjaya yang telah banyak dikenal sebagai salak asal Tasikmalaya. Perbanyakan salak pada umumnya menggunakan stek, namun untuk salak baru ini telah dilakukan penelitian dengan stek dan belum berhasil. Sehingga perlu adanya teknik perbanyakan lain yang mampu memperbanyak bibit tanaman salak baru ini. Teknik perbanyakan lain yang dapat dilakukan adalah kulturin vitro. Namun pada kultur invitro masih memiliki kendala pada kondisi ekplan yang sering mengalami pencoklatan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui tingkat pencoklatan eksplan tanaman salak. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Agroteknologi UIN Sunan Gunung Djati Bandung, pada bulan Agustus – Oktober 2018. Metode yang digunakan yaitu RAL Faktorial dengan 3 ulangan. Perlakuan menggunakan berbagai konsentrasi BAP dan 2,4-D. Hasil inisiasi eksplan salak menunjukkan bahwa tingkat pencoklatan eksplan salak sangat tinggi. Dari hasil uji lanjut anova pada 3 MSI pemberian BAP dan 2,4-D berpengaruh nyata terhadap pencoklatan. Sementara untuk eksplan yang mengalami pembengkakan (kalus) hanya 12% yaitu pada eksplan dengan konsentrasi BAP 1,5 mg/L dan 2,4-D 40 mg/L.*

*Kata kunci : 2,4-D, BAP, in vitro, pencoklatan, salak*

### ABSTRACT

*The Snack fruits that was recently discovered by the UNPAD's team inherits from Manonjaya which has been known as a Snack fruits of Tasikmalaya. The propagation of snack fruit used a conventional method, like a cuttings. But, cutting methods that applied to snack fruits of Manonjaya has not successfully. So, the other of propagation technique should be done to multiplication of snack fruits seeds. Another technique of multiplication that can be applied is culture in vitro. But, culture in vitro still has a number of obstacles, namely browning explants. This study aims to determine the level of browning of explants. The research was conducted in Agrotechnology Culture Laboratory of Sunan Gunung Djati UIN Bandung, in August - October 2018. The research used completely randomized design (CRD) factorial with two factors. The first factor is concentrations of BAP and the second factors is concentration of 2,4-D. The results of initiation explants showed that the browning level of salacca is very high. At the 3 weeks after initiation of giving BAP and 2,4-D treatment, browning explant are significantly different. The explant which has experienced swelling (callus) only 12%, on the 1,5 mg/L concentrations and 40 mg /L 2,4-D concentration.*

*Keywords: 2,4-D, Bap, in vitro, browning, snack fruits*

### PENDAHULUAN

Jawa Barat memiliki salak Manonjaya yang telah banyak dikenal namun kini kualitas buah salak manonjaya telah menurun dan tidak sebaik dahulu, sehingga salak yang berasal dari daerah lain lah yang menjadi pilihan dari konsumen. Penurunan harga jual salak Manonjaya

disebabkan oleh beberapa faktor, diantaranya kualitas buah yaitu menjadi keset dan ukuran buah mengecil, sehingga salak manonjaya kalah bersaing dengan salak dari daerah lain terutama Salak Pondoh dari Sleman Yogyakarta yang rasanya lebih manis (Hapsari, Djuwendah, & Karyani, 2008). Selera pasar yang

berubah juga menyebabkan penurunan pada permintaan salak manonjaya.

Seiring dengan menurunnya kualitas salak Manonjaya tim peneliti dari Universitas Padjdjaran pada tahun 2007 menemukan dua calon kultivar unggul salak baru yang tumbuh di kebun milik petani setempat. Terdapat dua jenis salak yang berada dalam satu rumpun dengan jumlah 20 tanaman, 18 pohon warna kulit buahnya hitam dan 2 pohon warna kulit buah coklat-kuning. Salak tersebut berada di Kampung Cibeureum, Desa Cilangkap, Kecamatan Manonjaya, Tasikmalaya. Berdasarkan pengamatan awal yang telah dilakukan telah diketahui bahwa salak ini memiliki rasa yang manis seperti madu dan tidak mengandung rasa sepat, selain itu juga ukuran biji salak lebih kecil dan keriput serta memiliki daging buah yang tebal. Berdasarkan kelebihan tersebut, salak unggul lokal Tasikmalaya ini berpotensi menjadi pengganti salak lokal Manonjaya (Wicaksana, Kusumiyati, & Nursuhud, 2013).

Pengembangan kultivar salak unggul baru Tasikmalaya ini masih memiliki kendala, selain karena salak ini belum terdaftar sebagai kultivar baru. Selain itu juga diketahui sangat sulit di perbanyak secara vegetatif. Sebelumnya telah dilakukan teknik perbanyakan vegetatif dengan cara cangkok, tetapi tidak semua tanaman salak bisa diperbanyak dengan cangkok, termasuk tanaman salak unggul baru asal Tasikmalaya ini. Dari 20 anakan yang dicangkok hanya satu pohon yang berhasil disapih dari induknya (Petani setempat, 2007 dalam (Wicaksana et al., 2013). Tingkat pencoklatan tanaman salak juga sangat tinggi dikarenakan salak memiliki kandungan fenol yang tinggi sehingga jika terkena udara dapat teroksidasi dan mengakibatkan pencoklatan. Hal tersebut membuktikan bahwa perlu adanya teknik perbanyakan

yang baik untuk dapat memperbanyak tanaman salak variets unggul Tasikmalaya ini.

Kultur jaringan tanaman adalah suatu teknik isolasi bagian-bagian tanaman, seperti jaringan, organ, ataupun embrio, lalu dikultur pada medium buatan yang steril sehingga bagian-bagian tanaman tersebut bisa beregenerasi dan berdiferensiasi menjadi tanaman lengkap. Berdasarkan hal tersebut maka dapat dilakukan penelitian untuk memperbanyak tanaman salak varietas unggul baru Tasikmalaya dengan teknik kultur jaringan tanaman agar perbanyak tanaman salak tidak terkendala kontaminasi atau pencoklatan eksplan, dan Jawa Barat kembali memiliki varietas salak unggul.

## METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan di laboratorium kultur jaringan tanaman Universitas Islam Negeri Sunan Gunung Djati Bandung. Pada bulan Agustus-Oktober 2018.

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap dengan dua faktor perlakuan. Perlakuan terdiri dari 2 taraf, yaitu konsentrasi 2,4-D (0 mg/l, 20 mg/l, 40 mg/l dan 60 mg/l) dan BAP (0 mg/l, 1 mg/l, 1,5 mg/l, dan 2 mg/l). Variable pengamatan adalah persentase kontaminasi dan tingkat pencoklatan.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah, 2,4-D, BAP, Tween20, media MS (Murashige and Skoog), gula, agar-agar, aquadest, bakterisida, fungisida, alkohol, detergen, dan asam akorbat. Alat yang digunakan adalah *Laminar Air Flow* (LAF), oven, autoclaf, petridish, botol kultur, saringan, botol jam, pH meter, dan kertas saring.

### **Sterilisasi dan Inisiasi**

Sterilisasi menggunakan bahan-bahan kimia seperti detergen 5', bakterisida 10', fungisida 10', dan clorox 5' sebagai disinfektan, dan setiap perlakuan sterilisasi dilakukan pembilasan dengan aquadest steril. Prinsip dari sterilisasi adalah menghilangkan mikroorganisme tanpa harus mematikan jaringan tanaman, sehingga penggunaan konsentrasi bahan kimia dan waktu perendaman harus diperhatikan. Penggunaan aquadest mutlak digunakan untuk membilas setiap bahan sterilan yang digunakan pada saat tahap sterilisasi. Tahapan inisiasi tidak dapat dipisahkan dalam tahap sterilisasi karena dilakukan dalam waktu yang bersamaan. Selama tahapan sterilisasi dan inisiasi juga dilakukan tahapan seleksi. Pemilihan bahan tanam yang digunakan dalam melakukan penelitian secara *in vitro* sangat penting, untuk dapat mengetahui bagian tanaman mana yang lebih cepat untuk dapat menghasilkan bibit, maka diperlukan seleksi bahan tanam. Seleksi bahan tanam dilakukan pada media tanpa zat pengatur tumbuh sesuai perlakuan.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Sterilisasi**

Sterilisasi sangat mutlak dilaksanakan pada proses kultur jaringan. Sterilisasi merupakan upaya yang dilakukan untuk mencegah dan menghindari kontaminasi. Sterilisasi sangat menentukan keberhasilan dalam perbanyakan tanaman melalui teknik *in vitro*. Sterilisasi eksplan dilakukan bertujuan untuk menghilangkan mikroorganisme yang kemungkinan

terbawa saat pengambilan eksplan (Shofiyani & Damajanti, 2017).

Hasil yang diperoleh pada tahap sterilisasi ini hanya terdapat 3 perlakuan yang mengalami kontaminasi, dan kontaminasi tersebut kurang dari 20%. Rata-rata kontaminasi terjadi pada 18 HSI (hari setelah inisiasi) ini menandakan bahwa kontaminasi yang menyerang ialah kontaminasi internal. Kontaminasi dapat terjadi pada eksplan baik eksternal maupun internal. Kontaminasi tersebut dapat terjadi karena mikroorganisme yang masuk ke dalam media, botol kultur atau alat-alat tanam, ruang kerja yang kurang steril, dan kecerobohan pada saat pelaksanaan (Oratmangun, Pandiangan, & Kandou, 2017). Kontaminasi juga bisa terjadi karena kondisi bahan tanam yang berasal dari luar tidak steril sehingga mikroorganisme masih menempel pada bahan tanam tersebut. Terdapat dua jenis kontaminasi yang terjadi pada kultur *in vitro*, yaitu kontaminasi eksternal dan kontaminasi internal. Kontaminasi eksternal adalah kontaminasi yang terjadi pada permukaan eksplan dan dapat terlihat pada 1-4 HSI. Sementara kontaminasi internal adalah kontaminasi yang terjadi pada jaringan eksplan, dan biasanya dapat terlihat lebih dari 7 HSI (Rodinah, Razie, Naemah, & Fitriani, 2016). Kontaminasi yang terjadi pada penelitian ini terjadi pada 18 HSI sehingga dapat dikategorikan sebagai kontaminasi internal dan cukup sulit. Kontaminasi yang terjadi pada penelitian ini terjadi pada 18 HSI sehingga dapat dikategorikan sebagai kontaminasi internal dan cukup sulit untuk dikendalikan. Karena pada prinsipnya sterilisasi merupakan proses mematikan mikroorganisme pada eksplan tanpa mematikan jaringan tanaman tersebut.

Tabel 1. Persentase (%) Pencoklatan Eksplan Salak

Konsentrasi BAP	Konsentrasi 2,4-D	1MST (%)	2MST (%)	3MST (%)
B0	D0	0	100	100
B0	D1	0	67	67
B0	D2	0	100	100
B0	D3	100	100	100
B1	D0	0	0	0
B1	D1	0	100	100
B1	D2	66.67	67	67
B1	D3	100	100	100
B2	D0	66.67	100	100
B2	D1	100	100	100
B2	D2	66.67	83	100
B2	D3	100	100	100
B3	D0	67	67	83
B3	D1	67	67	67
B3	D2	67	67	100
B3	D3	100	100	100
Rata-rata		56.26	82.29	86.46

### Inisiasi

Terdapat respon yang beragam dalam proses inisiasi eksplan salak pada penelitian ini. Dapat dilihat pada tabel 1, terlihat persentase eksplan yang mengalami coklat (*browning*). Respon tanaman yang mengalami pencoklatan mencapai 86.46%, artinya eksplan mengalami pencoklatan sangat tinggi.

Pencoklatan umumnya disebabkan oleh senyawa fenolik yang biasanya oleh senyawa fenolik yang biasanya muncul dan terakumulasi ketika eksplan dilukai, yang biasanya disebabkan oleh aktivitas dari enzim *Polyphenol oxidase* (PPO) (Admojo & Indrianto, 2016). Dapat dilihat pada tabel 1 terlihat pada pengamatan minggu 1 yang sudah mengalami pencoklatan mencapai 56.26%. Pencoklatan juga disebabkan oleh

polifenol yang dikeluarkan menumpuk dalam media kultur yang berubah warna menjadi coklat dari waktu ke waktu. Zat ini di oksidasi oleh polyphenoloxydase dalam bentuk quinon yang sangat berbahaya untuk tanaman jaringan eksplan (Chaudhary & Dantu, 2015). Senyawa fenol yang terbentuk dihasilkan tanaman berasal dari peningkatan aktifitas metabolik sekunder tanaman.

Hasil uji lanjut menggunakan anova dapat dilihat pada tabel 2, menunjukkan terdapat pengaruh nyata terhadap perlakuan BAP dan 2,4-D pada minggu ke 3. Tetapi pada perakuan mandiri 2,4-D tidak berpengaruh nyata terhadap tingkat pencoklatan eksplan. Ini menunjukkan bahwa perlakuan BAP lebih berpengaruh terhadap tingkat pencoklatan.

Tabel 2 Uji Lanjut Anova

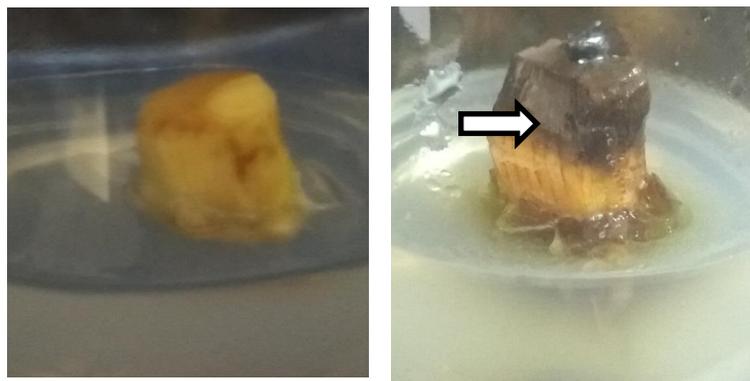
Sumber Keragaman	Pr>F		
	1 MST	2 MST	3 MST
BAP	0.0003 **	0.1225tn	0.0248 *
2,4-D	<0.0001**	0.1225tn	0.0592tn
BAP*2,4-D	0.0909**	0.0863tn	0.0078**

Respon terbesar tanaman ialah mengalami pencoklatan, ini terjadi akibat kadar fenol tanaman salak yang cukup tinggi. Apabila terkena udara maka akan mempercepat reaksi fenol dan merubah warna tanaman menjadi coklat. Ketika senyawa fenol yang terbentuk teroksidasi maka akan mengakibatkan warna coklat pada eksplan. Munculnya senyawa fenol tersebut menjadi racun bagi sel tanaman yang apabila dalam konsentrasi yang tinggi akan menghambat pertumbuhan eksplan.

Pengamatan selanjutnya mengenai eksplan yang mengalami stagnasi hanya 5% dari semua perlakuan yang ada. Eksplan stagnasi pada 1- 5 HSI dan pada pengamatan selanjutnya mengalami beberapa perubahan. Sementara untuk hasil pengamatan pertumbuhan yang diharapkan

baru mencapai tahap pembengkakan. Pembengkakan pada eksplan terjadi karena penambahan massa sel pada jaringan meristem yang dijadikan eksplan. Pembengkakan yang terjadi diduga karena 2,4-D yang diberikan pada media terserap dengan baik.

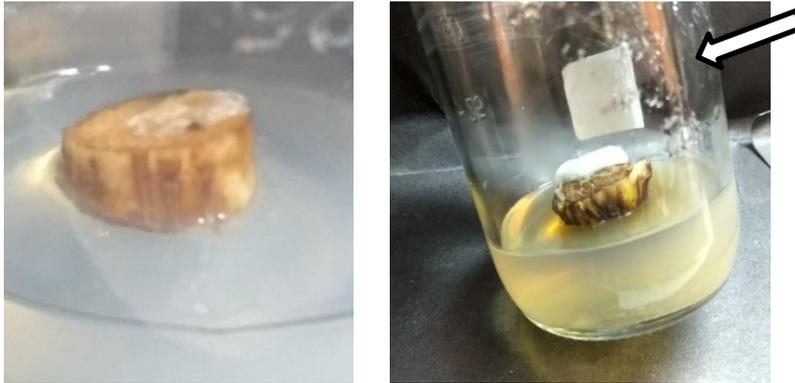
Pembengkakan pada eksplan merupakan salah satu indikator adanya pertumbuhan dalam kultur. Lama atau tidaknya eksplan membentuk kalus tergantung pada bagian tanaman dan komposisi media induksi yang digunakan. Kalus dihasilkan karena adanya pelukaan pada jaringan dan respon terhadap hormon dari tanaman tersebut maupun yang diberikan pada media (Lizawati & Desfira, 2012).



Gambar 1. (a) Eksplan perlakuan 1 mg/l BAP dan 20 mg/l 2,4-D awal tanam, (b) Eksplan perlakuan 1 mg/l BAP dan 20 mg/l 2,4-D 8HSI.

Pembengkakan ini terjadi hanya pada 3 eksplan dan persentase tertinggi hanya 12%, artinya masih sangat rendah. Pembengkakan yang terjadi juga tidak dapat bertahan lama

karena adanya kontaminasi internal yang timbul dan ada juga eksplan bengkak yang mengalami pencoklatan.



Gambar 2. (a) Eksplan pada awal tanam, (b) Eksplan mengalami pembengkakan dan kontaminasi pada 19 HIS

### KESIMPULAN

Tanaman salak memiliki tingkat pencoklatan yang sangat tinggi. Hasil uji lanjut Anova pada 3 MSI menunjukkan bahwa BAP dan 2,4-D berpengaruh nyata terhadap pencoklatan eksplan salak. Sementara 2,4-D secara mandiri tidak memberikan pengaruh nyata terhadap tingkat pencoklatan tanaman salak.

### DAFTAR PUSTAKA

- Admojo, L., & Indrianto, A. (2016). Pencegahan browning fase inisiasi kalus pada kultur midrib daun klon karet (*Hevea brasiliensis* Muell Arg) Pb 330. *Indonesian Journal of Natural Rubber Research*, 34(1), 25–34.
- Chaudhary, G., & Dantu, P. K. (2015). Evaluation Of Callus Browning And Develop A Strategically Callus Culturing Of *Boerhaavia Diffusa* L. *Journal of Plant Development*, 22, 47–58.
- Hapsari, H., Djuwendah, E., & Karyani, T. (2008). Peningkatan nilai tambah dan strategi pengembangan usaha pengolahan salak Manonjaya. *Agrikultura*, 19(3), 208–214.
- Lizawati, N., & Desfira, R. (2012). Induksi kalus eksplan daun Durian (*Durio zibethinus* Murr. cv. Selat Jambi) pada beberapa kombinasi 2, 4-D dan BAP. *Jurnal Bioplantae*, 1(1), 19–25.
- Oratmangun, K. M., Pandiangan, D., & Kandou, F. E. (2017). Deskripsi Jenis-Jenis Kontaminan Dari Kultur Kalus *Catharanthus roseus* (L.) G. Donnaman. *Jurnal MIPA*, 6(1), 47–52.
- Rodinah, R., Razie, F., Naemah, D., & Fitriani, A. (2016). Respon Bahan Sterilan Pada Eksplan Jelutung Rawa (*Dyra Lowii*). *Jurnal Hutan Tropis*, 4(3), 240–245.
- Shofiyani, A., & Damajanti, N. (2017). Pengembangan Metode Sterilisasi pada Berbagai Eksplan Guna Meningkatkan Keberhasilan Kultur Kalus Kencur (*Kaemferia Galangal* L). *Agritech: Jurnal Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Purwokerto*, 17(1), 55–64.
- Wicaksana, N., Kusumiyati, & Nursuhud. (2013). *Identifikasi dan Karakteristik, serta Pengembangan Salak Unggul Baru Tasikmalaya*. Jatinangor: Universitas Padjadjaran.