

TEKNIK STERILISASI EKSPAN DAUN LAHUNG (*Durio dulcis*) PADA MEDIA MS SECARA *IN VITRO*

STERILIZATION TECHNIQUE OF LAHUNG LEAF EXPLANT ON MS MEDIUM IN VITRO

Eka Agustiningrum, Nofia Hardarani*, Hilda Susanti

Program Studi Agronomi, Fakultas Pertanian, Universitas Lambung Mangkurat
Jl. Jend. A. Yani Km. 36, Kota Banjarbaru, Kalimantan Selatan, 70714

Corresponding email: hardaraninofia@gmail.com

ABSTRAK

Kata kunci:
Durio
Eksplan
Kontaminasi
Pencoklatan
Sterilisasi

Lahung adalah salah satu jenis *Durio* yang merupakan tanaman endemik Kalimantan yang sudah sulit dijumpai sehingga status lahung di alam saat ini adalah rawan atau genting. Oleh sebab itu perlu dilakukan pelestarian pada tanaman ini dengan teknik kultur jaringan untuk memperoleh tanaman yang sama dengan induknya. Sterilisasi merupakan tahapan penting dalam kultur jaringan agar memperoleh eksplan yang aseptik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui teknik sterilisasi terbaik terhadap eksplan daun lahung pada media MS secara *in vitro*. Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK) satu faktor dengan perlakuan teknik sterilisasi yang terdiri dari 6 taraf yaitu: s_1 = NaOCl, alkohol 70%, s_2 = fungisida, NaOCl, alkohol 70%, s_3 = bakterisida, NaOCl, alkohol 70%, s_4 = fungisida, bakterisida, NaOCl, alkohol 70%, s_5 = fungisida, bakterisida, NaOCl, alkohol 70%, HgCl₂ 0,1% dan s_6 = fungisida, bakterisida, NaOCl, alkohol 70%, HgCl₂ 0,1%, H₂O₂ 17,6%. Variabel pengamatan pada penelitian ini adalah waktu muncul kontaminasi, persentase kontaminasi, persentase *browning*, persentase eksplan hidup, waktu muncul kalus, warna kalus dan tekstur kalus. Hasil penelitian menunjukkan bahwa teknik sterilisasi yang efektif digunakan untuk eksplan daun lahung adalah fungisida + NaOCl + alkohol 70%.

ABSTRACT

Keywords:
Browning
Contamination
Durio
Explant
Sterilization

Lahung is a type of *Durio* which is a plant endemic to Kalimantan which is hard to find, so the current status of lahung in nature is vulnerable or critical. Therefore it is necessary to preserve this plant with tissue culture techniques to obtain the same plant as the mother plant. Sterilization is an important stage in tissue culture to obtain aseptic explant. This study aim to determined the best sterilization technique of lahung leaf explant on MS medium in vitro. This study was designed in a one-factor Randomized Block Design (RBD) with sterilization technique treatment consisting of six levels, namely s_1 = NaOCl, alcohol 70%, s_2 = fungicide, NaOCl, alcohol 70%, s_3 = bactericide, NaOCl, alcohol 70%, s_4 = fungicide, bactericide, NaOCl, alcohol 70%, s_5 = fungicide, bactericide, NaOCl, alcohol 70%, HgCl₂ 0,1% and s_6 = fungicide, bactericide, NaOCl, alcohol 70%, HgCl₂ 0,1%, H₂O₂ 17,6%. Variables observed in this study were contamination time, contamination percentage, browning percentage, live explant percentage, callus appearance time, callus color and callus texture. The result showed that the most effective sterilization technique for lahung leaf explants was fungicide + NaOCl + alcohol 70%.

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu negara mega biodiversitas karena memiliki kawasan hutan tropika basah

dengan tingkat keanekaragaman hayati tergolong tinggi di dunia, termasuk juga dengan kekayaan keanekaragaman jenis buah-buahan tropisnya. Indonesia juga diketahui sebagai salah satu dari delapan

pusat keanekaragaman genetik tanaman di dunia khususnya untuk buah-buahan tropis seperti durian (Sastrapradja & Rifai, 1989).

Durio merupakan tumbuhan asli yang menghuni daratan Asia Tenggara. Genus yang diperkirakan berjumlah 30 jenis itu tersebar dari Sri Lanka, India, Myanmar, Thailand, Malaysia, Filipina, Papua Nugini dan Indonesia (Sumatera dan Kalimantan). Kekayaan jenis *Durio* yang tumbuh di daratan Kalimantan juga menandakan bahwa daerah tersebut kaya akan sumber genetik dan ekosistemnya. Individu-individu dari tumbuhan *Durio* dapat hidup bersama di suatu tempat membentuk populasi yang begitu besar (Priyanti, 2012).

Informasi yang berasal dari Herbarium Bogoriense menyatakan bahwa 20 dari 29 spesies liar durian di dunia, berada di Indonesia. Berdasarkan sebarannya, dari 20 spesies yang ada di Indonesia delapan spesies terdapat di Kalimantan, tujuh spesies di Sumatera dan masing-masing satu spesies tersebar di Jawa, Bali, Sulawesi, Maluku serta Papua. Umumnya kerabat durian di Indonesia masih tumbuh liar di hutan-hutan primer ataupun di hutan-hutan campuran meranti dan hanya sebagian kecil lainnya yang telah ditanam penduduk di kebun-kebun. Seiring meningkatnya kerusakan hutan dari tahun ke tahun, maka kelestarian kerabat durian khususnya yang tumbuh di Kalimantan akan

terancam kelestariannya bahkan dapat mengalami kepunahan (Uji, 2005).

Tantra (1983) dalam Antarlina (2009) menjelaskan bahwa buah-buahan lokal di Kalimantan khususnya dari jenis *Durio* pada umumnya merupakan tanaman tahunan dan populasinya semakin berkurang akibat pohon yang telah tua dan tanpa teknologi budidaya yang memadai. Langkanya tanaman ini juga disebabkan oleh umur berbuah yang terlalu lama, sehingga orang enggan menanamnya. Hal ini merupakan faktor penyebab terjadinya pengikisan plasma nutfah, sehingga keberadaan dan kelestarian tanaman durian lokal menjadi terancam. Uji (2005) dalam penelitiannya menyatakan bahwa hal ini merupakan peluang besar untuk dapat meningkatkan kualitas dan produksi buah-buahan durian dan kerabatnya di Indonesia khususnya di Kalimantan melalui usaha pemuliaan tanaman. Namun usaha pemuliaan ini perlu waktu yang cukup lama karena kerabat durian tergolong jenis pohon yang daur hidupnya panjang.

Kenyataan ini memerlukan perhatian dari semua pihak dalam rangka pelestarian plasma nutfah khususnya durian dan kerabatnya yang spesifik di Kalimantan antara lain dengan menanam komoditas tersebut pada kebun koleksi. Selain itu, juga dengan mempelajari teknik perbanyakan secara vegetatif untuk mempercepat umur berbuah (Antarlina, 2009).

Tingginya jumlah jenis *Durio* yang endemik di Kalimantan menunjukkan bahwa pulau ini merupakan pusat persebaran *Durio* terpenting di dunia. Ada sembilan jenis *Durio* yang dapat dimakan buahnya (*edible fruits*). Sembilan jenis tersebut, yaitu *Durio excelsus* (apun), *Durio grandiflorus* (sukang), *Durio graveolens* (tuwala), *Durio kutejensis* (lai), *Durio lowianus* (teruntung), *Durio oxleyanus* (kerantungan), *Durio testudinarum* (sekura), *Durio zibethinus* (durian) dan *Durio dulcis* (lahung) (Uji, 2005).

Salah satu kerabat durian yang merupakan tumbuhan endemik Kalimantan yaitu lahung. Keberadaannya yang sulit dijumpai bahkan tergolong hampir punah, padahal jenis durian ini memiliki warna yang menarik dan rasa yang sangat manis, sehingga berpotensi untuk dikembangkan di masa mendatang (Maysyarah *et al.*, 2019). Daging buah berwarna putih kekuningan dan meskipun memiliki daging buah yang tipis, kadar kemanisan daging buahnya mencapai 32 °Brix (Aprilianti & Sari, 2011). Lahung (*Durio dulcis*) sangat berpotensi untuk dikembangkan sebagai buah unggulan lokal Kalimantan Selatan. Hal ini tentunya mengantisipasi pasar global dimana sekarang ini buah impor sudah cukup banyak membanjiri Indonesia khususnya Kalimantan Selatan. Semakin membiarkan buah impor masuk, maka akan menyebabkan makin tergerusnya produk buah lokal yang sampai saat ini masih

merupakan buah hutan dan belum dibudidayakan (Susi, 2017).

Lahung memiliki beberapa keistimewaan, yaitu tampilannya berbeda dengan kerabat durian pada umumnya. Tampilan dari buah ini menarik perhatian karena memiliki warna kulit berwarna merah gelap dengan ujung duri berwarna hitam. Buah ini memiliki citra rasa yang khas dan tidak berbeda jauh dengan durian. Selain itu, buah ini juga memiliki kandungan gizi yang baik untuk kesehatan. Susi (2017) menyatakan bahwa daging lahung memiliki kandungan alkaloid harmene, jika dalam jumlah tertentu akan mampu meningkatkan tekanan darah sehingga akan berefek positif untuk penderita tekanan darah rendah namun sebaliknya bagi penderita tekanan darah tinggi.

World Conservation Monitoring Centre (WCMC) dalam Aprilianti (2019) menyatakan bahwa berdasarkan *International Union for Conservation of Nature* (IUCN) *Redlist* status keberadaan lahung di alam adalah rawan atau genting. Kayu lahung banyak dimanfaatkan sebagai bahan bangunan karena kualitasnya yang bagus. Pohon dewasa semakin sulit ditemukan, sehingga menjadi ancaman pada jenis ini. Habitatnya juga semakin terganggu akibat degradasi hutan untuk pertanian. Sehingga perlu dilakukan upaya pelestarian plasma nutfah khususnya lahung.

Upaya pelestarian plasma nutfah langka memiliki arti penting yaitu sebagai sumber keberagaman. Tujuan dari pelestarian plasma nutfah lahung yaitu untuk menyediakan sumber genetik yang luas dan dapat mencegah atau menghindari kerusakan serta kepunahan. Plasma nutfah juga dapat dimanfaatkan untuk meningkatkan kualitas tanaman sehingga di masa depan plasma nutfah lahung dapat berperan penting dalam upaya peningkatan tersebut. Selain itu, agar kekayaan keanekaragaman jenis dan plasma nutfahnya terselamatkan dan dapat dimanfaatkan secara optimal.

Ding *et al.* (2015) menyatakan bahwa tanaman durian dapat diperbanyak dengan cara generatif (biji) atau vegetatif (okulasi maupun sambung pucuk). Perbanyak tanaman secara konvensional seringkali tidak efektif karena dapat merusak pohon induk. Sugiyarto dan Kuswandi (2013) juga berpendapat bahwa salah satu hambatan dalam budidaya tanaman durian adalah penyediaan bibit yang unggul karena saat ini dalam penyediaan bibit diambil dari pohon induk dan dilakukan secara konvensional. Teknik kultur jaringan merupakan teknik yang tepat untuk memperoleh bibit yang identik dengan tanaman induk dan dalam waktu yang singkat.

Gunawan (1995) menyatakan bahwa kultur jaringan adalah suatu upaya mengisolasi bagian-bagian tanaman

(protoplasma, sel, jaringan, organ), kemudian dikulturkan pada nutrisi buatan serta di bawah kondisi lingkungan yang terkendali sehingga bagian-bagian tanaman tersebut dapat beregenerasi menjadi tanaman lengkap kembali. Mastuti (2017) mengatakan bagian-bagian tanaman baik sel maupun jaringan yang akan ditumbuhkan pada kultur jaringan disebut dengan eksplan. Kebutuhan eksplan dalam ukuran kecil tidak akan mengganggu keberadaan tumbuhan induknya. Hal ini sangat berarti bagi tumbuhan langka untuk menjaga kelestariannya.

Salah satu faktor yang perlu diperhatikan dalam kultur jaringan adalah penggunaan eksplan. Eksplan merupakan penentu keberhasilan dalam kultur jaringan. Bagian tumbuhan yang digunakan sebagai eksplan adalah daun. Alasan penggunaan daun dibandingkan dengan eksplan lain yaitu karena ketersediaan daun yang melimpah pada bahan induknya (Budiarti, 2017).

Prinsip kerja dalam kultur jaringan adalah dalam kondisi steril (aseptik). Semua kegiatan dilakukan secara aseptik, baik bahan maupun alat yang digunakan (Rahmadi *et al.*, 2020). Hal ini harus dilakukan untuk meminimalisir keberadaan mikroba penyebab kontaminasi yang menjadi faktor pembatas dalam keberhasilan kultur jaringan. Salah satu penyebab kontaminasi adalah sumber kontaminan hidup yang

melekat pada permukaan eksplan dan terbawa saat pengambilan eksplan dari lapangan. Pencegahan terhadap kontaminasi dapat dilakukan dengan menggunakan metode sterilisasi yang tepat (Handayani *et al.*, 2018). Sterilisasi merupakan hal yang sangat wajib dilakukan dalam berbagai rangkaian kegiatan kultur *in vitro*. Sterilisasi juga sangat menentukan keberhasilan dalam perbanyakan tanaman melalui teknik ini.

Sterilisasi bahan kultur dapat dilakukan dengan berbagai cara kimiawi maupun secara mekanik (pemanasan atau pembakaran pada suhu tertentu). Bahan sterilan yang sering digunakan diantaranya deterjen, clorox atau NaOCl, tween 80, bakterisida dan fungisida (Armila *et al.*, 2014). Sterilisasi tunas muda durian Kamajaya dengan menggunakan air mengalir, perendaman dalam deterjen selama 10 menit, perendaman dalam fungisida selama 10 menit, perendaman dalam clorox 20% + surfaktan poly-sorbate 3 tetes per liter selama 20 menit, perendaman dalam clorox 10% selama 10 menit, serta perendaman dalam HgCl₂ 0,1% selama 1 menit memiliki persentase kontaminasi terendah yaitu 20% dan persentase hidup tertinggi yaitu 80% (Rahmadi *et al.*, 2020).

Tanaman lahung ini sudah jarang sekali ditemui di hutan. Masyarakat pun tidak ada yang membudidayakan sehingga keberadaan pohon ini terancam punah. Alasan inilah yang membuat penelitian ini

penting untuk dilakukan, agar plasma nutfah tanaman endemik Kalimantan (khususnya lahung) tidak punah. Maka dari itu perlu adanya upaya pelestarian terhadap tanaman ini. Jenis perbanyakan yang dipilih adalah kultur jaringan dengan menggunakan eksplan daun. Lalu, karena ini baru pertama kali dilakukan maka perlu diteliti prosedur sterilisasinya guna mendapat bahan sterilan yang tepat. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui teknik sterilisasi yang terbaik terhadap eksplan daun lahung pada media MS secara *in vitro*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman Jurusan Budidaya Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lambung Mangkurat Kota Banjarbaru dari bulan Desember 2021 sampai Januari 2022.

Bahan yang digunakan adalah eksplan lahung, media (Murahige dan Skoog) MS, tween 20, alkohol 70%, NaOCl, fungisida, bakterisida, H₂O₂, HgCl₂, zat pengatur tumbuh (ZPT) 2,4-D (*dichlorophenoxyacetic acid*) dan aquades. Alat yang digunakan adalah neraca analitik, Erlenmeyer, labu ukur, gelas ukur, pipet, botol kultur, *aluminium foil*, *hot plate* dan *stirrer magnetic*, autoklaf, oven, *laminar air flow*, rak kultur, lampu, alat tanam, *shaker* dan kertas lakmus.

Pelaksanaan penelitian meliputi sterilisasi alat, pembuatan larutan stok,

pembuatan media, sterilisasi aquades dan media, sterilisasi *laminar air flow* (LAF), sterilisasi eksplan daun lahung, penanaman eksplan dan pemeliharaan.

Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan acak kelompok satu faktor. Perlakuan dalam percobaan ini adalah teknik sterilisasi yang terdiri dari 6 taraf yaitu: NaOCl 1%, alkohol 70% (s_1); fungisida, NaOCl 1%, alkohol 70% (s_2); bakterisida, NaOCl 1%, alkohol 70% (s_3); fungisida, bakterisida, NaOCl 1%, alkohol 70% (s_4); fungisida, bakterisida, NaOCl 1%, alkohol 70%, $HgCl_2$ 0,1% (s_5) dan fungisida, bakterisida, NaOCl 1%, alkohol 70%, $HgCl_2$ 0,1%, H_2O_2 17,6% (s_6). Fungisida yang digunakan berbahan aktif Mankozeb 80% sedangkan bahan aktif bakterisida yang digunakan adalah Streptomisin Sulfat 20%. Satuan percobaan dikelompokkan berdasarkan posisi daun pada buku yang terdapat pada cabang, sehingga terdapat 24 satuan percobaan. Setiap satuan percobaan terdiri dari 5 botol tanam sehingga keseluruhan berjumlah 120 botol percobaan. Variabel yang diamati adalah waktu muncul kontaminasi (HST), persentase kontaminasi (%), persentase *browning* (%), persentase eksplan hidup (%), waktu muncul kalus (HST), warna kalus dan tekstur kalus.

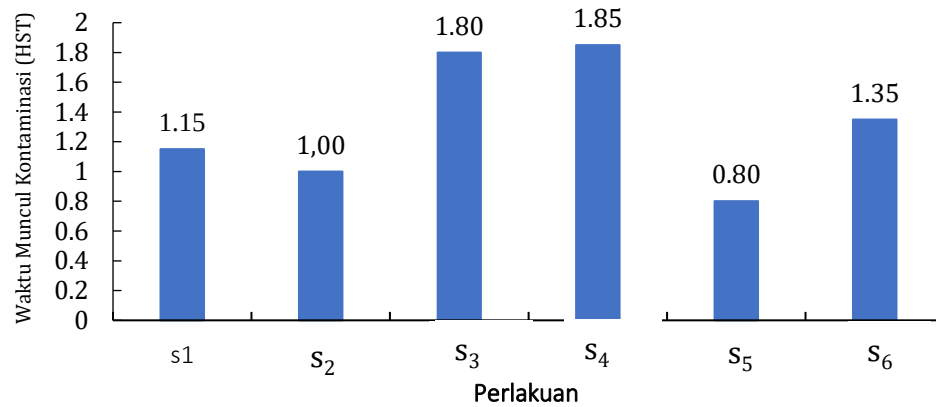
Analisis data yang digunakan adalah rancangan acak kelompok (RAK) satu faktor. Data yang diperoleh dari hasil

pengamatan diuji kehomogenannya dengan uji Bartlett untuk mengetahui apakah data homogen atau tidak. 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 Beda Nyata Jujur (BNJ) pada taraf nyata 5%. Pengujian statistik menggunakan *software* Minitab 17. Data hasil pengamatan warna kalus dan tekstur kalus dianalisis menggunakan metode deskriptif untuk menggambarkan dan menjelaskan kondisi eksplan daun lahung setelah diberi perlakuan dan ZPT.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Waktu Muncul Kontaminasi

Rata-rata waktu muncul kontaminasi pada eksplan daun lahung dapat dilihat pada Gambar 1. Berdasarkan Gambar 1, waktu rata-rata muncul kontaminasi pada eksplan daun lahung yang mendapatkan perlakuan berbagai macam sterilan adalah 1,15 HST (NaOCl, alkohol 70%), 1 HST (fungisida, NaOCl, alkohol 70%), 1,8 HST (bakterisida, NaOCl, alkohol 70%), 1,85 HST (fungisida, bakterisida, NaOCl, alkohol 70%), 0,8 HST (fungisida, bakterisida, NaOCl, alkohol 70%, $HgCl_2$ 0,1%) dan 1,35 HST (fungisida, bakterisida, NaOCl, alkohol 70%, $HgCl_2$ 0,1%, H_2O_2 17,6%).



Keterangan:

s₁ : NaOCl, alkohol 70%

s₂ : fungisida, NaOCl, alkohol 70%

s₃ : bakterisida, NaOCl, alkohol 70%

s₄ : fungisida, bakterisida, NaOCl, alkohol 70%

s₅ : fungisida, bakterisida, NaOCl, alkohol 70%, HgCl₂ 0,1%

s₆ : fungisida, bakterisida, NaOCl alkohol 70%, HgCl₂ 0,1%, H₂O₂ 17,6%

Gambar 1. Waktu rata-rata muncul kontaminasi pada eksplan daun lahung

Kontaminan dalam penelitian ini awal mula muncul umumnya pada bagian eksplannya. Waktu muncul kontaminasi yang cepat diduga akibat adanya faktor eksternal antara lain mikroorganisme yang ada pada permukaan eksplan. Kontaminasi akibat faktor eksternal tersebut menyebabkan rata-rata waktu muncul kontaminasi pada eksplan daun lahung di bawah 7 HST. Sejalan dengan penelitian Joko & Arwiyanto (2021) dalam Handayani *et al.* (2022) bahwa kontaminasi yang muncul pada eksplan kurang dari tujuh hari termasuk dalam jenis kontaminasi eksternal. Sedangkan kontaminasi yang muncul lebih dari tujuh hari hingga satu bulan berikutnya termasuk jenis kontaminasi internal yang bergabung di dalam jaringan tanaman.

Tidak berpengaruhnya teknik sterilisasi disebabkan oleh kondisi dari eksplan daun lahung tersebut yaitu pada

permukaan bawah daun dilapisi bulu halus dan bersisik. Sejalan dengan penelitian Widhiastuti *et al.* (2018) bahwa kondisi pada permukaan eksplan daun durian merah terdapat bulu-bulu halus (pilosis) pada lapisan abaksial. Terdapatnya pilosis pada daun durian merah inilah yang menyebabkan eksplan lebih sulit dilakukan sterilisasi.

Persentase Kontaminasi

Berdasarkan hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan teknik sterilisasi terhadap persentase kontaminasi tidak berpengaruh nyata. Hasil rata-rata persentase kontaminasi pada eksplan daun lahung 1-4 MST dapat dilihat pada Tabel 1.

Rata-rata persentase kontaminasi pada eksplan daun lahung adalah 5% (1 MST) dan 11,66% (2-4 MST). Eksplan yang terkontaminasi dapat disebabkan oleh

fungi atau bakteri. Kontaminasi yang disebabkan oleh fungi ditandai dengan munculnya benang-benang halus berwarna putih. Benang-benang halus ini lama kelamaan akan menyebar dan menutupi seluruh permukaan eksplan serta media. Jamur yang muncul pada eksplan daun lahung berwarna putih,

kuning, hitam. Kontaminasi yang disebabkan bakteri ditandai dengan terbentuknya cairan atau lendir berwarna putih atau kekuningan pada bagian permukaan media yang sedikit demi sedikit akan menyebar ke seluruh permukaan.

Tabel 1. Rata-rata persentase kontaminasi (%) pada eksplan daun lahung 1-4 MST

Perlakuan	1 MST	2 MST	3 MST	4 MST
NaOCl, alkohol 70%	5,00	15,00	15,00	15,00
fungisida, NaOCl, alkohol 70%	0,00	0,00	0,00	0,00
bakterisida, NaOCl, alkohol 70%	20,00	25,00	25,00	25,00
fungisida, bakterisida, NaOCl, alkohol 70%	5,00	10,00	10,00	10,00
fungisida, bakterisida, NaOCl, alkohol 70%, HgCl ₂ 0,1%	0,00	10,00	10,00	10,00
fungisida, bakterisida, NaOCl, alkohol 70%, HgCl ₂ 0,1%, H ₂ O ₂ 17,6%	0,00	10,00	10,00	10,00
Rata-Rata	5,00	11,66	11,66	11,66

Seluruh teknik sterilisasi memiliki kekuatan yang sama dan sudah mampu menekan kontaminasi pada eksplan daun lahung walaupun teknik sterilisasi tidak memberikan pengaruh nyata terhadap variabel persentase kontaminasi. Hal ini diduga karena stomata dan jaringan epidermis yang terdapat pada daun memungkinkan fungi dan bakteri masuk ke dalam jaringan yang ditunjukkan dengan kisaran persentase kontaminasi yang tergolong rendah, yaitu 5-11,66% dengan kontaminasi jamur yang lebih besar daripada bakteri. Kontaminasi oleh fungi sebesar 9,16% dan kontaminasi oleh bakteri sebesar 8,33%. Wati *et al.* (2020) yang memperoleh tingkat kontaminasi pada eksplan *Begonia bimaensis* akibat fungi juga lebih banyak yaitu sebesar

77,78%. Sedangkan kontaminasi akibat bakteri sebesar 18,51%.

Persentasi Browning

Hasil analisis ragam juga menunjukkan bahwa perlakuan teknik sterilisasi terhadap persentase *browning* tidak berpengaruh nyata. Hasil rata-rata persentase *browning* pada eksplan daun lahung 1-4 MST dapat dilihat pada Tabel 2.

Penyebab kematian eksplan selain fungi dan bakteri, juga dapat disebabkan oleh *browning*. Rata-rata persentase *browning* pada eksplan daun lahung adalah 27,50% (1 MST), 77,50% (2 MST), 95,83% (3 MST) dan 100,00% (4 MST). Teknik sterilisasi yang digunakan tidak memberikan pengaruh terhadap eksplan daun lahung pada variabel persentase *browning*. Hal ini diduga akibat adanya

senyawa fenol yang terkandung pada eksplan daun lahung dan menyebabkan kenaikan persentase *browning* pada setiap minggunya. Hal ini dapat terlihat pada kondisi eksplan yang semakin hari

semakin menurun yang ditandai dengan warna eksplan yang mulai menguning dan berakhir kecoklatan.

Tabel 2. Rata-rata persentase *browning* (%) pada eksplan daun lahung 1-4 MST

Perlakuan	1 MST	2 MST	3 MST	4 MST
NaOCl, alkohol 70%	15,00	70,00	95,00	100,00
fungisida, NaOCl, alkohol 70%	45,00	85,00	100,00	100,00
bakterisida, NaOCl, alkohol 70%	45,00	80,00	90,00	100,00
fungisida, bakterisida, NaOCl, alkohol 70%	25,00	60,00	100,00	100,00
fungisida, bakterisida, NaOCl, alkohol 70%, HgCl ₂ 0,1%	5,00	85,00	100,00	100,00
fungisida, bakterisida, NaOCl, alkohol 70%, HgCl ₂ 0,1%, H ₂ O ₂ 17,6%	30,00	85,00	90,00	100,00
Rata-Rata	27,50	77,50	95,83	100,00

Sejalan dengan penelitian Queiroz *et al.* (2008) dalam Adriani *et al.* (2022) bahwa munculnya *browning* dikarenakan terdapatnya enzim polifenol oksidase yang mengakibatkan terjadinya oksidasi senyawa fenol menjadi quinon yang memproduksi pigmen berwarna coklat ketika jaringan dilukai akibat adanya proses pemotongan atau pengirisan pada eksplan. Hutami (2008) juga mengatakan bahwa *browning* biasanya terjadi pada tanaman hutan dan berkayu, terutama apabila eksplan diperoleh dari pohon dewasa. Pertumbuhan dapat terhambat pada beberapa spesies tanaman yang di dalamnya mengandung senyawa tanin maupun hidroksifenol dengan konsentrasi tinggi. Hal ini juga didukung oleh penelitian Imanudin (2016) yang menyatakan bahwa persentase eksplan yang mengalami pencoklatan (*browning*) pada perlakuan BAP 0,5 mg L⁻¹ = NAA 0,1

mg L⁻¹ + k (air rebusan kentang) 100 mL L⁻¹ mencapai 60% sampai 4 MST pada penelitian induksi tunas jati emas.

Beberapa cara telah dilakukan untuk mengurangi resiko *browning* pada eksplan yaitu dengan menambahkan *poly vinyl pyrrolidone* (PVP) 0,2 g L⁻¹ pada media guna mengurangi resiko terjadinya masalah *browning* pada saat pertumbuhan eksplan selama dalam botol kultur. Selain itu, setelah penanaman dilakukan penggelapan selama seminggu dengan menggunakan kain hitam guna mengurangi *browning*. Hal ini menyesuaikan penelitian Tarampak *et al.* (2019) yang menyatakan bahwa eksplan yang disimpan dalam ruang inkubasi dengan kondisi gelap selama 7 HST memiliki rata-rata tingkat keberhasilan mencegah *browning* yaitu 56,25% dibandingkan eksplan yang disimpan dalam ruang inkubasi dengan kondisi

terang terang yaitu 31,25%. Cara-cara yang telah dilakukan masih belum mampu mengurangi masalah *browning* yang terjadi pada eksplan daun lahung.

Persentase Eksplan Hidup

Berdasarkan hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan teknik sterilisasi terhadap persentase eksplan hidup tidak berpengaruh nyata. Hasil rata-rata persentase eksplan hidup pada eksplan daun lahung 1-4 MST dapat dilihat pada Tabel 3.

Rata-rata persentase eksplan hidup (%) daun lahung pada setiap minggunya yaitu 95,00% (1 MST), 83,33% (2 MST), 77,50% (3 MST) dan 68,33% (4 MST). Data tersebut menunjukkan bahwa rata-rata

persentase eksplan hidup (%) mengalami penurunan setiap minggu. Persentase *browning* dan persentase kontaminasi sangat mempengaruhi persentase eksplan hidup. Tidak berpengaruhnya teknik sterilisasi terhadap eksplan daun lahung diduga akibat tingginya persentase *browning* yang terjadi dan menyebabkan persentase eksplan hidup mengalami penurunan di setiap minggunya. Denish (2007) dalam penelitiannya menyatakan bahwa apabila pencoklatan dibiarkan terus-menerus maka akan menyebabkan penghambatan penyerapan unsur hara, sehingga pertumbuhan eksplan akan terhambat bahkan dapat menyebabkan kematian.

Tabel 3. Rata-rata persentase eksplan hidup (%) pada eksplan daun lahung 1-4 MST

Perlakuan	1 MST	2 MST	3 MST	4 MST
NaOCl, alkohol 70%	15,00	70,00	95,00	100,00
fungisida, NaOCl, alkohol 70%	45,00	85,00	100,00	100,00
bakterisida, NaOCl, alkohol 70%	45,00	80,00	90,00	100,00
fungisida, bakterisida, NaOCl, alkohol 70%	25,00	60,00	100,00	100,00
fungisida, bakterisida, NaOCl, alkohol 70%, HgCl ₂ 0,1%	5,00	85,00	100,00	100,00
fungisida, bakterisida, NaOCl, alkohol 70%, HgCl ₂ 0,1%, H ₂ O ₂ 17,6%	30,00	85,00	90,00	100,00
Rata-Rata	27,50	77,50	95,83	100,00

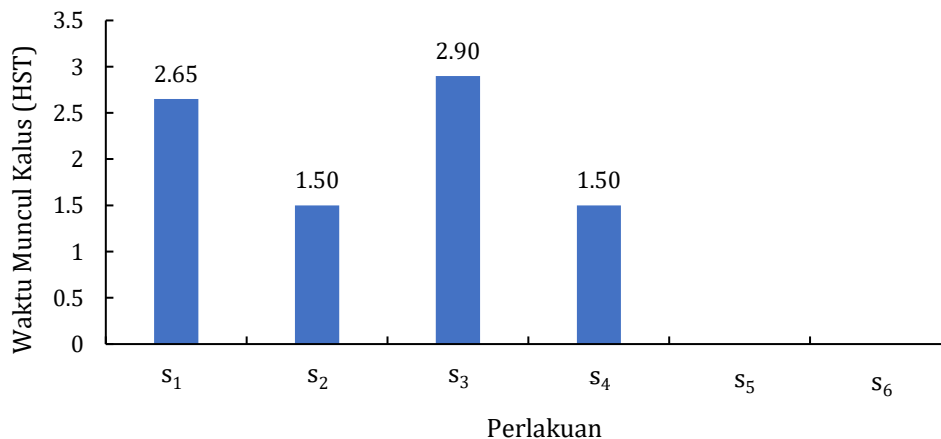
Pengamatan terhadap eksplan hidup dilakukan dengan mengamati secara visual berdasarkan kondisi eksplan daun lahung dan warna yang diamati selama 28 HST. Eksplan daun lahung yang mengalami *browning* namun masih terdapat beberapa bagian yang terlihat berwarna hijau dan tidak menunjukkan munculnya kalus maka eksplan tersebut masih bisa dikatakan hidup. Menurut

Rodinah *et al.* (2016) eksplan hidup adalah kondisi dimana eksplan jika dilihat secara visual menunjukkan warna hijau tidak terkontaminasi, tidak *browning* dan tidak menunjukkan perubahan warna menuju coklat kering. Hal ini yang menyebabkan persentase eksplan hidup pada eksplan daun lahung masih tergolong tinggi.

Waktu Muncul Kalus

Rata-rata waktu muncul kalus pada eksplan daun lahung dapat dilihat pada Gambar 2. Berdasarkan Gambar 2, waktu rata-rata muncul kalus pada eksplan daun lahung yang mendapatkan perlakuan berbagai macam sterilan adalah 2,65 HST (NaOCl, alkohol 70%), 1,5 HST (fungisida, NaOCl, alkohol 70%), 2,9 HST (bakterisida,

NaOCl, alkohol 70%) dan 1,5 HST (fungisida, bakterisida, NaOCl, alkohol 70%). Sementara pada perlakuan fungisida + bakterisida + NaOCl + alkohol 70% + HgCl₂ 0,1% (s₅) dan fungisida + bakterisida + NaOCl + alkohol 70% + HgCl₂ 0,1% + H₂O₂ 17,6% (s₆) tidak muncul kalus.



Keterangan:

s₁ : NaOCl, alkohol 70%

s₂ : fungisida, NaOCl, alkohol 70%

s₃ : bakterisida, NaOCl, alkohol 70%

s₄ : fungisida, bakterisida, NaOCl, alkohol 70%

s₅ : fungisida, bakterisida, NaOCl, alkohol 70%, HgCl₂ 0,1%

s₆ : fungisida, bakterisida, NaOCl, alkohol 70%, HgCl₂ 0,1%, H₂O₂ 17,6%

Gambar 2. Waktu rata-rata muncul kalus (HST) pada eksplan daun lahung

Eksplan daun lahung pada penelitian ini mengalami proses organogenesis secara tidak langsung. Hal ini ditandai dengan munculnya kalus pada eksplan yang telah dilukai sebanyak 3,33%. Munculnya kalus dipengaruhi karena adanya penambahan ZPT 2,4-D ke dalam media MS. Rahayu *et al.* (2002) menyatakan bahwa pembentukan dan pertumbuhan kalus dipicu karena adanya rangsangan terhadap pembelahan dan

pembesaran sel akibat adanya penambahan 2,4-D dalam media kultur.

Wattimena (1987) menyatakan bahwa 2,4-D adalah salah satu ZPT auksin yang paling sering digunakan. Hal ini disebabkan karena aktivitasnya yang kuat guna memacu proses diferensiasi sel dan menjaga pertumbuhan kalus. Senyawa 2,4-D menunjukkan aktivitas yang lebih kuat dibanding *indole acetid acid* (IAA) maupun jenis auksin yang lain. Aktivitas 2,4-D yang kuat dan optimum ini

disebabkan karena gugus karboksil yang dipecah oleh karbon atau karbon dengan oksigen. Penggunaan konsentrasi 2,4-D 1 ppm pada penelitian ini sudah mampu memicu pembentukan kalus. Hal ini didukung oleh penelitian Prabakti *et al.* (2017) yang menyatakan bahwa pemberian 2,4-D sebesar 1 ppm dalam pembentukan kalus menghasilkan nilai persentase eksplan terbaik terhadap induksi kalus kluwek. Arianto *et al.* (2013) juga menyatakan bahwa konsentrasi 2,4-D 1 ppm merupakan konsentrasi terbaik untuk menginduksi kalus dan mampu memunculkan kalus paling cepat pada klon kakao unggul Sulawesi 2.

Pada media yang sama, hanya perlakuan s_5 (fungisida + bakterisida + NaOCl + alkohol 70% + HgCl_2 0,1%) dan s_6 (fungisida + bakterisida + NaOCl + alkohol 70% + HgCl_2 0,1% + H_2O_2 17,6%) yang tidak terbentuk kalus pada eksplan. Hal ini diduga karena adanya efek penggunaan HgCl_2 dan H_2O_2 yang memiliki sifat keras atau toksisitas tinggi yang bisa mematikan jaringan pada eksplan. Fauzan *et al.* (2017) menyatakan bahwa penggunaan HgCl_2 pada bahan sterilan dapat memberikan pengaruh pada tingkat kerusakan eksplan tunas samping jati. Didukung juga oleh penelitian Tiwari *et al.* (2012) yaitu sterilisasi pada tanaman tebu dengan menggunakan HgCl_2 0,2% selama 12 menit mengakibatkan eksplan mengalami *browning* dan mati pada 4 – 7 HST.

Warna Kalus

Kalus berdasarkan hasil pengamatan visualisasi pada perlakuan s_1 (NaOCl, alkohol 70%), s_2 (fungisida, NaOCl, alkohol 70%), s_3 (bakterisida, NaOCl, alkohol 70%) dan s_4 (fungisida, bakterisida, NaOCl, alkohol 70%) memiliki warna yang sama yaitu putih. Tekstur kalus pada eksplan daun lahung dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Warna kalus pada eksplan daun lahung

Warna kalus merupakan gambaran visual dari suatu yang dihasilkan dari suatu pembelahan sel-sel yang aktif. Warna pada kalus dapat berupa putih, putih kekuningan, putih kehijauan dan coklat. Warna kalus yang muncul pada eksplan daun lahung adalah putih. Warna putih pada kalus menunjukkan bahwa pertumbuhan kalus tersebut cukup baik. Mahadi *et al.* (2016) menyatakan bahwa warna pada kalus dapat menunjukkan apakah kalus tersebut dapat tumbuh dengan baik dengan ditandai dengan kalus yang berwarna putih dan kuning.

Tekstur Kalus

Berdasarkan hasil tahap subkultur pada eksplan daun lahung, kalus yang muncul pada perlakuan s_1 (NaOCl, alkohol 70%), s_2 (fungisida, NaOCl, alkohol 70%), s_3 (bakterisida, NaOCl, alkohol 70%) dan s_4 (fungisida, bakterisida, NaOCl, alkohol 70%) memiliki tekstur yang sama yaitu remah. Tekstur kalus pada eksplan daun lahung dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Tekstur kalus pada eksplan daun lahung

Berdasarkan penelitian ini, pemberian 2,4-D dengan konsentrasi 1 ppm menghasilkan kalus yang bertekstur remah pada beberapa perlakuan. Pierik (1987) dalam Purba et al. (2017) menyatakan bahwa jenis tanaman yang digunakan, komposisi hara pada media, keadaan lingkungan dan ZPT dapat mempengaruhi tekstur kalus yang terbentuk. Didukung oleh penelitian Rasud & Bustaman (2020) bahwa pemberian 2,4-D pada media dengan konsentrasi 0,75 ppm lebih cepat menghasilkan kalus yang bertekstur remah dibandingkan dengan NAA pada kultur daun cengkeh. Sejalan juga dengan

penelitian Silvina et al. (2021) dimana kalus remah pada kultur daun binahong dominan dihasilkan dari pemberian 0,5 ppm, 1 ppm dan 2 ppm 2,4-D.

Tekstur kalus remah memiliki struktur-struktur sel yang renggang dan mudah mengalami pembelahan. Menurut Santoso & Nursandi (2003), kalus bertipe remah struktur-struktur selnya renggang dan mudah rapuh. Sejalan dengan penelitian Mahadi et al. (2016) bahwa tekstur kalus remah mengalami pembelahan sel yang cepat daripada tekstur kalus yang kompak. Arianto et al. (2013) dalam penelitiannya menyatakan bahwa tekstur kalus remah memiliki kualitas yang baik. Hal ini disebabkan karena kalus tipe remah mudah dipisah untuk menjadi sel-sel tunggal. Rosmaina et al. (2015) juga menyatakan bahwa tekstur remah mudah dilakukan pemisahan menjadi sel-sel tunggal pada kultur suspensi, selain itu juga dapat meningkatkan aerasi oksigen antar sel.

KESIMPULAN

Teknik sterilisasi tidak berpengaruh nyata pada seluruh variabel pengamatan. Teknik sterilisasi yang efektif untuk eksplan daun lahung adalah fungisida + NaOCl + alkohol 70% dilihat dari waktu muncul kalus yang cepat, persentase hidup yang tinggi dan persentase *browning* yang rendah.

DAFTAR PUSTAKA

- Adriani, I.A.S.D., Dwiyani, R. & Darmawati, I.A.P. (2022). Stimulasi tunas eksplan kalus cendana (*Santalum album* L.) secara *in vitro* dengan 2-isopentenyladenine (2-iP). *Jurnal Nandur*, 2(1), 41-51. Retrieved from: <https://ojs.unud.ac.id/index.php/nandur/article/view/83217>.
- Antarlina, S.S. (2009). Identifikasi sifat fisik dan kimia buah-buahan lokal Kalimantan. *Buletin Plasma Nutfah*, 15(2), 80-90. Retrieved from: <https://doi.org/10.21082/blpn.v115n2.2009.p80-90>.
- 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. Retrieved from: <https://doi.org/10.13057/psnmbi/m050123>.
- Aprilianti, P. & Sari, R. (2011). Keragaman tumbuhan buah di Kabupaten Malinau – Kalimantan Timur. Prosiding Seminar Nasional Biologi Perspektif Biologi dalam Pengelolaan Sumber Daya Hayati. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Retrieved from: <https://hdl.handle.net/20.500.12690/RIN/OVL118>.
- Arianto, Basri, Z. & Bustamil, M.U. (2013). Induksi kalus dua klon kakao (*Theobroma cacao* L.) unggul Sulawesi pada berbagai konsentrasi 2,4-dichlorophenoxy acetic acid secara *in vitro*. *E- Jurnal Agrotekbis*, 1(3), 211-220. Retrieved from: <https://www.neliti.com/id/publications/249211/induksi-kalus-dua-klon-kakao-theobroma-cacao-l-unggul-sulawesi-pada-berbagai-kon>.
- Armila, N.K.P., Bustami, M.U. & Basri, Z. (2014). Sterilisasi dan induksi kalus bawang merah (*Allium ascalonicum* L.) lokal Palu secara *in vitro*. *E- Jurnal Agrotekbis*, 2(2), 129-137. Retrieved from: <https://www.neliti.com/id/publications/244741/sterilisasi-dan-induksi-kalus-bawang-merah-allium-ascalonicum-l-lokal-palu-secar>.
- Budiarti, C. (2017). Pengaruh teknik sterilisasi dan zat pengatur tumbuh 2,4-D (2,4-Diklorofenoksiasetat), BAP (Benzil Amino Purin) terhadap induksi kalus nilam. Thesis. Universitas Islam Negeri Sunan Gunung Djati. Retrieved from: <https://etheses.uinsgd.ac.id/7148/>.
- Denish, A. (2007). Percobaan perbanyakan vegetatif Kemaitan (*Lunasia amara* Blanco) melalui kultur jaringan. Institut Pertanian Bogor.
- Ding, T., Sutejo, H. & Patah, A. (2015). Pengaruh berat benih dan media tanam terhadap pertumbuhan vegetatif bibit durian (*Durio zibethinus* Murr.). *Jurnal Agrifor*, 14(2), 261-268. Retrieved from: <https://core.ac.uk/download/pdf/290089485.pdf>.
- 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. Retrieved from: <https://doi.org/10.29122/jbbi.v4i2.2540>.
- Gunawan, L.W. (1995). *Teknik kultur in vitro dalam hortikultura*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Handayani, A.T., Sandra, E. & Faizah, H. (2022). Optimasi sterilisasi eksplan daun tanaman lidah mertua (*Sansevieria* sp.) pada kultur *in vitro*. *Jurnal Ilmiah Biologi*, 10(1), 109-124. Retrieved from: <https://doi.org/10.33394/bioscientist.v10i1.4808>.
- 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. Retrieved

- from:
<http://fkptpi.usk.ac.id/images/PDF/%20PROSIDING/PDF/PDF%20AGROTEKNOLOGI/271-276.pdf>.
- Hutami. (2008). Masalah pencoklatan pada kultur jaringan. *Jurnal AgroBiogen*, 4(2), 83-88. Retrieved from:
<https://media.neliti.com/media/publications/75163-ID-ulasan-masalah-pencoklatan-pada-kultur-j.pdf>.
- Imanudin. (2016). *Pengaruh penambahan air rebusan kentang (Solanum tuberosum L.), BAP dan NAA terhadap induksi tunas jati emas (Cordia subcordata) secara in vitro*. Universitas Muhammadiyah Yogyakarta. Retrieved from:
<http://repository.umy.ac.id/handle/123456789/6525>.
- Mahadi, I., Syafi', I.W. & Sari, Y. (2016). Induksi kalus jeruk kasturi (*Citrus macrocarpa*) menggunakan hormon 2,4-D dan BAP dengan metode *in vitro*. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, 21(2), 84-89. Retrieved from:
<https://doi.org/10.18343/jipi.21.2.84>.
- Mastuti. (2017). *Dasar-dasar kultur jaringan tumbuhan*. UB Press.
- Maysyarah, Rudiyanasyah & Alimuddin, A.H. (2019). Karakteristik senyawa triterpenoid dari fraksi diklorometana kulit batang durian merah (*Durio dulcis* Becc.). *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 8(2), 22-27. Retrieved from:
<https://jurnal.untan.ac.id/index.php/jkkmpa/article/view/36573>.
- Prabakti, D.H., Restanto, D.P. & Avivi, S. (2017). Pengaruh macam eksplan dan konsentrasi 2,4-D terhadap induksi kalus kluwek (*Pangium edule* Reinw.) *in vitro*. *Jurnal Gontor Agrotech Science*, 3(2), 39-58. Retrieved from:
<https://doi.org/10.21111/agrotech.v3i2.930>.
- Priyanti. (2012). Keanekaragaman tumbuhan *Durio* spp. menurut perspektif lokal masyarakat Dayak. *Jurnal Widya*. 29(319), 46-52. Retrieved from:
<https://www.neliti.com/id/publications/218678/keanekaragaman-tumbuhan-durio-spp-menurut-perspektif-lokal-masyarakat-dayak>.
- Purba, R.V., Yuswanti, H. & Astawa, I.N.G. (2017). Induksi kalus eksplan daun tanaman anggur (*Vitis vinivera* L.) dengan aplikasi 2,4-D secara *in vitro*. *E- Jurnal Agroekoteknologi*, 6(2), 218-228. Retrieved from:
<https://ojs.unud.ac.id/index.php/JAT/article/view/30895>.
- Rahayu, B., Solichatun & Anggarwulan, E. (2002). Pengaruh asam 2,4-diklorofenoksiasetat (2,4-D) terhadap pembentukan dan pertumbuhan kalus serta kandungan flavonoid kultur kalus *Acalypha indica* L. *Jurnal Biofarmasi*, 1(1), 1-6. Retrieved from:
<https://doi.org/10.13057/biofar/f010101>.
- Rahmadi, A., Wicaksana, N., Nurhadi, B., Suminar, E., Pakki, S.R.T. & Mubarak, S. (2020). Optimasi teknik sterilisasi dan induksi tunas tanaman durian (*Durio zibethinus* Murr.) 'Kamajaya' lokal Cimahi secara *in vitro*. *Jurnal Kultivasi*, 19(1), 1083-1088. Retrieved from:
<https://doi.org/10.24198/kultivasi.v19i1.24559>.
- Rasud, Y. & Bustaman. (2020). Induksi kalus secara *in vitro* dari daun cengkeh (*Syizigium aromaticum* L.) dalam media dengan berbagai konsentrasi auksin. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia (JIPi)*, 25 (1), 67-72. Retrieved from:
<https://doi.org/10.18343/jipi.25.1.67>.
- Rodinah, Razie, F., Naemah, D. & Fitriani, A. (2016). Respon bahan sterilan pada eksplan jelutung rawa (*Dyra lowii*). *Jurnal Hutan Tropis*, 4(3), 240-245. Retrieved from:
<https://doi.org/10.20527/jht.v4i3.3617>.
- Rosmaina, Z., Sutejo, P., Ulfiatun & Maisupratina. (2015). Induksi kalus pasak bumi (*Eurycoma longifolia* Jack) melalui eksplan daun dan petiol. *Jurnal Agroteknologi*, 6(1),

- 33-40. Retrieved from: <https://doi.org/10.24014/ja.v6i1.1567>.
- Santoso, U., & F. Nursandi. (2003). *Kultur jaringan tanaman*. Malang: Universitas Muhammadiyah Malang Press.
- Sastrapradja, S.D. & Rifai, M.A. (1989). *Mengenai Sumber Pangan Nabati dan Sumber Plasma Nutfahnya*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi.
- Silvina, F, Isnaini & Ningsih, W. (2021). Induksi kalus daun binahong merah (*Basella rubra* L.) dengan pemberian 2,4-d dan kinetin. *Jurnal Agro*, 8(2), 274-285. Retrieved from: <https://doi.org/10.15575/14273>.
- Susi. 2017. Identifikasi komponen kimia dan fitokomia lahung (*Durio dulcis*) indigenous Kalimantan. *Jurnal Al Ulum Sains dan Teknologi*, 3(1), 49-56. Retrieved from: <https://doi.org/10.31602/ajst.v3i1.993>.
- Sugiyarto, L. & Kuswandi, P.C. (2013). Eksplorasi metode sterilisasi dan macam media untuk perbanyakan durian (*Durio zibethinus*) secara *in vitro*. *Jurnal Sains Dasar*, 2(1), 20-24. Retrieved from: <https://doi.org/10.21831/jsd.v2i1.2374>.
- Tarampak, T.C., Sulistiawati & Nirmala, R. (2019). Metode mengatasi *browning* pada eksplan ulin (*Eusideroxylon zwageri*) untuk inisiasi regenerasi secara *in vitro*. *Jurnal Agroekoteknologi Tropika Lembab*, 1(2), 106-113. Retrieved from: <https://doi.org/10.35941/jatl.1.2.2019.1972.106-113>.
- Tiwari, A.K., Tripathi, S., Lal, M. & Mishra, S. (2012). Screening of some chemical disinfectans for media sterilization during *in vitro* micropropagation of sugarcane. *International Journal of Sugar Crops and Related Industry*, 14(4), 364-369. Retrieved from: <https://doi.org/10.1007/s12355-012-0178-5>.
- Uji, T. (2005). Keanekaragaman jenis dan sumber plasma nutfah *durio* (*Durio* spp.) di Indonesia. *Buletin Plasma Nutfah*, 11(1), 28-33. Retrieved from: <https://media.neliti.com/media/publications/53839-none-9d6ff859.pdf>.
- Wati, T., Astarini, I.A., Pharmawati, M. & Hendriyani, E. (2020). Perbanyakan *Begonia bimaensis* Undaharta & Ardaka dengan teknik kultur jaringan. *Jurnal Metamorfosa*, 7(1), 112-122. Retrieved from: <https://doi.org/10.24843/metamorfosa.2020.v07.i01.p15>.
- Wattimena. G.A. (1987). Zat pengatur tumbuh tanaman. Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman, PAU Bioteknologi IPB & Ditjen Dikti Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Bogor.
- Widhiastuti, Yusmia, Bariyyah, K., Isitiningrum, P., Hartatik, S. & Restanto, D.P. (2018). Metode sterilisasi eksplan durian merah banyuwangi secara *in-vitro*. *Prosiding Seminar Nasional PPM*. Retrieved from: https://scholar.google.co.id/citations?view_op=view_citation&hl=id&user=LXt7kMIAAAAJ&citation_for_view=LXt7kMIAAAAJ:9yKSN-GCB0IC.