

**OPTIMASI STERILISASI EKSPLAN UMBI DAN BULBIL PORANG
(*Amorphopalus muelleri* Blume.) PADA KULTUR *IN VITRO***

**OPTIMIZATION OF STERILIZATION ON TUBER AND BULBIL OF PORANG
(*Amorphopalus muelleri* Blume.) BY *IN VITRO* CULTURE**

**Ayuni Adawiyah*, Ateng Supriyatna, Nenden Nur Amalia, Muchfa Eprilia Muhsin,
Reni Annisa, & Sri Firti Solihah**

Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Sunan Gunung Djati, Bandung
Jl. A.H. Nasution No. 105, Cibiru, Bandung, 40614 - Indonesia

*Korespondensi: ayuniadawiyah@uinsgd.ac.id

ABSTRAK

Sterilisasi merupakan salahsatu faktor penting keberhasilan kultur *in vitro*. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menentukan optimasi sterilisasi yang tepat untuk perbanyakan porang secara *in vitro*. Penelitian ini melakukan lima model perlakuan sterilisasi dengan eksplan berupa umbi dan bulbil. Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa eksplan bulbil lebih baik untuk digunakan dalam perbanyakan porang dibandingkan dengan umbi. Selain itu, eksplan yang digunakan harus dalam keadaan segar. Adapun perlakuan sterilisasi yang paling optimal adalah dengan dilakukan perendaman detergen selama 10 menit, lalu perendaman menggunakan fungisida 3 g L⁻¹ + bakterisida 3 g L⁻¹ (12 jam), kemudian clorox 30% (15 menit) ditambah perlakuan didalam LAF berupa perendaman alkohol 70% (1 menit), asam askorbat 100 mg L⁻¹ (1 jam), alkohol 70% (5-10 detik), clorox 1% (10 menit), betadine 10% (10 menit), dan betadine 15 tetes (10 menit) berturut-turut, dengan eksplan yang digunakan berupa bulbil dengan dilakukan teknik pengupasan kulit dan pematangan menjadi bagian yang lebih kecil sebelum perlakuan sterilisasi didalam LAF. Ditunjukkan hasil eksplan yang bertahan hingga ± 90 HST tanpa adanya kontaminasi.

Kata kunci: bulbil; sterilisasi; porang; umbi; *in vitro*

ABSTRACT

Sterilization is an important factor in the success of *in vitro* culture. The purpose of this study was to determine the proper sterilization optimization for porang propagation *in vitro*. This study conducted five models of sterilization treatment with explants in the form of tubers and bulbils. Based on the results of the study showed that bulbil explants were better for use in porang propagation than bulbs. In addition, the explants used must be fresh. The most optimal sterilization treatment is by soaking detergent for 10 minutes, then soaking using fungicide 3 g L⁻¹ + bactericide 3 g L⁻¹ (12 hours), then clorox 30% (15 minutes) plus treatment in LAF in the form of alcohol soaking 70 % (1 minute), ascorbic acid 100 mg L⁻¹ (1 hour), alcohol 70% (5-10 seconds), clorox 1% (10 minutes), betadine 10% (10 minutes), and betadine 15 drops (10 minutes) successively, with the explants used in the form of bulbils with the skin peeling technique and cutting into smaller parts before sterilization treatment in LAF. The results showed that explants survived up to ± 90 DAP without any contamination.

Keywords: bulbil; sterilization; porang; tuber; *in vitro*

PENDAHULUAN

Tanaman porang (*Amorphophallus muelleri*) merupakan salah satu anggota Famili Aracea yang dicirikan dengan habitus berupa herba, monokotil, dan hidup menahun. Porang mudah ditemui di berbagai tempat yang ternaungi, seperti hutan, lereng-lereng, tepi hutan jati dan belukar, di sepanjang sungai di daerah tropis (Ekowati *et al.*, 2015). Bagian yang dimanfaatkan adalah umbinya yang mengandung glukomanan yang sangat tinggi ($\pm 40\%$), kaya serat, dan tidak terdapat kolesterol (Imelda *et al.*, 2007). Glukomanan dimanfaatkan sebagai bahan pangan, seperti tepung dan manosse, serta untuks berbagai keperluan industri, seperti farmasi, kosmetik, bahan pelapis, dan pengemulsi (Dinoto *et al.*, 2013).

Tanaman porang sangat berpotensi untuk lebih dikembangkan pembudidayaannya di Indonesia untuk memenuhi permintaan pasar secara luas, intensif, dan berkelanjutan (Azis *et al.*, 2014). Selain dari nilai jualnya yang tinggi dan banyak diperlukan, tanaman porang merupakan jenis tanaman liar yang mudah didapatkan. Selain itu juga tanaman porang dapat tumbuh dibawah naungan sehingga cocok dikembangkan sebagai tanaman sela di antara pepohonan kayu dan dapat dikelola dengan sistem pertanian *agroforestry*.

Dilihat dari jumlah produksi dan permintaan, Indonesia sudah mampu sedikitnya mengeksport porang ke Jepang sebanyak 3000 ton tahun⁻¹. Jumlah ini masih belum mencukupi kebutuhan pasar, sehingga prospek pengembangan dan peluang bisnis masih tinggi. Adapun produksi porang di dunia sudah mencapai 30 ribu ton tahun⁻¹, dan jumlah ini hanya baru ditanam secara komersial di Asia. Belum ada laporan produksi komersial tanaman ini di Eropa dan Amerika (Zhang *et al.*, 2010). Namun sayangnya, proses budidaya tanaman porang menghadapi beberapa permasalahan, diantaranya adalah perbanyak jumlah umbi yang lama dan tingkat pengisian umbi (*bulking*) yang tidak efisien menyebabkan siklus hidup *Amorphophallus* sp. menjadi panjang. Hal ini menyebabkan produksi umbi komersial secara optimal baru bisa diperoleh setelah 3 tahun masa tanam. Selain itu, terdapat pula serangan penyakit seperti busuk lunak (*Pectobacterium carotovora*) dan hawar bibit (*Sclerotinium rolfsii* Sacc) dapat berkontribusi pada rendahnya hasil produksi (Zhang *et al.*, 2010). Kultur *in vitro* merupakan salah satu teknik yang efektif dan efisien untuk perbanyak bibit dengan cepat, jumlah yang banyak dan seragam, serta berkesinambungan (Azis *et al.*, 2014). Melalui kultur *in vitro* ini diharapkan perbanyak tanaman

porang dapat dilakukan relatif lebih singkat. Hal ini sama artinya dengan produksi umbi porang yang juga bisa ditingkatkan dalam waktu yang lebih singkat pula.

Sterilisasi sangat penting dalam teknik perbanyakan secara *in vitro* (Shofiyani *et al.*, 2019). Sterilisasi dilakukan untuk memusnahkan kemungkinan adanya mikroba kontaminan pada media kultur *in vitro*. Mikroba kontaminan tersebut bisa berupa bakteri, virus, khamir, dan jamur yang dapat mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan eksplan (Natasha dan Restiani, 2019). Menurut Sandra (2002) dalam Shofiyani *et al.* (2019), sterilisasi sangat menentukan keberhasilan kultur jaringan terutama sterilisasi eksplan yang berasal dari luar atau lapang. Jika sterilisasi gagal maka kegiatan selanjutnya tidak bisa dilakukan (tidak bermanfaat). Hal ini karena mikrobia akan berkompetisi dalam hal nutrisi dengan eksplan. Mengingat kondisi steril adalah salah satu faktor yang menentukan keberhasilan kultur *in vitro*, pemilihan metode sterilisasi yang tepat sangat penting untuk dioptimasi. Menurut Habibah *et al.* (2013), tahap sterilisasi permukaan eksplan merupakan tahap awal perkembangan kultur *in vitro*. Sterilisasi dapat dilakukan dengan berbagai cara, baik secara fisik maupun kimia. Secara fisik melalui suhu,

tekanan, radiasi dan penyaringan, misalnya sterilisasi, pembakaran atau sanitasi. Secara kimia melalui perubahan komposisi molekul misalnya dengan senyawa senyawa fenolik, alkohol, klor, iodium, dan etilen oksida. Keefektifan zat antimikrobal tergantung konsentrasi, jumlah dan jenis mikroorganisme, suhu, bahan organik terlarut dan pH. Menurut Natasha dan Restiani (2019), hal yang penting diperhatikan dalam tahap sterilisasi adalah eksplan yang steril dan menjaga agar jaringan dari eksplan tidak rusak akibat dari konsentrasi sterilan yang digunakan. Kesulitan perbanyakan tumbuhan yang terkontaminasi mikroorganisme dengan kultur jaringan, yaitu bagaimana mematikan atau menghilangkan mikroorganisme dengan bahan sterilian tanpa mematikan tumbuhan (eksplan). Menurut Gunawan (1987) dalam Shofiyani *et al.* (2019), bahan-bahan sterilisasi yang biasa digunakan umumnya bersifat toksik terhadap jaringan. Sehingga perlu ditentukan konsentrasi sterilan yang tepat agar bisa menghilangkan kontaminan tetapi tidak merusak atau mematikan eksplan.

Berbagai cara sterilisasi telah banyak dilakukan oleh peneliti maupun pelaksana kultur *in vitro* untuk menghilangkan sumber kontaminan yang terdapat dalam eksplan secara efektif. Kombinasi bahan sterilan dan waktu

perendaman yang tepat merupakan salah satu faktor yang menentukan keberhasilan sterilisasi. Terdapat berbagai bahan kimia sterilan yang dibutuhkan untuk sterilisasi eksplan diantaranya sodium hipoklorit (clorox), merkuri khlorit (sublimat), detergen, alkohol 70%, $HgCl_2$, bakterisida, fungisida, hidrogen peroksida (H_2O_2), dan tween (Shofiyani dan Hajoeningtjas, 2010).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Handayani *et al.* (2021) dalam kultur endosperma kepel secara *in vitro* melakukan perlakuan pra sterilisasi pada biji kepel dengan merendamnya dalam larutan detergen 2 g L^{-1} selama 10 menit, kemudian dibilas sebanyak 3 kali menggunakan akuades, kemudian direndam dalam bakterisida dan fungisida masing-masing 2 g L^{-1} selama 60 menit sambil digojok. Setelah itu, dibilas dengan akuades didalam LAF. Kemudian biji dicelupkan ke dalam alkohol 70% selama 3 detik. Lalu ditiriskan diatas tisu steril. Adapun pada penelitian yang dilakukan oleh Habibah *et al.* (2013) jamur endofit pada daun burahol dapat dieliminasi dengan penyiraman fungisida secara teratur, selain itu pada perlakuan sterilisasi permukaan eksplan paling optimal adalah dengan perendaman fungisida selama 24 jam, dilanjutkan perendaman bakterisida dan fungisida selama 30

menit, perendaman alkohol 70% selama 1 menit, dilanjutkan dengan clorox 15% selama 10 menit, dan klorofil 10% selama 10 menit berturut-turut.

Berbagai penelitian telah dilakukan terhadap optimasi sterilisasi eksplan dalam kultur *in vitro* menyatakan bahwa konsentrasi senyawa kimia seperti detergen, bakterisida, fungisida, dan alkohol yang dikombinasikan dengan waktu perendaman yang tepat cukup baik untuk menurunkan kemungkinan munculnya kontaminasi pada eksplan. Oleh karena itu, tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan sterilisasi eksplan umbi dan bulbil yang optimal untuk kultur *in vitro* porang (*Amorphophallus muelleri* Blume).

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan, UIN Sunan Gunung Djati Bandung, pada bulan Januari-Mei 2021.

Alat yang digunakan dalam penelitian adalah botol kultur, Bunsen, LAF (*Laminar Air Flow*), *petridish*, pisau bedah (*scalpel*), timbangan analitik, *hand sprayer*, kompor, gelas ukur, *autoclave*, *microfilter*, pipet ukur, pH meter, aluminium foil, *plastic wrapping*, pensil, kertas label, rak kultur, kamera, dan alat tulis.

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah umbi dan bulbil porang, media *Murashige and Skoog*, agar-agar, gula, air kelapa, BAP, akuades,

detergen, clorox, spritus, alkohol 70%, bakterisida, fungisida, asam askorbat, dan betadine.

Tabel 1. Perlakuan sterilisasi umbi dan bulbil porang

Pra Perlakuan	Perlakuan	Eksplan
Detergen (10 menit)	[A] Bakterisida 2g L ⁻¹ + fungisida 2 g L ⁻¹ (4 jam) Clorox 20% (10 menit)	Umbi, bulbil yang dikecambahkan
Detergen (10 menit)	[B] Fungisida 3 g L ⁻¹ (5 jam), Bakterisida 3 g L ⁻¹ (5 jam), Clorox 10% (15 menit)	Umbi yang dikecambahkan
Detergen (10 menit)	[C] Fungisida 3 g L ⁻¹ (5 jam), Bakterisida 3 g L ⁻¹ (5 jam), Clorox 10% (15 menit) Perlakuan dalam LAF: As. Askorbat 500 mg L ⁻¹ (15 menit) 2x, Alkohol 70% (5 menit), Betadine (5 menit)	Bulbil yang dikecambahkan dan dilakukan pengupasan kulit sebelum perlakuan dalam LAF
Detergen (10 menit)	[D] Fungisida 3 g L ⁻¹ + Bakterisida 3 g L ⁻¹ (12 jam) Clorox 30% (15 menit) Perlakuan di LAF: Alkohol 70 % (1 menit), As. Askorbat 100 mg L ⁻¹ (1 jam), Alkohol 70% (5-10 detik), Clorox 1% (10 menit), Betadine 10% (10 menit), Betadine 15 tetes (10 menit)	Umbi, dan Bulbil yang dikecambahkan dan dilakukan pengupasan kulit sebelum perlakuan dalam LAF
Detergen (10 menit)	[E] Fungisida 3 g L ⁻¹ + Bakterisida 3 g L ⁻¹ (12 jam) Clorox 30% (15 menit) Perlakuan di LAF: Alkohol 70% (1 menit), As. Askorbat 100 mg L ⁻¹ (1 jam), Alkohol 70% (5-10 detik), Clorox 1% (10 menit), Betadine 10% (10 menit), Betadine 15 tetes (10 menit)	Bulbil dan Umbi tanpa dikecambahkan dan dilakukan pengupasan kulit sebelum perlakuan dalam LAF

Eksplan yang digunakan adalah mata tunas umbi dan bulbil porang yang akan ditumbuhkan dalam media MSO dengan penambahan ZPT (Zat Pengatur Tumbuh) BAP, dengan 4 taraf konsentrasi BAP (0; 0,5; 1; 1,5). Tabel 1 menunjukkan beberapa variasi sterilisasi yang dilakukan. Variasi

tersebut dilihat dari beberapa faktor, yakni bahan kimia sterilan, waktu perendaman, jenis eksplan, dan konsentrasi BAP yang digunakan. Penelitian ini dilakukan secara berangsur-angsur dimulai dari tahap A hingga E sehingga bahan sterilisasi, waktu perendaman, dan jenis eksplan yang digunakan ditentukan berdasarkan

hasil yang diamati pada tahapan sebelumnya. Selanjutnya diuji dengan perlakuan yang lebih baik pada tahap berikutnya. Penelitian ini dianalisis secara deskriptif, berdasarkan keberadaan kontaminasi dan lama eksplan bertahan hidup.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sterilisasi merupakan tahap awal yang sangat penting dalam kultur *in vitro*. Jika tahap ini tidak berhasil maka teknik pengkulturan tidak mungkin dapat dilakukan. Ketidakberhasilan tersebut dipengaruhi oleh adanya kontaminasi mikroorganisme seperti jamur dan bakteri yang dapat merusak sel atau jaringan yang dikultur dan menyebabkan pertumbuhan menjadi terhambat atau bahkan kematian eksplan. Bahan sterilisasi yang digunakan umumnya clorox, alkohol, dan benlate. Dalam penelitian ini dilakukan perlakuan awal dengan perendaman detergen selama 10 menit, dengan eksplan berupa umbi dan bulbil porang. Perlakuan A, B, C, dan D menggunakan eksplan yang sebelumnya dikecambahkan terlebih dulu. Sedangkan perlakuan E menggunakan eksplan bulbil yang segar. Teknik sterilisasi juga dilakukan di dalam LAF pada perlakuan C, D, dan E. Pada tahap ini eksplan dikupas terlebih dulu dan dipotong

menjadi bagian lebih kecil. Selanjutnya dilakukan perendaman kembali menggunakan beberapa bahan kimia sterilan, seperti asam askorbat, clorox, betadine, dan alkohol. Perendaman menggunakan asam askorbat bertujuan untuk meminimalisir terjadinya *browning* yang disebabkan keluarnya eksudat berupa senyawa fenol akibat pengirisan/penyayatan organ. Seperti yang dinyatakan George dan Sherrington (1984) dalam Widayanti *et al.* (2014) menyatakan bahwa *browning* dapat ditanggulangi salah satu caranya memodifikasi potensial redoks dengan penambahan asam askorbat ($C_6H_8O_6$) pada media kultur. Hasil optimasi sterilisasi eksplan umbi dan bulbil porang dapat dilihat pada tabel 2.

Perlakuan B dan C dilakukan dalam waktu bersamaan dengan dibedakan jenis eksplan, bahan sterilisasi, dan waktu perendamannya. Hal ini dilakukan, karena pada perlakuan A, media dengan eksplan umbi lebih cepat (± 2 HST) dan lebih banyak kontaminasinya, sedangkan eksplan bulbil bisa bertahan sedikit lebih lama (± 4 HST) dan lebih sedikit kontaminasinya. Sehingga, eksplan bulbil yang dipilih untuk digunakan pada perlakuan C dengan perlakuan sterilisasi yang lebih ditingkatkan dari perlakuan B. Pada perlakuan D dilakukan kembali uji sterilisasi menggunakan eksplan umbi

dengan bahan sterilisasi dan waktu perendaman yang ditingkatkan, namun hasil tetap menunjukkan bahwa penggunaan eksplan umbi tidak lebih baik dari eksplan bulbil. Sehingga pada perlakuan E, digunakan eksplan berupa bulbil saja.

Pada penelitian ini, konsentrasi BAP tidak berpengaruh terhadap optimasi sterilisasi umbi dan bulbil porang. Ditunjukkan dengan adanya kontaminasi yang acak pada berbagai konsentrasi media.

Tabel 2. Pengaruh perlakuan sterilisasi pada kultur *in vitro* umbi dan bulbil porang

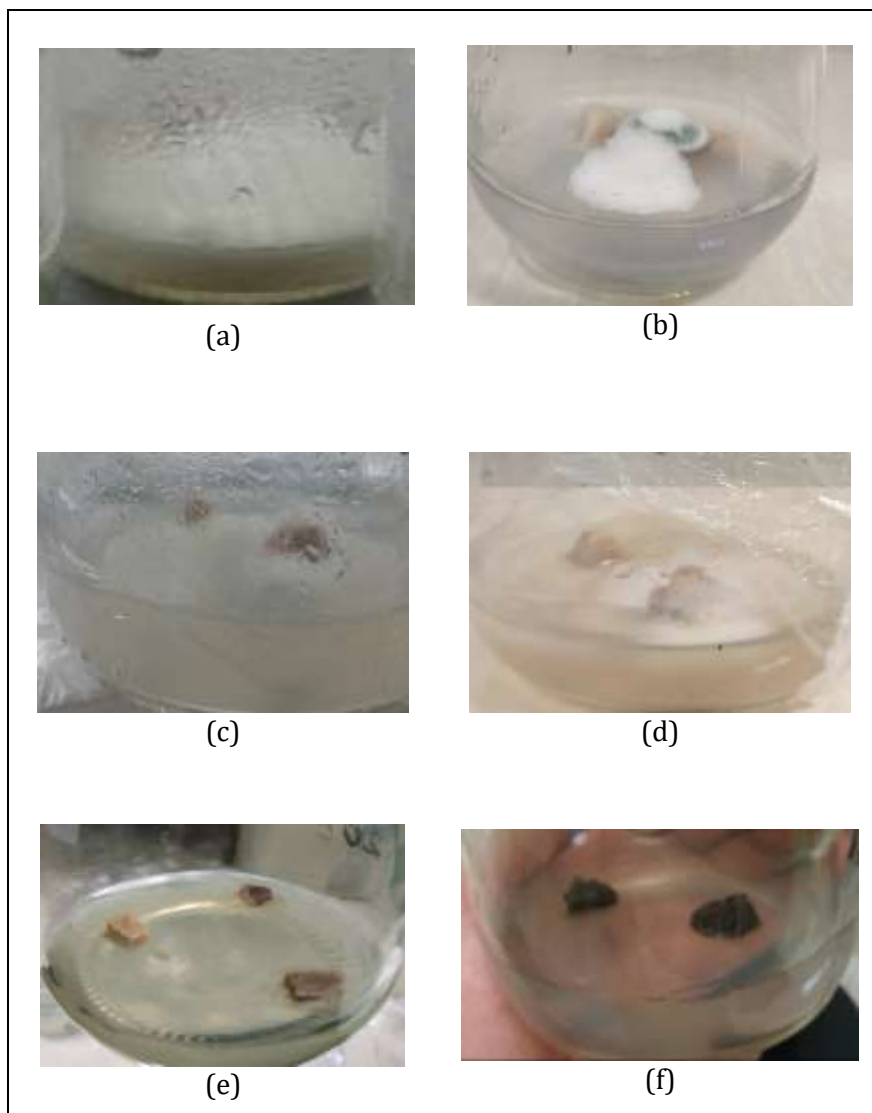
Perlakuan	Eksplan	Rerata waktu muncul kontaminasi (HST)	Persentase kontaminasi (%)		Persentase eksplan hidup (%)
			Jamur	Bakteri	
Pra sterilisasi Detergen (10 menit)	[A] Umbi dan bulbil yang dikecambahkan	Umbi: 4 Bulbil: 3	100	0	0
Detergen (10 menit)	[B] Umbi yang dikecambahkan	3	100	0	0
Detergen (10 menit)	[C] Bulbil yang dikecambahkan dan dilakukan pengupasan kulit sebelum perlakuan dalam LAF	4	50	0	50 (bertahan hingga 27 HST)
Detergen (10 menit)	[D] Umbi, dan Bulbil yang dikecambahkan dan dilakukan pengupasan kulit sebelum perlakuan dalam LAF	Bulbil: 11 Umbi: 12	Bulbil:71 Umbi:90	0	Bulbil: 29 Umbi: 10 (Bertahan hingga 30 < X < 60 HST)
Detergen (10 menit)	[E] Bulbil tanpa dikecambahkan dan dilakukan pengupasan kulit sebelum perlakuan dalam LAF	0	0	0	100 (bertahan hingga 90<x<120 HST dalam keadaan dorman, kemudian mengalami <i>browning</i>)

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa sterilisasi umbi dan bulbil yang paling optimal adalah

perendaman menggunakan fungisida 3 g L⁻¹ + bakterisida 3 g L⁻¹ (12 jam), kemudian clorox 30% (15 menit)

ditambah perlakuan didalam LAF berupa perendaman alkohol 70% (1 menit), asam askorbat 100 mg L⁻¹ (1 jam), alkohol 70% (5-10 detik), clorox 1% (10 menit), betadine 10% (10 menit), dan betadine 15 tetes (10 menit) berturut-turut, dengan eksplan yang digunakan berupa bulbil dan dilakukan teknik pengupasan kulit dan pemotongan menjadi bagian yang lebih kecil sebelum

perlakuan sterilisasi didalam LAF. Ditunjukkan hasil eksplan yang bertahan hingga ± 90 HST tanpa adanya kontaminasi. Meskipun begitu, eksplan tidak bertahan sampai terlihat pertumbuhan, melainkan terjadi *browning*. Hal ini dimungkinkan media yang digunakan belum optimal, dan perlu dilakukan subkultur ke media baru.



Gambar 1. Kontaminasi oleh jamur pada eksplan (a) bulbil dan (b) umbi yang dikedambahkan; Kontaminasi oleh jamur pada eksplan (c) bulbil dan (d) umbi yang dikedambahkan dan dilakukan perlakuan dalam LAF; kontaminasi oleh jamur pada eksplan (e) bulbil dan (f) umbi yang tidak dikedambahkan dan dilakukan perlakuan dalam LAF

Bahan kimia sterilan dalam penelitian ini terdiri atas bakterisida, fungisida, dan clorox yang berfungsi sebagai bahan desinfektan atau antiseptik untuk membunuh mikroorganisme di permukaan eksplan. Bakterisida untuk membunuh bakteri, sedangkan fungisida untuk membunuh cendawan atau jamur. Adapun asam askorbat digunakan untuk meminimalisir terjadinya *browning* (pencoklatan) pada eksplan.

Adapun jika dibandingkan penggunaan eksplan antara umbi dan bulbil, terlihat persentase kontaminasi lebih banyak terjadi pada eksplan umbi yakni sebesar 90% dengan rata-rata waktu muncul kontaminasi 12 HST, dibanding bulbil dengan persentase 71% kontaminasi dengan rata-rata muncul kontaminasi 11 HST pada perlakuan keempat.

Kontaminan dalam perbanyakan porang secara *in vitro* umumnya disebabkan oleh jamur. Terlebih jika eksplan yang digunakan berupa umbi yang diperoleh dari dalam tanah, maka kemungkinan kontaminasi menjadi sangat besar. Meskipun perlakuan sterilisasi dilakukan sebanyak 2 kali, yakni pertama pada bagian permukaan dan kedua setelah dilakukan pengupasan dan pemotongan, kontaminasi masih sangat besar pada eksplan yang dikecambahkan. Hal ini menunjukkan

bahwa eksplan yang digunakan baik umbi atau bulbil tidak perlu dilakukan perkecambahan terlebih dahulu.

Gambar 1 menunjukkan bahwa eksplan a hingga d yang dikecambahkan mengalami kontaminasi, ditandai dengan eksplan yang diselimuti oleh hifa jamur berwarna putih. Menurut Rahmawati (2008) dalam Natasha dan Restiani (2019) menyatakan patogen yang muncul mempertahankan dirinya dalam bentuk miselium atau dalam bentuk lain yaitu bisa di dalam embrio, dalam kulit maupun di permukaan eksplan. Kontaminasi berupa jamur terjadi pada permukaan eksplan ditandai dengan munculnya hifa yang menyelimuti eksplan berbentuk kapas berwarna putih dan spora yang berwarna hitam. Selain kontaminasi oleh jamur, eksplan e dan f pada awalnya mengalami dorman kemudian lama-kelamaan eksplan mengalami *browning*. Dormannya eksplan kemungkinan disebabkan media yang digunakan kurang optimal, sehingga perlu dilakukan subkultur ke media baru. Adapun *browning* menurut Hutami dan Sri (2008) terjadi akibat akumulasi kandungan fenolik yang teroksidasi akibat goresan atau luka pada sel, menyebabkan tanaman yang dikultur menjadi kecokelatan atau kehitaman dan gagal tumbuh. Akibat adanya aktivitas enzim *oksidase* yang mengandung tembaga seperti *tirosinase* dan *polifenol*

oksidase. Menurut Widayanti *et al.* (2014) *browning* dapat menyebabkan pertumbuhan dan perkembangan eksplan terhambat. *Browning* terjadi sebagai bentuk adaptif dari sistem biologi akibat pengaruh fisik dan biokimia.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa eksplan bulbil lebih baik untuk perbanyak porang dibandingkan dengan umbi. Eksplan yang digunakan harus dalam keadaan segar. Adapun perlakuan sterilisasi yang paling optimal adalah dengan dilakukan perendaman detergen selama 10 menit, lalu perendaman menggunakan fungisida 3 g L⁻¹ + bakterisida 3 g L⁻¹ (12 jam), kemudian clorox 30% (15 menit) ditambah perlakuan didalam LAF berupa perendaman alkohol 70% (1 menit), asam askorbat 100 mg L⁻¹ (1 jam), alcohol 70% (5-10 detik), clorox 1% (10 menit), betadine 10% (10 menit), dan betadine 15 tetes (10 menit) berturut-turut, dengan eksplan yang digunakan berupa bulbil dengan dilakukan teknik pengupasan kulit dan pemotongan menjadi bagian yang lebih kecil sebelum perlakuan sterilisasi didalam LAF. Ditunjukkan hasil eksplan yang bertahan hingga ± 90 HST tanpa adanya kontaminasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Azis, Masruri, Ratnasari, & Rahayu. (2014). Induksi Kalus Umbi Iles-Iles (*Amorphophallus muelleri* Blume) dengan Kombinasi Konsentrasi 2,4 D dan BAP secara In Vitro. *LenteraBio*, 3(2), 109-114.
- Dinoto, Achmad, Watumlawar, C. C., & Yopi. (2013). In Vitro Modulation of Human Intestinal Microbiota by Mannoligosaccharides Synthesized from *Amorphophallus muelleri* Glucomannan. *Microbiology Indonesia*, 7(4), 144-151.
- Ekowati, Gustini, Yunawiadi, B., & Azrianingsih, R. (2015). Sumber Glukomanan dari Edible Araceae di Jawa Timur. *J-Pal*, 6(1), 32-41.
- Habibah, N., Sumadi, & Ambar, S. (2013). Optimasi Sterilisasi Permukaan Daun dan Eliminasi Endofit pada Burahol. *Biosaintifika*, 5(2), 94-99.
- Handayani, E., Irsyadi, M. B., Aris, I., Alawiyah, R. L., Ayuningtias, N., Permatasari, F., et al. (2021). Optimasi Sterilisasi Endosperma Kepel (*Stelethocarpus burahol* [BI] Hook F. & Th) Secara In Vitro. *Bio Edu: Jurnal Pendidikan Biologi*, 6(2), 113-121.
- Hutami, & Sri. (2008). Masalah Pencoklatan pada Kultur Jaringan. *Agrobiogen*, 4(2), 83-88.
- Imelda, Wulansari, & Suryasari. (2007). Mikropropagasi Tanaman Iles-Iles (*Amorphophallus muelleri* Blume). *Ilmiah Nasional*, 8(4), 217-223.
- Natasha, K., & Restiani, R. (2019). Optimasi Sterilisasi Eksplan pada Kultur In Vitro Ginseng Jawa (*Talium paniculatum*). *Prosiding Symbion (Symposium on Biology Education)* (pp. 87-95). Yogyakarta: Universitas Ahmad Dahlan.

- Shofiyani, A., Purnawanto, A. M., Zahara, R., & Aziz, A. (2019). Pengaruh Berbagai Sterilan dan Waktu Perendaman Terhadap Keberhasilan Sterilisasi Eksplan Daun Kencur (*Kaempferia galanga* L) pada Teknik Kultur In Vitro. *Seminar Nasional Hasil Penelitian dan Pengabdian pada Masyarakat IV Tahun 2019* (pp. 668-678). Purwokerto: LPPM-Universitas Muhammadiyah Purwokerto.
- Widayanti, A. I., Dwiyani, R., & Yuswanti, H. (2014). Pengaruh Kombinasi Napthalene Acetic Acid (NAA) - Benzyl Amino Purine (BAP) dan Jenis Eksplan pada Mikropropagasi Anggrek *Vanda tricolor* Lindl. var. *suavis*. *Agrotrop*, 4(1), 13-18.
- Zhang, Donghua, Wang, Q., & George, S. (2010). Mechanism of Staggered Multiple Seedling Production from *Amorphophallus Bulbifer* and *Amorphophallus muelleri* and Its Application to Cultivation in Southeast Asia. *Journal of Tropical Agriculture and Development*, 54(3), 84-90.