

Potensi Biosida Serbuk Pelepeh Pisang Kepok Pada Kultur In Vitro Benih Beras Hitam

Hidayah Adihaningrum*; Triastuti Rahayu

Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan
Universitas Muhammadiyah Surakarta

Jl. A.Yani Tromol Pos I Pabelan Surakarta, Jawa Tengah, Indonesia

*E-mail : a420150125@student.ums.ac.id

Abstrak - Kontaminasi pada Teknik kultur jaringan tanaman merupakan salah satu masalah utama yang diakibatkan oleh mikroorganisme. Untuk mengatasi terjadinya kontaminasi pada media kultur dapat dilakukan dengan penambahan Plant Preservative Mixture (PPM) sebagai biosida. Banyak bahan alami yang dapat dijadikan sebagai biosida untuk menghambat pertumbuhan mikroba salah satunya pelepah pisang kepok. Kandungan pada pelepah pisang kepok yaitu senyawa bioaktif saponin, flavonoid, tannin yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri, mempercepat pertumbuhan sel, dan sebagai antibiotik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi biosida serbuk pelepah pisang kepok pada kultur in vitro benih beras hitam. Metode penelitian yang digunakan yaitu eksperimen dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) 1 faktor dengan taraf perlakuan yaitu serbuk pelepah pisang kepok dengan konsentrasi serbuk 0,30% (K1); konsentrasi serbuk 0,35% (K2); konsentrasi serbuk 0,40% (K3); konsentrasi serbuk 0,45% (K4), dalam setiap perlakuan dilakukan 4 kali pengulangan. Pembuatan biosida serbuk pelepah pisang kepok dengan maserasi menggunakan pelarut etanol 70% (1:10) selama 3 hari, dan diuapkan dengan rotary evaporator untuk mendapatkan ekstrak kental dengan suhu 40°C, selanjutnya ekstrak kental yang didiamkan di Freezer selama 1 hari ditambahkan serbuk laktosa dengan perbandingan 1:3 secara perlahan dan diaduk hingga homogen. Parameter yang diamati pada kultur in vitro selama 7 hari dari proses penanaman biji beras hitam yaitu persentase media yang tidak mengalami kontaminasi, tinggi batang, jumlah akar, jumlah daun, dan kondisi benih. Kondisi benih pada perlakuan K1, K2, K3, K4, K+, K- yaitu normal. Serbuk pelepah pisang kepok dengan konsentrasi 0,45% lebih efektif menghasilkan 2 helai daun, 7 buah akar, tinggi rata-rata batang 8,6 cm, dan tinggi rata-rata benih 14,70 cm dibandingkan dengan konsentrasi yang lain dan konsentrasi 0,45% dapat mencegah terjadinya kontaminasi sebesar 100% pada pertumbuhan benih beras hitam secara in vitro. Sehingga dapat disimpulkan biosida serbuk pelepah pisang kepok memiliki potensi sebagai pengganti PPM dalam pembuatan media kultur jaringan tanaman secara in vitro pada pertumbuhan benih beras hitam dengan konsentrasi ideal yaitu 0,45%.

Kata Kunci: antimikroba, beras hitam, biosida, *in vitro*, kontaminasi, pelepah pisang kepok.

Abstract - Contamination in plant tissue culture techniques is one of the main problems caused by microorganisms. To overcome the contamination of culture media can be done by adding Plant Preservative Mixture (PPM) as biocide. Many natural ingredients can be used as biocides to inhibit microbial growth, one of which is kepok banana fronds. The content of kepok banana midribs is bioactive saponin compounds, flavonoids, tannins which can inhibit bacterial growth, accelerate cell growth, and as antibiotics. The aim of this study was to determine the biocide potential of kepok banana midrib powder on in vitro black rice seed culture. The research method used was an experiment with a 1-factor Completely Randomized Design (CRD) with a treatment level of kepok banana stem powder with a powder concentration of 0.30% (K1); powder concentration of 0.35% (K2); powder concentration 0.40% (K3); powder concentration of 0.45% (K4), in each treatment four repetitions were carried out. Making biocides of kepok banana stem powder with maceration using ethanol 70% (1:10) for 3 days, and evaporated with a rotary evaporator to get a thick extract at a temperature of 40°C, then the thick extract left in Freezer for 1 day added lactose powder by comparison 1: 3 slowly and stirred until homogeneous. The parameters observed in in vitro culture for 7 days from the process of planting black rice seeds were the percentage of media that did not experience contamination, stem height, number of roots, number of leaves, and seed condition. Seed conditions in treatments K1, K2, K3, K4, K+, K- are normal. Kepok banana stem powder with a concentration of 0.45% is more effective in producing 2 leaves, 7 roots, an average stem height of 8.6 cm, and the average height of seeds is 14.70 cm compared to other concentrations and a concentration of 0, 45% can prevent 100% contamination in the growth of black rice seeds in vitro. So it can be concluded that the biocide of kepok banana stem powder has the potential as a substitute for PPM in the manufacture of plant tissue culture media in vitro on the growth of black rice seeds with an ideal concentration of 0.45%.

Keywords: antimicrobial, black rice, biocide, in vitro, contamination, kepok banana midrib.

1. PENDAHULUAN

Kultur jaringan merupakan metode yang digunakan untuk mengisolasi bagian tanaman seperti jaringan tumbuhan, dimana proses penumbuhannya dalam kondisi aseptik. Teknik

kultur jaringan bertujuan untuk menghasilkan bibit yang berkualitas yang terbebas dari virus. Menurut Zulkarnain (2009), kondisi fisiologis eksplan merupakan hal penting dalam keberhasilan teknik kultur jaringan. Berdasarkan penelitian Anis dan Oetami (2010), penyebab dari kontaminasi yaitu adanya gejala yang ditimbulkan dari serangan jamur maupun mikroorganisme lain. Untuk mengatasi terjadinya kontaminasi pada suatu media, dapat menggunakan Plant Preservative Mixture (PPM). Sharaf dan Weathers (2006) menyatakan bahwa PPM merupakan preservative atau biosida spectrum luas yang memiliki keefektifan untuk mencegah atau menurunkan tingkat kontaminasi yang terjadi pada kultur jaringan suatu tumbuhan. Penambahan PPM pada media yang digunakan menyebabkan tingginya biaya yang digunakan. Oleh karena itu perlu adanya alternatif lain dengan menggunakan bahan alami sebagai pengganti PPM yang dapat menghambat kontaminasi dari bakteri dan jamur pada kultur tanaman.

Bahan-bahan alami yang dapat dijadikan alternatif dalam pembuatan PPM salah satunya yaitu dengan menggunakan pelepah pisang kepok (*Musa paradisiaca*). Tanaman pisang ketika masa panen belum dimanfaatkan secara optimal oleh masyarakat, sedangkan tanaman pisang memiliki kandungan bermanfaat yang dapat digunakan dalam dunia kesehatan maupun pertanian. Berdasarkan penelitian (Nur, dkk, 2012), pada bagian pelepah pisang kepok memiliki potensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Kandungan atau senyawa yang terdapat pada pelepah pisang kepok salah satunya yaitu tanin, saponin, flavonoid, dan fenol. Selain itu pelepah pisang mengandung senyawa kimia yang berpotensi sebagai antibiotik.

Menurut Prasetyo, et al., (2008) menyatakan bahwa saponin merupakan senyawa metabolik sekunder yang berfungsi sebagai antiseptik sehingga memiliki kemampuan antibakteri. Adanya zat antibakteri tersebut akan menghalangi pembentukan atau pengangkutan masing-masing komponen kedinding sel yang mengakibatkan lemahnya struktur disertai dengan penghilangan dinding sel dan pelepasan isi sel yang akhirnya akan mematikan maupun menghambat pertumbuhan sel bakteri tersebut.

Dalam formulasi sediaan ini, etanol digunakan sebagai pelarut, kosolven, sekaligus antimikroba dan pengontrol viskositas dengan konsentrasi 30% (Rowe, 2009). Etanol dipilih sebagai bahan pengekstrak karena etanol telah dikenal sebagai bahan yang mampu mengekstrak komponen yang memiliki aktivitas antimikroba. Etanol dapat melarutkan senyawa yang diinginkan seperti senyawa flavonoid (Departemen Kesehatan RI, 1986).

Berdasarkan penelitian Ehiowemwenguan (2014) yang menyatakan bahwa pada pelepah pisang yang segar mengandung beberapa metabolit sekunder seperti glikosida, saponin, minyak atsiri, alkaloid, flavonoid, dan tanin yang berpotensi sebagai Biosida (antimikroba). Biosida merupakan zat alami yang mengandung antimikroba yang di hasilkan oleh makhluk hidup. Berdasarkan penelitian Puspita (2017), Biosida ekstrak pelepah atau batang semu dari pisang kepok dapat menghambat terjadinya kontaminasi baik dari jamur maupun bakteri. Berdasarkan hasil perlakuan yang diamati bagian pohon pisang kepok yang paling efektif menghambat kontaminasi yaitu pada pelepah pisang kepok dibandingkan dengan akar pisang kepok. Konsentrasi yang berpotensi dalam aktivitas biosida yaitu pada konsentrasi 0,25% dari ekstrak pelepah pisang kepok.

Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui potensi biosida serbuk pelepah pisang kepok pada kultur in vitro benih beras hitam yang dapat dijadikan bahan pengganti penggunaan PPM pada pembuatan media kultur eksplan bagian tanaman lain secara in vitro.

2. METODE PENELITIAN

2.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium biologi, fakultas keguruan dan ilmu pendidikan biologi dan laboratorium farmasi, fakultas farmasi universitas muhammadiyah surakarta.

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret 2019 dengan jenis penelitian eksperimental. Populasi dari penelitian ini yaitu tanaman pisang kepok yang diperoleh dari wilayah Sragen, Jawa Tengah dan sampel dari penelitian ini adalah pelepah pisang kepok.

2.2. Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain *laminar air flow* (LAF), erlemeyer (*pyrex*) 2000 ml, beaker glass (*pyrex*) 200 ml, *handsprayer*, pinset, *hot plate* (*magnetic stirrer*), pengaduk kaca, gelas ukur, *autoclave*, timbangan digital, botol kultur, *micropipette*, tube, korek api, pembakar spirtus, pisau, ph indikator, *rotary evaporation vacum* dan *waterbath*, *cawan petridish*, *kertas penyaring*, *corong*, *pisau*, *spatula*.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain pelepah pisang kepok, beras hitam, tissue, kertas payung, aluminium foil, plastic wrap, aquades, alkohol 70%, methanol 100%, spirtus, media ms (*murashige dan skoog*), gula, agar-agar (*swalow*), detergen, ppm.

2.3. Pembuatan Biosida Serbuk Pelepah Pisang Kepok

Pembuatan ekstrak pelepah pisang kepok menggunakan pelarut etanol 70% dengan perbandingan 1:10. Pelepah pisang kepok dibersihkan dan dipotong halus, selanjutnya dikeringkan dengan cara dianginkan selama kurang lebih 4 hari, kemudian dihaluskan dengan blender. Selanjutnya di maserasi selama 3 hari dengan perbandingan pelepah pisang kepok dan pelarut etanol (1:10), lalu disaring menggunakan kertas saring selanjutnya di evaporasi dengan rotary evaporator sampai diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental didiamkan selama 1 hari di dalam freezer, kemudian ditimbang dengan perbandingan ekstrak pelepah pisang kepok dan laktosa (1:3) yang ditambahkan secara perlahan sambil diaduk sampai homogen.

2.4. Pengujian Biosida Serbuk Pelepah Pisang Kepok pada Media Kultur

Biosida serbuk pelepah pisang kepok diujikan dengan menambahkan pada media MS dengan konsentrasi yang berbeda. Sebagai parameter keberhasilan ditambahkan kontrol positif (penambahan PPM) dan kontrol negatif (tanpa penambahan PPM). Pengamatan dilakukan selama 10 hari dengan parameter kontaminasi pada media dan pertumbuhan eksplan benih biji beras hitam. Perlakuan berhasil jika dapat mencegah terjadinya kontaminasi pada media yang diakibatkan oleh jamur dan bakteri yang menghambat pertumbuhan tanaman. Keakuratan hasil uji diidentifikasi secara kualitatif dan kuantitatif dari setiap perlakuan.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Hasil dan Pembahasan Pengamatan Media yang Tidak Terkontaminasi

Tabel 3.1 Data pengamatan media yang tidak terkontaminasi pada pertumbuhan benih beras hitam.

Perlakuan	Pengulangan						Prosentase Media yang Tidak Terkontaminasi
	1	2	3	4	5	6	
K+	+	+	+	+	+	+	100 %
K-	-	-	-	-	-	-	0 %
K1	-	-	-	-	-	-	0 %
K2	-	+	-	-	-	-	16 %
K3	+	+	+	-	+	+	83 %
K4	+	+	+	+	+	+	100 %

Berdasarkan tabel 3.1 menunjukkan bahwa penggunaan biosida berpengaruh terhadap presentase terjadinya kontaminasi pada media kultur jaringan. Media kultur paling baik adalah media dengan penambahan biosida serbuk pelepah pisang kepok perlakuan K4 dengan konsentrasi 0,45 % karena persentase media yang tidak terkontaminasi hampir sama dengan

kontrol positif dan tinggi tanaman tidak terhambat. Persentase media yang tidak terkontaminasi sebesar 100%. Sedangkan persentase paling rendah pada penggunaan biosida yaitu biosida serbuk pelepah pisang kepok pada perlakuan K1 dengan konsentrasi 0,30 %. Pertumbuhan benih beras hitam pada perlakuan K1 dan K- memiliki presentase terjadinya kontaminasi yang sama yaitu 0%, yang membedakan antara K- dan K1 yaitu kondisi pertumbuhan yang berbeda. Pada K- pertumbuhan benih Beras hitam tidak terhambat, sedangkan pada K1 pertumbuhan benih terhambat dapat dilihat dari tinggi benih dan jumlah akar.

Tabel 3.2 Rata-rata kondisi pertumbuhan benih Beras hitam.

Perlakuan	Rata-rata Pertumbuhan Benih Beras hitam Selama 10 Hari				
	Jumlah Daun (Helai)	Jumlah Akar (buah)	Tinggi Batang (cm)	Tinggi Benih (cm)	Kondisi Perkecambahan
Kontrol +	2	5	6,08	11,63	Normal
Kontrol -	2	6	7,71	14,20	Normal
K1 (0,30 %)	2	3	2,80	6,11	Normal
K2 (0,35 %)	2	5	2,03	5,26	Normal
K3 (0,40 %)	2	4	4,75	9,21	Normal
K4 (0,45 %)	2	7	8,6	14,70	Normal

Berdasarkan table 3.2 menunjukkan bahwa konsentrasi yang memiliki aktivitas biosida serbuk pelepah pisang kepok paling baik yaitu K4 (0,45%) karena memiliki kondisi benih yang paling maksimal dengan 2 helai daun, 7 buah akar, tinggi rata-rata batang 8,6 cm, dan tinggi rata-rata benih 14,70 cm. Sedangkan konsentrasi yang memiliki aktivitas biosida paling rendah yaitu K1 yang dapat terlihat dari kondisi benih dan presentase terjadinya kontaminasi sebesar 0%. Pada konsentrasi K1 (0,30 %) benih memiliki 2 helai daun, 3 buah akar, Tinggi rata-rata batang 2,80 cm, dan tinggi rata-rata benih 6,11 cm. Kondisi pertumbuhan benih yang normal apabila ditandai dengan pertumbuhan akar, daun, dan batang. Akan tetapi pada konsentrasi K1 pertumbuhan benih dengan tinggi yang terhambat dan jumlah akar yang sedikit.

Pada media kontrol positif (dengan penambahan PPM) didapatkan hasil lebih baik daripada kontrol negatif (tanpa penambahan PPM). Persentase kontaminasi yaitu sebesar 100% dengan pertumbuhan benih yang memiliki 2 helai daun, 5 buah akar, rata-rata tinggi batang 6,08 cm, dan rata-rata tinggi benih 11,63 cm. Sedangkan kontrol negatif memiliki persentase kontaminasi sebesar 0% dengan pertumbuhan benih yang memiliki 2 helai daun, 6 buah akar, rata-rata tinggi batang 7,71 cm, dan rata-rata tinggi benih 14,20.

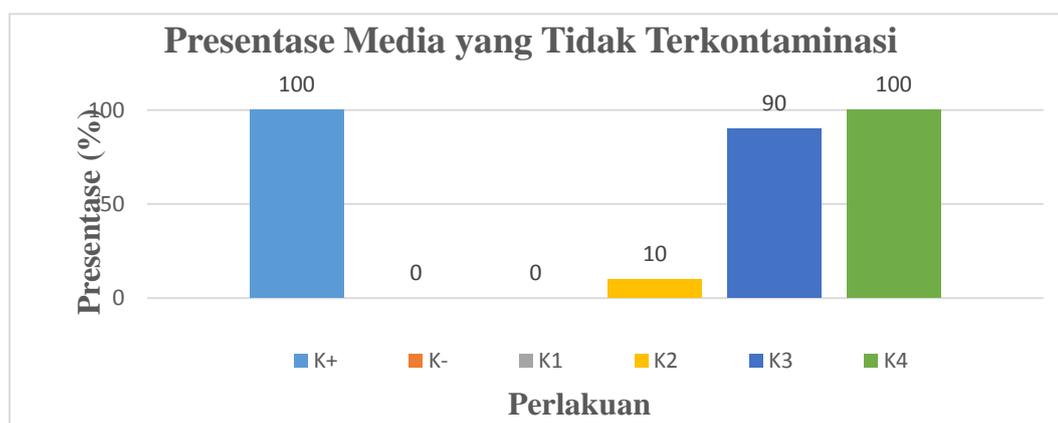
Kontrol negatif digunakan sebagai acuan dalam mengetahui perbandingan tiap perlakuan konsentrasi lainnya. Berdasarkan table 3.1 hasil pengamatan dapat diketahui persentase pada kontrol negatif lebih rendah dibandingkan kontrol positif, yaitu sebesar 0% dikarenakan semua media pada botol kultur mengalami kontaminasi. Kontaminasi yang terjadi pada media ditandai dengan perubahan warna menjadi kecoklatan dan terdapat hifa jamur putih atau hijau pada media kultur. Berdasarkan hasil penelitian, kontrol negatif kemungkinan lebih cepat terjadi kontaminasi dibanding kontrol positif dikarenakan media kontrol negatif tidak diberi tambahan PPM sebagai zat penghambat pertumbuhan bakteri dan jamur.

Berbanding terbalik dengan kontrol positif, dari hasil penelitian menunjukkan hasil persentase media yang tidak terkontaminasi sebesar 100%, hal ini menandakan bahwa pemberian PPM pada media kultur sangat mempengaruhi kondisi media jika dibandingkan dengan media tanpa pemberian PPM. Pada perlakuan ini media MS ditambahkan dengan 0,5 ml/liter media PPM yang berperan sebagai kontrol positif. Kegunaan penambahan bahan pada media kultur berupa PPM bertujuan untuk mengurangi kontaminasi media. PPM

merupakan salah satu bahan biosida cair termasuk golongan isotiazolon yang mampu menghambat mikroba dan jamur dalam media kultur jaringan tanaman (Sharaf Eldin & Weathers, 2006).

Dalam penelitian ini menggunakan biosida sebagai bahan pengganti fungsi PPM, penelitian ini menggunakan penambahan serbuk pelepah pisang kepek pada media dengan konsentrasi 0,30%, 0,35%, 0,40%, 0,45%. Potensi dari biosida serbuk pelepah pisang kepek dapat diketahui dengan melihat persentase dan kondisi pertumbuhan benih Beras hitam. Berdasarkan data dari tabel 3.1 menunjukkan bahwa pada perlakuan K4 (0,45%) merupakan konsentrasi yang memiliki persentase kontaminasi terbesar yaitu 100% dari beberapa pengulangan. Hasil perbandingan dari Kontrol positif dengan penambahan PPM dan K4 dengan penambahan biosida dapat terlihat jelas hasil yang didapatkan lebih maksimal pada perlakuan dengan konsentrasi K4 (0,45%). Sehingga biosida yang ideal dapat ditambahkan kedalam media kultur sebesar 0,45 % untuk meminimalisir terjadinya kontaminasi.

Media kultur jaringan yang terkendala oleh kematian akibat kontaminasi merupakan masalah pokok yang menyebabkan benih kultur maupun media menjadi berwarna coklat dan akhirnya benih terhambat dan mati. Pencoklatan pada media terjadi akibat oksidasi senyawa fenol menjadi quinon yang memproduksi pigmen berwarna coklat. Denish (2007) menyatakan bahwa senyawa fenol yang ada pada kultur jaringan akan bersifat toksik bagi sel apabila konsentrasi yang ada berlebihan, sehingga menghambat pertumbuhannya. Usaha untuk mengurangi kontaminasi dapat dilakukan dengan biosida yang memiliki kandungan senyawa metabolit dari tanaman. Sedangkan pada pelepah pisang kepek memiliki kandungan metabolit sekunder senyawa fenol seperti saponin dalam jumlah yang banyak, glikosida dan tanin (Soesanto dan Ruth, 2009). Biosida serbuk pelepah pisang kepek yang mengandung senyawa tanin mempunyai aktivitas antibakteri. Mekanisme senyawa tersebut dengan merusak membran sel bakteri, senyawa astringent tanin dapat menginduksi pembentukan ikatan senyawa kompleks terhadap enzim atau substrat mikroba dan pembentukan suatu ikatan kompleks tanin terhadap ion logam yang dapat menambah daya toksisitas tanin (Akiyama *et al.*, 2001).



Gambar 3.1 Histogram persentase media yang tidak kontaminasi



Gambar 3.2 Histogram tinggi batang dan jumlah akar tanaman beras hitam

Dalam penelitian ini terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi terjadinya kontaminasi pada eksplan. Eksplan atau bagian dari jaringan tanaman yang akan dikulturkan sering menjadi sumber utama kontaminasi. Eksplan yang digunakan kemungkinan besar dihindangi banyak jamur maupun bakteri yang tidak mati pada saat dilakukan sterilisasi. Terdapat banyak mikroorganisme yang ditemukan pada permukaan, celah kecil, dan diantara lapisan luar dari bagian yang bundar (Smith, 2013). Selain itu dapat diakibatkan oleh kondisi sterilitas ruangan yang menentukan terjadinya kontaminasi. Karena pada ruangan kerja yang tidak di sterilkan mengandung spora di udara yang dapat masuk ketika dalam pembuatan media. Untuk membuat ruangan yang aseptik dapat dilakukan pemanasan desinfektan atau lampu ultraviolet sehingga mikroba pengganggu dapat dimatikan sebelum melakukan pembuatan media.

Media merupakan salah satu faktor yang digunakan sebagai identifikasi, dapat dilihat pertumbuhan jamur tidak hanya berasal dari eksplan namun juga berasal dari media tumbuh. Kontaminasi disebabkan oleh mikroorganisme dapat terlihat jelas pada media dan eksplan yaitu ketika diselimuti oleh spora berbentuk kapas berwarna putih, sedangkan kontaminasi oleh bakteri, pada eksplan terlihat lendir berwarna putih hingga kekuningan sebagian lagi melekat pada media membentuk gumpalan yang basah (Prasetyo, 2008).



Gambar 3.3 Media yang terkontaminasi (a). Media perlakuan yang tidak terkontaminasi, (b). Media perlakuan terkontaminasi jamur, (c). Media perlakuan terkontaminasi bakteri

Penelitian ini menggunakan benih Beras hitam sebagai eksplan. Setelah penanaman selama 10 hari, maka dilakukan pembongkaran tanaman. Menurut Santoso (2003) proses pertumbuhan suatu tanaman dapat terlihat apabila eksplan mengalami fase pertumbuhan vegetatif akar, batang, dan daun yang cepat, yang akhirnya pertumbuhan tersebut menjadi lambat ketika dimulainya fase generatif. Pada pertumbuhan vegetatif ini diamati beberapa parameter. Pertama adalah tinggi tanaman. Tinggi tanaman dihitung dari pangkal batang hingga ruas batang terakhir sebelum bunga. Tinggi tanaman merupakan ukuran tanaman yang sering diamati sebagai indikator pertumbuhan maupun sebagai parameter untuk

mengukur pengaruh lingkungan atau perlakuan yang diterapkan karena tinggi tanaman merupakan ukuran pertumbuhan yang paling mudah dilihat (Hendaryono, 1994). Hasil rerata tinggi batang dan jumlah akar tanaman Beras hitam disajikan pada gambar 3.2.

Berdasarkan gambar 3.2 menunjukkan pertumbuhan benih Beras hitam pada semua jenis perlakuan nampak bervariasi. Perlakuan berupa kontrol positif dan kontrol negatif, dan ke empat konsentrasi lainnya dimana memiliki pengaruh terhadap pertumbuhan tinggi benih Beras hitam. Rerata pertumbuhan benih kondisi paling baik yaitu pada perlakuan Konsentrasi K4 (0,45%) paling tinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya dengan 2 helai daun, 7 buah akar, tinggi rata-rata batang 8,6 cm, dan tinggi rata-rata benih 14,70 cm. Sedangkan rerata pertumbuhan benih yang paling rendah yaitu K1 (0,30%) pertumbuhan benih memiliki 2 helai daun, 3 buah akar, tinggi rata-rata batang 2,80 cm, dan tinggi rata-rata benih 6,11 cm. Pada perlakuan konsentrasi K1(0,30%) memperlihatkan pertumbuhan terhambat dilihat dari tinggi batang dan akar tidak mengalami penambahan panjang yang signifikan seperti benih Beras hitam pada perlakuan lainnya. Hasil menunjukkan bahwa perlakuan paling baik yaitu pada perlakuan K4 (0,45%) karena rata-rata media yang tidak terkontaminasi sama dengan kontrol positif akan tetapi tinggi benih hampir sama dengan kontrol negatif, hanya saja media pada kontrol negatif semua terkontaminasi.

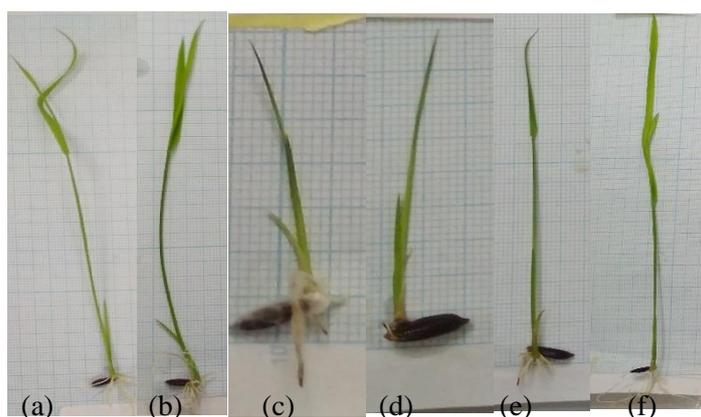
Sedangkan kontrol negatif memiliki pertumbuhan benih yaitu 2 helai daun, 6 buah akar, rata-rata tinggi batang 7,71 cm, dan rata-rata tinggi benih 14,20 cm. Kontrol positif memiliki pertumbuhan benih yaitu 2 helai daun, 5 buah akar, rata-rata tinggi batang 6,08 cm, dan rata-rata tinggi benih 11,63 cm. Pertumbuhan Perlakuan K2 (0,35%) pertumbuhan benih memiliki 2 helai daun, 5 buah akar, tinggi rata-rata batang 2,03 cm, dan tinggi rata-rata benih 5,26 cm. Perlakuan K3 (0,40%) pertumbuhan benih memiliki 2 helai daun, 4 buah akar, tinggi rata-rata batang 4,75 cm, dan tinggi rata-rata benih 9,21 cm.

Parameter yang kedua adalah jumlah akar. Pertumbuhan suatu tanaman dapat dilihat kondisi akar. Jika semakin sedikit jumlah akar, maka penyerapan nutrisi akan semakin sedikit, sehingga tanaman tidak mampu melakukan perkembangan tanpa mendapat sumber nutrisi dari akar sebagai organ yang mampu menyerap makanan dari media tanam. Akar yang baik memiliki jumlah yang banyak dan tidak busuk sehingga penyerapan makanan lebih optimal. Pada Gambar 3.2 Rerata jumlah akar terbanyak dimiliki oleh K4 (0,45%) yang memiliki 7 buah akar, sehingga pertumbuhan tanaman menjadi baik dan normal. Sedangkan rerata jumlah akar paling sedikit pada K1 (0,30%) hanya memiliki 3 buah akar dan terdapat beberapa akar yang mulai membusuk.

Hal ini sesuai dengan pendapat Purnobasuki (2011) pertumbuhan tanaman yang normal ialah tanaman yang memiliki perkembangan sistem perakaran yang baik terutama akar primer dan akar skunder. Perbedaan Pertumbuhan tanaman dapat disebabkan oleh media yang digunakan, konsentrasi penambahan ekstrak, kondisi eksplan, dan lingkungan tumbuh. Hal ini sependapat dengan Yuliarti (2010) bahwa konsentrasi agar-agar yang digunakan semua perlakuan dalam penelitian menggunakan media agar sebanyak 8 gram/1000 ml agar-agar dengan pH 5,6-5,8, karena pada penambahan agar dengan konsentrasi tinggi media akan keras dan sedikit mengandung air, sehingga difusi tanaman menjadi terhambat. pH menunjukkan faktor penting dalam kualitas media, ketika nilai pH rendah, jumlah kontaminasi juga rendah, namun jika pH netral atau lebih tinggi, maka level kontaminasi juga akan semakin tinggi (Araujo dan Bauab, 2012), tetapi setiap tanaman memerlukan pH yang berbeda untuk mencapai pertumbuhan yang optimum. Media dapat terlalu keras jika pH lebih dari 6,0, sedangkan agar-agar tidak memadat jika pH yang kurang dari 5,2. Untuk mencapai pH netral antara 5,6-5,8 pada media perlu di tambahkan KOH untuk menaikkan pH sehingga dapat mengurangi resiko kontaminasi yang diakibatkan pH terlalu asam.

Gambar 4.2 menunjukkan perbandingan rata-rata tinggi batang dan jumlah akar tanaman benih Beras hitam pada tiap perlakuan memiliki tinggi batang dan jumlah akar yang beragam.

Hal ini sesuai dengan pendapat Purnobasuki (2011) yang menyatakan bahwa setiap benih yang mengalami fase pertumbuhan vegetatif ataupun benih yang diujikan memiliki persentase pertumbuhan yang tidak selalu sama. Ada beberapa faktor yang menyebabkan benih tumbuh pada kondisi normal, abnormal, dan benih tidak tumbuh sama sekali. Faktor tersebut dikemukakan oleh Sutopo (2002), beberapa faktor yang mengakibatkan benih tidak tumbuh diantaranya benih yang dipilih adalah benih yang diambil dari buah yang telah jatuh hingga benih itu pecah dan keadaan kulit buah dalam keadaan pecah atau terbuka. Benih Beras hitam yang digunakan pada penelitian ini berasal dari masyarakat yang membudidayakan beras dengan kualitas yang bagus akan tetapi karena terpapar dengan udara sehingga benih mudah ditemplei oleh mikroorganismenya yang menyebabkan kontaminasi. Kebanyakan patogen yang terbawa oleh benih menjadi aktif setelah benih disebar atau disemaikan.



Gambar 4.4 Pertumbuhan Biji Kacang Hijau dengan Berbagai Perlakuan

- | | |
|-----------------|--------------------------------------|
| (a) Kontrol (+) | = Media MS dengan PPM |
| (b) Kontrol (-) | = Media MS tanpa PPM |
| (c) K1 | = Serbuk Pelepah Pisang Kepok 0,30 % |
| (d) K2 | = Serbuk Pelepah Pisang Kepok 0,35 % |
| (e) K3 | = Serbuk Pelepah Pisang Kepok 0,40 % |
| (f) K4 | = Serbuk Pelepah Pisang Kepok 0,45 % |

Parameter pertumbuhan vegetatif yang ketiga adalah rerata jumlah daun. Hasil analisis jumlah daun tanaman benih Beras hitam pada semua jenis perlakuan konsentrasi media tanam dengan penambahan biosida serbuk pelepah pisang kepok, media kontrol positif maupun kontrol negatif tidak berpengaruh terhadap jumlah daun tanaman benih Beras hitam, dimana rerata jumlah daun tiap perlakuan sama yaitu 2 helai.

Serangkaian pembahasan dari penelitian tentang aktivitas biosida serbuk pelepah pisang kepok pada pertumbuhan benih Beras hitam untuk mencegah kontaminasi pada kultur *in vitro* dengan parameter tinggi batang, tinggi benih, jumlah daun, jumlah akar, kondisi kecambah, dan persentase media yang tidak terkontaminasi. Simpulan pertama yang didapat dari pembahasan tersebut yaitu persentase media yang tidak terkontaminasi paling baik pada perlakuan K4 (0,45%) sebesar 100% dan pertumbuhan tinggi batang benih Beras hitam tidak berbeda jauh dari kontrol positif dan kontrol negatif (meskipun kontrol negatif mengalami kontaminasi).

4. SIMPULAN, SARAN, DAN REKOMENDASI

Konsentrasi serbuk pelepah pisang kepok 0,45% merupakan konsentrasi paling efektif dibanding konsentrasi yang lain, sehingga biosida serbuk pelepah pisang kepok memiliki potensi untuk pertumbuhan kultur in vitro benih beras hitam.

Saran dan Rekomendasi penelitian ini adalah menguji biosida serbuk pelepah pisang kepok dari daya sebar antifungi. Membuat perbandingan lebih rendah antara ekstrak kental pelepah pisang kepok dengan penambahan laktosanya. Mengujikan biosida serbuk pelepah pisang kepok pada eksplan lain baik bagian daun maupun biji jenis tanaman lain.

5. DAFTAR PUSTAKA

- Akiyama, H., K. Fujii., O. Yamasaki., T. Oono., dan K. Iwatsuki. 2001. "Antibacterial action of several tannin against *Staphylococcus aureus*." *Journal of Microbial Chemotherapy*. 48: 487-491.
- Anis, S., & Oetami, D. (2010). Pengaruh Sterilan Dan Waktu Perendaman Pada Eksplan Daun Kencur (*Kaemferia galanga* L) Untuk Meningkatkan Keberhasilan Kultur Kalus. *AGRITECH, XII*(1), 11
- Arajou and Bauab. 2012. *Microbial Quality of Medicinal Plant Material*. Brazil: Intech. 67-77.
- Depkes RI. (1989). *Materi Medika Indonesia Jilid V*. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan.
- Denish A. 2007. *Percobaan perbanyakan vegetatif kemaitan (Lunasia amara Blanco) melalui kultur jaringan* [skripsi]. Bogor : Fakultas Kehutanan. Institut Pertanian Bogor.
- Ehiowemwenguan, G., Emoghene, A., & Inetianbor, J. E. (2014). Antibacterial and Phytochemical Analisis of Banana Fruit Peel. *IQRS Journal of Pharmacy*, 4, 18-25.
- Hendaryono DPS, Wijayani A. 1994. *Teknik Kultur Jaringan : Pengenalan dan Petunjuk Perbanyakan Tanaman secara Vegetatif- Modern*. Yogyakarta : Kanisius.
- Nur, J., & dkk. (2012). *Bioaktivitas Getah Pelepah Pisang Klutuk Musa paradisiaca Var Sapientum Terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa Dan Escherichiacoli*. Makassar: Biologi FMIPA Universitas Hasanuddin.
- Prasetyo, B. (2008). *Aktivitas dan Uji Stabilitas Sediaan Gel Ekstrak Batang Pisang Ambon (Musa paradisiaca Var Sapientum) dalam Proses Persembuhan Luka pada Mencit (Mus musculus albicus)*. Bogor: Institut Pertanian Bandung.
- Purnobasuki, Hery. 2011. *Perkecambahan*. Jakarta: Grafindo
- Puspita, A. (2017). *Potensi Biosida Ekstrak Akar dan Batang Pisang Kepok Untuk Pertumbuhan Biji Kacang Hijau Secara In Vitro*. Skripsi Pendidikan Biologi UMS pp. 1-13.
- Rowe, R. C., Sheeskey, P. J., & Owen, S. C. (2009). *Handbook of Pharamaceutical Expiant Sixt Edition*. London: American Pharamaaceutical Association.
- Santoso U, Nursandi F. 2003. *Kultur Jaringan Tumbuhan*. Malang : UMM Press
- Sharaf, E. M., & Weathers, P. (2006). Movement and Containment of Microbial Contamination in The Nutrient Mist Bioreactor. *In Vitro Cell & Developmental Biology-Plant*, 42(6), 553-557.
- Smith, R. (2013). *Plant Tissue Culture Thrid Edition: Techniques and Experiments*. California: Elsevier Inc.
- Soesanto, L., & Ruth, F. R. (2009). Pengimbasan Ketahanan Bibit Pisang Ambon Kuning Terhadap Penyakit Layu Fusarium dengan Beberapa Jamur Antagonis. *Jurnal HPT Tropika*, 9(2), 130-140.
- Sutopo, Lita. 2002. *Teknologi Benih*. Jakarta: Raja Grafindo Persada.
- Yuliarti, N. (2010). *Kultur Jaringan Skala Rumah Tangga*. Yogyakarta: Lily Publiser.
- Zulkarnain. (2009). *Kultur Jaringan Tanaman*. Jakarta: Bumi Aksara.