



Optimalisasi Beberapa Metode Sterilisasi Pada Eksplan Biji Sorgum (*Sorghum bicolor L.*) Secara In Vitro

*Optimization of Several Sterilization Methods on Sorghum Seed Explants (*Sorghum bicolor L.*) In Vitro*

Author(s): Rudi Wardana*, Ni Putu Eka Sari Febyanti, Jumiatun, Tirto Wahyu Widodo

Jurusan Produksi Pertanian, Politeknik Negeri Jember

* Corresponding author: *rudi_wardana@polije.ac.id*

ABSTRAK

Sorgum merupakan tanaman serealia dengan potensi pemanfaatan seluruh bagian tanamannya. Tanaman sorgum di Indonesia sendiri masih terdesak oleh komoditas lain yang nilai ekonominya lebih tinggi. Faktor lain yang mempengaruhi produktivitas dalam budidaya sorgum yaitu ketersediaan benih unggul yang kurang. Teknik yang dapat mendukung dalam upaya pengembangan tersebut salah satunya yaitu kultur jaringan untuk menghasilkan tanaman unggul baru. Salah satu hal dalam keberhasilan kegiatan kultur jaringan yaitu pada proses sterilisasi eksplan. Pemilihan metode sterilisasi eksplan yang tepat dapat menggunakan jenis disinfektan serta lamanya waktu perendaman. Penelitian ini bertujuan menganalisis metode sterilisasi yang tepat dan pengaruhnya terhadap viabilitas pertumbuhan eksplan biji sorgum secara in vitro untuk menghasilkan varietas benih unggul. Penelitian ini menggunakan rancangan penelitian RAL Non Factorial dengan 6 taraf perlakuan S1: Alkohol 70% + Tembaga Oksida 2 g, S2: Alkohol 70% + Cloro 25% + Tembaga Oksida 2 g, S3: Alkohol 70% + Clorox 25% + NaOCl 3% + Tembaga Oksida 2 g, S4: Alkohol 70% + Tembaga Oksida 2 g, S5: Alkohol 70% + Cloro 25% + Tembaga Oksida 2 g, S6: Alkohol 70% + Clorox 25% + NaOCl 3% + Tembaga Oksida 2 g. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi Alkohol 70% + Cloro 25% + NaOCl 3% + Tembaga Oksida 2 g efektif mengurangi kontaminasi. Penggunaan Clorox dan NaOCl membantu menekan tingkat kontaminasi dengan persentase kontaminasi sebesar 6,67%.

Kata Kunci:

Disinfektan;
Infeksi;
Kultur
Jaringan;
Sorgum;
Sterilisasi

Keywords:

Disinfectant;
Infection;
Tissue Culture;
Sorghum;
Sterilization

ABSTRACT

Sorghum is a cereal crop with the potential for utilizing all parts of the plant. In Indonesia, sorghum cultivation is still overshadowed by other commodities with higher economic value. Another factor influencing productivity in sorghum cultivation is the limited availability of superior seeds. One technique that can support these development efforts is tissue culture to produce new superior plants. One crucial aspect for the success of tissue culture activities is the explant sterilization process. Selecting the appropriate explant sterilization method involves choosing the right type of disinfectant and the duration of immersion. This research aims to analyze the appropriate sterilization method and its effect on the in vitro growth viability of sorghum seed explants to produce superior seed varieties. This research used a Completely Randomized Design (CRD) Non-Factorial with 6 treatment levels: S1: 70% Alcohol + Copper Oxide 2 g, S2: 70% Alcohol + Cloro 25% + Copper Oxide 2 g, S3: 70% Alcohol + Clorox 25% + NaOCl 3% + Copper Oxide 2 g, S4: 70% Alcohol + Copper Oxide 2 g, S5: 70% Alcohol + Cloro 25% + Copper Oxide 2 g: 70% Alcohol + Clorox 25% + NaOCl 3% + Copper Oxide 2





g. The research results showed that the combination of 70% Alcohol + Clorox 25% + NaOCl 3% + Copper Oxide 2 g effectively reduced contamination. The use of Clorox and NaOCl helped suppress the contamination rate with a contamination percentage of 6.67%.

PENDAHULUAN

Teknik kultur jaringan atau kultur in vitro adalah salah satu upaya pengembangan Salah satu tanaman serealia yaitu sorgum merupakan jenis tanaman zero waste dimana pada semua bagian tanamannya dapat di manfaatkan. Di Indonesia, luas panen tanaman sorgum pada tahun 1990-2010 hanya sekitar 25.000 ha dan tersebar. Tanaman sorgum di Indonesia terdesak oleh komoditas yang bernilai ekonomi lebih tinggi, seperti kacang hijau, padi gogo, atau ubi kayu. Dalam hal tersebut dapat diupayakan perkembangan tanaman sorgum khususnya pada varietas benih unggul yang disenangi petani (Siantar et al., 2019). Teknik untuk mengembangkan sorgum sudah banyak dilakukan sebagai salah satu upaya untuk meningkatkan produktivitas dan kualitas serta menjamin ketersediaan bahan tanam yang bermutu. Teknik yang dapat mendukung dalam upaya pengembangan tersebut salah satunya yaitu kultur jaringan tanaman secara modern yang banyak dimanfaatkan untuk upaya perakitan dan perbaikan sifat pada tanaman dengan waktu yang relatif lebih cepat dibandingkan secara konvensional serta juga dapat menghasilkan tanaman unggul baru serta memungkinkan menghasilkan tanaman yang bebas virus (Arum et al., 2022). Namun dalam pengembangan sorgum dengan metode ini memiliki kendala yaitu pada eksplan tanaman sorgum yang mengeluarkan senyawa fenolik (browning) sehingga dapat

menghambat pertumbuhan dan perkembangan eksplan (Dreger et al., 2019). Maka diperlukan kajian terkait pengembangan sorgum pada metode kultur jaringan.

Salah satu hal dalam keberhasilan kegiatan kultur jaringan yaitu pada proses sterilisasi eksplan yang tepat dapat menggunakan jenis desinfektan serta lamanya waktu perendaman. Penggunaan desinfektan dapat menekan pertumbuhan mikroorganisme yang tidak diharapkan, seperti jamur, bakteri, dan virus (Asni Setiani et al., 2018). Bahan desinfektan yang dapat digunakan dalam kultur jaringan yaitu natrium hipoklorit (NaOCL), alcohol, bakterisida, dan fungisida. Namun disinfektan dan waktu perendaman memiliki pengaruh yang berbeda pada setiap spesies tanaman. Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan sterilisasi menggunakan alcohol 70%, NaOCl, Clorox, bakterisida, dan fungisida dengan waktu perendaman yang sama. Namun, pemberian konsentrasi yang berbeda pada saat perendaman untuk mendapatkan metode sterilisasi terbaik yang dapat menurunkan kontaminasi. Diharapkan kegiatan sterilisasi ini mampu mendapatkan metode sterilisasi eksplan biji sorgum yang efektif untuk pertumbuhan biji sorgum secara in vitro.

METODOLOGI

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni sampai Oktober 2024 di Laboratorium Kultur jaringan Politeknik Negeri Jember. Alat dan bahan yang



digunakan yaitu, Autoklaf, oven, LAF (Laminar air flow), lemari es, botol kultur, timbangan analitik, hot plate, petridish, magnetic stirrer, pinset, pipet ukur, Erlenmeyer, mikropipet, gelas ukur, gelas beker, Bunsen, korek api, panic, pH meter, handsprayer, cutter, gunting, mistar, alat tulis, dan kamera. Bahan yang digunakan: Biji sorgum varietas numbu, aquades steril, media Murashage and Skoog (MS), agar-agar, gula, sunlight, aquades, alkohol 70%, Clorox 25%, NaOCl 3%, alumunium foil, plastik wrap, kertas label, bakterisida dan fungisida dengan kandungan bahan aktif tembaga oksida. Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) terdiri

atas enam perlakuan dan diulang sebanyak lima kali. Perlakuan terdiri dari S1: Alkohol 70% + Tembaga Oksida 2 g; S2: Alkohol 70% + Cloro 25% + Tembaga Oksida 2 g; S3: Alkohol 70% + Clorox 25% + NaOCl 3% + Tembaga Oksida 2 g; S4: Alkohol 70% + Tembaga Oksida 2 g; S5: Alkohol 70% + Cloro 25% + Tembaga Oksida 2 g; S6: Alkohol 70% + Clorox 25% + NaOCl 3% + Tembaga Oksida 2 g. Pengamatan persentase kontaminasi, awal mucul tunas, tinggi tunas dilakukan pada umur 6 hari setelah tanam (HST). Pengamatan jumlah daun, panjang akar dilakukan pada akhir penelitian yaitu pada 6 minggu setelah tanam (MST).

Tabel Metode Sterilisasi

No	Perlakuan	Waktu Perendaman		
		Tembaga Oksida	Alkohol 70%	Clorox 25%
n				
1	S1	40 menit	1 menit	
2	S2	40 menit	1 menit	10 menit
3	S3	40 menit	1 menit	10 menit
4	S4	60 menit	1 menit	
5	S5	60 menit	1 menit	10 menit
6	S6	60 menit	1 menit	10 menit

Data hasil pengamatan, dianalisis dengan menggunakan ANOVA. Apabila hasil sidik ragam menunjukkan hasil yang berbeda nyata maka akan dilakukan

pengujian lebih lanjut. Uji lanjut yang digunakan adalah uji lanjut Beda Nyata Jujur (BNJ).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 1. Hasil Parameter Persentase Kontaminasi (%) Pada Sterilisasi Benih Sorgum (*Sorghum bicolor* L) Varietas Numbu.

Perlakuan	Ulangan					Jumlah sampel	Jumlah Kontaminasi	Persentase kontaminasi (%)
	1	2	3	4	5			
S1	3	3	3	3	3	15	10	67%
S2	3	3	3	3	3	15	5	33%
S3	3	3	3	3	3	15	2	13%
S4	3	3	3	3	3	15	6	40%
S5	3	3	3	3	3	15	3	20%



S6	3	3	3	3	3	15	1	7%
TOTAL	18	18	18	18	18	90	27	30%

Tabel 1. pada parameter persentase kontaminasi menunjukkan bahwa perlakuan S1 memiliki persentase

kontaminasi tertinggi yaitu 67% sedangkan pada perlakuan S6 memiliki persentase kontaminasi terendah sebesar 7%.

Tabel 2. Rangkuman Hasil Sidik Ragam Berbagai Parameter Sterilisasi Benih Sorgum (*Sorghum bicolor L*) Varietas Numbu.

Parameter	F-Hitung (Notasi)	F Tabel	
		5%	1%
Awal Muncul Tunas	3.2 (*)	2.62	3.90
Panjang Tunas	7.6 (**)	2.6	3.9
Jumlah Daun	2.9 (*)	2.6	3.9
Panjang Akar	8.3 (**)	2.6	3.9

Keterangan:

** : Berbeda Sangat Nyata

* : Berbeda Nyata

Pada tabel 2. menunjukkan bahwa parameter awal muncul tunas dan jumlah daun berbeda nyata. Parameter panjang tunas dan panjang akar berbeda sangat nyata. Perolehan data pengamatan pada setiap parameter bertujuan untuk melihat reaksi pengaruh sterilisasi terhadap benih sorgum dengan tingkat perlakuan yang berbeda. Efektivitas sterilisasi dipengaruhi oleh komposisi bahan kimia yang digunakan. NaOCl bersifat oksidatif kuat yang mampu membunuh patogen lebih efektif dibandingkan alkohol atau bahan tunggal lainnya. Menurut (Zahra et al.,

2022) penggunaan NaOCl 1% mampu menekan infeksi cendawan patogen pada benih jagung sebesar 84%, sedangkan alkohol 70% hanya sebesar 64%. Hal ini mengindikasikan bahwa NaOCl lebih efektif dibandingkan alkohol dalam menekan infeksi cendawan patogen. Hasil dari parameter awal muncul tunas dan jumlah daun berpengaruh nyata (*) sehingga kemudian diuji lanjut dengan BNJ 5%. Pada parameter panjang tunas dan panjang akar berpengaruh sangat nyata (**) sehingga kemudian diuji lanjut dengan BNJ 1%. Berikut hasil dari uji lanjut;

Tabel 3. Hasil Uji Lanjut BNJ pada Parameter Awal Muncul Tunas

Perlakuan	Hasil
S1	7.2 a
S2	10.6 bc
S3	9.2 b
S4	7.2 a
S5	11.4 c
S6	9.2 b

Keterangan : Hasil yang diikuti huruf yang tidak sama menyatakan berbeda nyata



Dari Tabel 3. dapat disimpulkan bahwa metode sterilisasi yang berbeda secara signifikan mempengaruhi kecepatan perkecambahan benih sorgum varietas Numbu secara *in vitro*. Perlakuan S1 dan S4 menunjukkan waktu muncul tunas

tercepat dan tidak berbeda nyata satu sama lain, mengindikasikan potensi efektivitasnya dalam mendukung perkecambahan awal. Sebaliknya, perlakuan S2 dan terutama S5 cenderung memperlambat munculnya tunas.

Tabel 4. Hasil Uji Lanjut BNJ pada Parameter Jumlah Daun

Perlakuan	Hasil
S1	7 c
S2	6 b
S3	6 bc
S4	6 c
S5	5 a
S6	6 b

Keterangan : Hasil yang diikuti huruf yang tidak sama menyatakan berbeda nyata

Pada Tabel 4. bahwa metode sterilisasi yang berbeda memberikan pengaruh signifikan terhadap jumlah daun yang terbentuk pada kecambah sorgum *in vitro*. Perlakuan S5 secara konsisten menghambat pembentukan daun, menghasilkan jumlah daun terendah secara signifikan dibandingkan perlakuan lainnya. Perlakuan S1 menunjukkan potensi terbaik dalam mendukung pembentukan daun terbanyak, meskipun tidak berbeda nyata dengan S4. Pemilihan metode sterilisasi memiliki implikasi

penting bagi perkembangan awal daun, dan efek suatu metode dapat bervariasi antar parameter pertumbuhan. Namun, penggunaan bahan kimia agresif seperti Clorox dan NaOCl dalam durasi yang lama dapat mengurangi viabilitas eksplan dan dapat menyebabkan penurunan pertumbuhan daun (Surya & Ismaini, 2021). Oleh karena itu, penting untuk menentukan konsentrasi dan durasi perendaman yang optimal untuk meminimalkan efek negatif tersebut (Yuliana et al., 2018).

Tabel 5. Hasil Uji Lanjut BNJ pada Parameter Panjang Tunas

Perlakuan	Hasil
S1	1.01 e
S2	0.46 ab
S3	0.67 bc
S4	1.11 e
S5	0.27 a
S6	0.71 cd

Keterangan : Hasil yang diikuti huruf yang tidak sama menyatakan berbeda nyata

Secara keseluruhan, perlakuan S5 menunjukkan dampak negatif yang konsisten terhadap semua parameter pertumbuhan awal yang diamati, mengindikasikan bahwa metode sterilisasi ini mungkin terlalu keras atau tidak sesuai

untuk benih sorgum varietas Numbu dalam kondisi *in vitro*. Sebaliknya, perlakuan S1 dan S4 cenderung memberikan hasil yang lebih baik dalam mendukung perkecambahan dan pertumbuhan awal tunas.



Tabel 6. Hasil Uji Lanjut BNJ pada Parameter Panjang Akar

Perlakuan	Hasil
S1	12.42 c
S2	9.56 ab
S3	9.5 ab
S4	12.48 c
S5	7.5 a
S6	8.74 ab

Keterangan : Hasil yang diikuti huruf yang tidak sama menyatakan berbeda nyata

Hasil uji lanjut BNJ menunjukkan bahwa metode sterilisasi yang berbeda secara signifikan mempengaruhi panjang akar kecambah sorgum *in vitro*. Perlakuan S5 secara konsisten menghambat pertumbuhan akar, menghasilkan akar terpendek secara signifikan. Perlakuan S2, S3, dan S6 menghasilkan panjang akar yang berada di antara kelompok ekstrem dan tidak berbeda nyata satu sama lain. Sementara itu, perlakuan S1 dan S4 secara signifikan mendukung pertumbuhan akar yang lebih panjang dibandingkan dengan perlakuan lainnya dan tidak berbeda nyata satu sama lain. Secara umum, terdapat hubungan antara persentase kontaminasi dan waktu muncul tunas. Perlakuan dengan tingkat kontaminasi yang lebih rendah cenderung menghasilkan kecepatan muncul tunas yang lebih lama, beberapa perlakuan dengan bahan kimia yang lebih kuat seperti Clorox dan NaOCl menunjukkan penundaan dalam proses germinasi meskipun mengurangi kontaminasi secara signifikan. Sifat oksidasi kuat dari Clorox juga dapat menyerang struktur biologis benih, terutama lapisan pelindungnya (testa) dan jaringan embrionik. Menurut (Cahyono & Riani Ningsih, 2023) menunjukkan bahwa penambahan bakterisida dan fungisida dimana terdapat bahan aktif pada bahan tersebut yang dapat membantu proses sterilisasi secara efektif serta mengurangi kontaminasi mikroorganisme, yang pada gilirannya mendukung pertumbuhan eksplan.

Sterilisasi dimaksudkan untuk mengupayakan agar eksplan dapat terhindar dari kontaminasi dan sterilisasi merupakan hal yang mutlak wajib dilakukan dalam runtutan kegiatan kultur *in vitro* (Shofiyani & Damajanti, 2015). Faktor Penyebab Kontaminasi dapat disebabkan oleh beberapa faktor seperti adanya mikroorganisme yang terdapat pada eksplan atau lingkungan. Prosedur sterilisasi yang tidak optimal, kondisi ruang kerja yang tidak steril, serta alat-alat yang kurang bersih juga berkontribusi terhadap munculnya kontaminasi pada kultur jaringan (Abdullah et al., 2022). Durasi perendaman yang terlalu singkat atau terlalu lama juga dapat memengaruhi efektivitas sterilisasi dan viabilitas benih.

Penyesuaian dalam prosedur sterilisasi, seperti peningkatan konsentrasi bahan sterilan atau perpanjangan waktu perendaman, mungkin diperlukan untuk mengatasi mikroorganisme yang lebih tahan (Surya & Ismaini, 2021). Menurut (Zahra et al., 2022) sterilisasi permukaan benih dengan NaOCl 1% selama 10 menit atau 5% selama 2 menit dapat mengurangi kontaminasi secara signifikan.

KESIMPULAN

Perlakuan beberapa metode sterilisasi pada biji sorgum berpengaruh nyata terhadap persentase kontaminasi, awal muncul tunas, panjang tunas, jumlah daun, dan panjang akar. Perlakuan yang sesuai pada metode sterilisasi biji sorgum yaitu perlakuan dengan Alkohol 70% + eksplan.



Clorox 25% + NaOCl 3% + Tembaga Oksida 2 g/peredaman 60 menit.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, A. R., Nurokhman, A., Rahayu, S. C., Metalisa, E., & Novitasari, L. (2022). Faktor Kontaminasi Kultur Jaringan Pada Eksplan Biji Duku (*Lansium domesticum* Corr.) Menggunakan Media Murashige And Skoog. *Integrasi Al-Qu'ran Dalam Pembelajaran Dan Penelitian Pendidikan Biologi*, 2011, 136.
- Arum, L. S., Safitri, L. W., Murtianingsih, H., & Hazmi, M. (2022). Efektifitas Madu Sebagai Substituen Media Induksi Kalus Sorgum (*Sorghum bicolor*) Secara In Vitro. *Paspalum: Jurnal Ilmiah Pertanian*, 10(1), 39. <https://doi.org/10.35138/paspalum.v1i1.377>
- Asni Setiani, N., Nurwinda, F., & Astriany, D. (2018). Pengaruh Desinfektan dan Lama Perendaman pada Sterilisasi Eksplan Daun Sukun (*Artocarpus altilis* (Parkinson ex. F.A Zorn) Fosberg). *Biotropika - Journal of Tropical Biology*, 6(3), 78–82. <https://doi.org/10.21776/ub.biotropika.a.2018.006.03.01>
- Cahyono, E. H., & Riani Ningsih. (2023). Pengembangan Metode Teknik Sterilisasi Eksplan Guna Meningkatkan Keberhasilan Kultur Jaringan Tanaman Stevia (Stevia Rebaudiana Bertoni). *Jurnal Pengembangan Potensi Laboratorium*, 2(2), 60–68. <https://doi.org/10.25047/plp.v2i2.3685>
- Dreger, M., Mól, R., Deja, A., Raj, E., Mańkowska, G., & Wielgus, K. (2019). Improved plant regeneration in callus cultures of *Sorghum bicolor* (L.) Moench. *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant*, 55(2), 190–198. <https://doi.org/10.1007/s11627-019-09963-9>
- Shofiyani, A., & Damajanti, N. (2015). Pengembangan Metode Sterilisasi pada Berbagai Eksplan Guna Meningkatkan Keberhasilan Kultur. *Agritech*, XVII(1), 55–64.
- Siantar, P. L., Pramono, E., Hadi, M. S., & ... (2019). Pengaruh Kombinasi Varietas Dalam Tumpangsari Sorgum-Kedelai Pada Pertumbuhan Dan Produktivitas Benih Sorgum Dan Kedelai *Jurnal Siliwangi Seri* ..., 5(1), 32–39. http://jurnal.unsil.ac.id/index.php/jssa_instek/article/view/737
- Surya, M. I., & Ismaini, L. (2021). Perbandingan Metode Sterilisasi Untuk Perbanyak Rubus rosifolius Secara in Vitro. *Al-Kauniyah: Jurnal Biologi*, 14(1), 127–137. <https://doi.org/10.15408/kauniyah.v1i1.16325>
- Yuliana, N., Studi, P., Biologi, M., & Alam, F. I. (2018). IN TUNAS TANAMAN SIRSAK (*Annona muricata L.* Var Ratu) Vitro Establishment Of Vegetatif Buds From Ratu.
- Zahra, F. N., Purnawati, A., & Nirwanto, H. (2022). Pengaruh jenis desinfektan terhadap infeksi cendawan pada benih jagung (*Zea mays*) pemasukan dari beberapa daerah. *Jurnal Agrienvi*, 16(1), 21–25.

