



## **EFEKTIVITAS FUNGISIDA DAN CUKA UNTUK STERILISASI EKSPLAN SIRIH HITAM (*Piper betle* L. var Nigra)**

**Paramita Cahyaningrum Kuswandi<sup>1\*</sup> & Fajar Prasetya<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Departemen Pendidikan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,  
Universitas Negeri Yogyakarta, Jalan Colombo Yogyakarta Nomor 1, Sleman,  
Daerah Istimewa Yogyakarta 55281, Indonesia

<sup>2</sup>Laboratorium Penelitian dan Pengembangan Farmaka Tropis, Fakultas Farmasi,  
Universitas Mulawarman, Jalan Penajam, Samarinda, Kalimantan Timur 75119,  
Indonesia

\*Email: [paramita@uny.ac.id](mailto:paramita@uny.ac.id)

Submit: 03-12-2023; Revised: 03-02-2024; Accepted: 12-03-2024; Published: 30-06-2024

**ABSTRAK:** Sirih hitam (*Piper betle* L. var. Nigra) dapat ditemukan di Indonesia dan terbukti mempunyai aktifitas antimikroba, sehingga berpotensi untuk digunakan sebagai tanaman obat. Kultur jaringan dapat digunakan untuk menghasilkan bibit yang sama dengan tanaman induk dalam jumlah banyak dan seragam, serta untuk menghasilkan metabolit sekunder dari kultur suspensi sel. Metode sterilisasi merupakan tahap awal yang sangat penting untuk pertumbuhan tanaman *in vitro*, sehingga optimasi sterilisasi menjadi tujuan dari penelitian ini. Bahan tanam yang digunakan adalah daun dan nodia sirih hitam. Optimasi metode sterilisasi dilakukan dengan menggunakan variasi bahan dan durasi waktu sterilisasi. Bahan-bahan yang digunakan adalah sabun cuci piring, bakterisida, fungisida, larutan natrium hipoklorit, cuka, alkohol, dan *Plant Preservative Mixture* (PPM). Media untuk eksplan daun adalah MS dengan 2,4-D dan untuk nodia menggunakan MS dengan BAP. Data jumlah eksplan yang kontaminasi dianalisis menggunakan program SPSS. Hasil *Analysis of Variance* (ANOVA) menunjukkan sterilisasi daun sirih hitam yang optimal adalah menggunakan larutan fungisida 30 menit, larutan natrium hipoklorit 5% selama 10 dan 15 menit, cuka 7 menit, alkohol 70% selama 10 menit, dan PPM selama 1 menit dengan hasil 22,1% eksplan yang terkontaminasi. Sterilisasi dengan menggosok nodia di bawah air mengalir dan penggunaan cuka untuk sterilisasi nodia sirih hitam menghasilkan persentase kontaminasi yang secara signifikan lebih rendah (73,3%,  $P < 0,05$ ) dibandingkan dengan metode dimana daun tidak dibersihkan dengan menggosok di bawah aliran air dan tidak menggunakan cuka.

**Kata Kunci:** Sirih Hitam, Kultur Jaringan, Daun, Nodia, Metode Sterilisasi.

**ABSTRACT:** Black betel (*Piper betle* L. var. Nigra) can be found in Indonesia and has been proven to have antimicrobial activity so it has the potential to be used as a medicinal plant. Tissue culture can be used to produce seeds that are the same as the parent plant in large, uniform quantities and to produce secondary metabolites from cell suspension cultures. The sterilization method is a very important initial stage for *in vitro* plant growth, so optimizing sterilization is the aim of this research. The planting materials used are black betel leaves and nodes. Optimization of the sterilization method was carried out using variations in materials and sterilization time duration. The ingredients used were dish soap, bactericide, fungicide, sodium hypochlorite solution, vinegar, alcohol, and *Plant Preservative Mixture* (PPM). The medium for leaf explants is MS with 2,4-D and for nodes was MS with BAP. Data on the number of contaminated explants were analyzed using the SPSS program. The results of analysis of variance (ANOVA) showed that the optimal sterilization of black betel leaves was using a fungicide solution for 30 minutes, 5% sodium hypochlorite solution for 10 and 15 minutes, vinegar for 7 minutes, 70% alcohol for 10 minutes and PPM for 1 minute with a 22.1% of explants contaminated. Sterilization by rubbing the nodes under running water and the use of vinegar to sterilize black betel nodia resulted in a significantly lower percentage of contamination (73.3%,  $P < 0.05$ ) compared to the method where the leaves were not cleaned by rubbing under running water and no vinegar.

**Keywords:** Black Betel, Tissue Culture, Leaves, Nodia, Sterilization Method.



**How to Cite:** Kuswandi, P. C., & Prasetya, F. (2024). Efektivitas Fungisida dan Cuka untuk Sterilisasi Eksplan Sirih Hitam (*Piper betle* L. var Nigra). *Bioscientist : Jurnal Ilmiah Biologi*, 12(1), 380-390. <https://doi.org/10.33394/bioscientist.v12i1.9901>



**Bioscientist : Jurnal Ilmiah Biologi** is Licensed Under a [CC BY-SA Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/).

## PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara terbesar kedua setelah Brasil dalam hal keanekaragaman hayati, terutama jenis tumbuhan. Di Indonesia terdapat sekitar 30.000 tanaman obat dan hanya sekitar 25% dari jumlah tersebut yang diketahui khasiat herbalnya. Bagian tanaman yang digunakan dapat berupa daun, batang, buah, umbi, dan rimpang atau akar (Nugroho & Ningsih, 2017). Berbagai jenis obat tradisional dari tumbuhan sebenarnya telah lama dimanfaatkan oleh penduduk Indonesia untuk mengobati berbagai penyakit, tetapi masih perlu diteliti dan dieksplorasi kandungan, serta pengembangan tanaman obat dalam skala besar (Nugroho, 2017).

Sirih merupakan tanaman yang telah banyak digunakan sebagai obat di Asia Tenggara. Di Indonesia terdapat beberapa jenis sirih dan berdasarkan warna daunnya, ada beberapa macam sirih, yaitu sirih hijau, sirih merah, sirih hitam, dan sirih kuning. Kandungan saponin dan tanin dari sirih bersifat antiseptik pada luka permukaan dan dapat berfungsi sebagai antiinflamasi. Daya antibakteri minyak atisiri daun sirih disebabkan kandungan senyawa fenol dan turunannya yang dapat mendenaturasi protein sel bakteri (Novita, 2016). Salah satu jenis sirih, yaitu sirih hitam telah terdeteksi mengandung golongan metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, saponin, tannin, karotenoid, steroid, dan tripernoid. Ekstrak dan fraksi daun sirih hitam terbukti aktif sebagai antimikroba (bakteri dan jamur) (Dwivedi & Tripathi, 2014; Sari *et al.*, 2020). Pengujian sediaan gel mulut berbahan aktif ekstrak daun sirih hitam Kalimantan menghasilkan efek penghambatan jamur *Candida albicans* dan bakteri *Streptococcus mutans*.

Pengembangan tanaman obat memerlukan bahan baku yang cukup banyak untuk memenuhi kebutuhan ekstrak. Salah satu hambatan pengembangan tanaman obat adalah dalam tahap budidaya. Hambatan tersebut disebabkan belum adanya teknologi perbanyakan yang optimal untuk berbagai tanaman obat, kurangnya pengetahuan petani mengenai kualitas yang diinginkan industri tanaman obat, kurangnya biaya dalam pengembangan agribisnis tanaman obat dan kurangnya perhatian industri tanaman obat mengenai potensi pengembangan bahan baku tanaman obat (Nugroho & Ningsih 2017). Sebagai contoh, pertumbuhan bibit hasil stek sirih hitam pada umur 3 bulan setelah tanam hanya menghasilkan 2 daun dengan ukuran kecil diameter 3 cm, sedangkan di hutan asal mampu mencapai 5-10 cm. Para petani/pembibit tanaman sirih hitam juga belum mengetahui faktor apa saja yang mempengaruhi pertumbuhan sirih, seperti kelembaban tanah, udara, dan suhu lingkungan, serta intensitas cahaya (Harjunowibowo *et al.*, 2022).

Teknik kultur jaringan dapat digunakan untuk menghasilkan bibit dengan sifat yang sama dengan tanaman induk dan dalam jumlah yang banyak dan [Uniform Resource Locator: https://e-journal.undikma.ac.id/index.php/bioscientist](https://e-journal.undikma.ac.id/index.php/bioscientist)



seragam. Untuk tanaman sirih hitam, tujuan tersebut dapat dilakukan dengan menggunakan nodia sebagai eksplan untuk organogenesis secara langsung. Kultur jaringan tanaman juga dapat menghasilkan senyawa kimia yang berpotensi obat dengan menggunakan teknik perbanyakan yang standar untuk menghasilkan kualitas yang konsisten, dapat menekan biaya produksi dengan mengurangi biaya lahan dan tenaga kerja. Untuk menghasilkan senyawa obat secara langsung dari tanaman sirih hitam dapat digunakan daun sirih hitam sebagai eksplan untuk penanaman *in vitro*.

Metode sterilisasi adalah tahap awal yang penting dalam teknik kultur jaringan, karena teknik ini memerlukan bahan tanam yang steril, sehingga dapat tumbuh dan berkembang di dalam kondisi *in vitro*. Optimasi sterilisasi dalam teknik kultur jaringan menjadi salah satu faktor penting dalam penentu keberhasilan teknik tersebut. Tingkat kontaminasi yang tinggi akan mengganggu pertumbuhan tanaman, dapat menyebabkan kematian dan dapat menyebabkan kerugian ekonomis (Putri *et al.*, 2017). Jika dalam jangka panjang tanaman sirih hitam akan dikembangkan untuk menyediakan bahan baku obat, maka perlu optimasi metode sterilisasi eksplan yang dapat menekan terjadinya kontaminasi. Sterilisasi eksplan daun sirih hitam dalam penelitian yang dilakukan oleh Junairiah *et al.* (2019), sudah digunakan tetapi masih terjadi kontaminasi lebih dari 90% (data tidak dipublikasikan), dan hanya menggunakan eksplan daun saja. Metode sterilisasi eksplan kultur jaringan sering berbeda di tiap laboratorium karena kondisi laboratorium yang berbeda. Oleh karena itu, tujuan penelitian ini adalah untuk melakukan optimasi metode sterilisasi kultur jaringan sirih hitam pada dua macam eksplan, yaitu daun dan nodia yang dapat digunakan oleh peneliti di berbagai laboratorium.

## **METODE**

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan variabel independen jenis eksplan (daun dan nodia) dan variasi metode sterilisasi (variasi bahan sterilan dan waktu sterilisasi), sedangkan variabel dependen adalah jumlah eksplan yang terkontaminasi pada semua jenis media. Tanaman induk eksplan berupa tanaman sirih hitam dari daerah Sleman, Yogyakarta, yang sudah dibudidayakan selama satu tahun. Sampel daun dan nodia diambil secara *random* dari populasi tanaman tersebut. Sampel daun dan nodia untuk eksplan *in vitro* adalah daun dan nodia ke 1-4 dari ujung tanaman sirih hitam.

Kultur jaringan sirih hitam pada penelitian ini menggunakan media *Murashige and Skoog* (MS) dengan tambahan zat pengatur tumbuh 2,4-*Dichlorophenoxyacetic acid* (2,4-D) dan 6-*Benzylaminopurine* (BAP). Dengan eksplan daun, digunakan empat macam media MS dengan 4 konsentrasi 2,4-*Dichlorophenoxyacetic acid* (2,4-D), yaitu 0 ppm, 2 ppm, 4 ppm, dan 8 ppm. Untuk tiap perlakuan ditanam 15 ulangan (cawan petri) dan setiap petri terdiri dari 2 eksplan potongan daun sirih hitam berukuran  $\pm 1$  cm x 0,5 cm. Pada penanaman eksplan nodia, digunakan media MS dengan lima variasi konsentrasi Benzyl Amino Purin (BAP), yaitu 0 ppm, 1 ppm, 2 ppm, 3 ppm, dan 4 ppm. Dengan 3



metode sterilisasi, terdapat 15 kombinasi perlakuan dan terdapat 3 ulangan untuk tiap perlakuan, sehingga terdapat 45 eksplan nodia.

Pengamatan dilakukan untuk jumlah eksplan yang terkontaminasi pada kedua jenis eksplan (daun dan nodia), pada semua perlakuan sterilisasi dan dilakukan seminggu sekali selama 8 minggu. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan program SPSS. Uji yang digunakan adalah uji T dan ANOVA (*Analysis of Variance*) dan dilanjutkan dengan *post hoc analysis* DMRT jika ada beda nyata. Analisis dilakukan untuk melihat pengaruh variasi metode sterilisasi terhadap kontaminasi pada semua jenis media untuk masing-masing jenis eksplan.

### **Sterilisasi Daun Sirih Hitam**

Sterilisasi eksplan sirih hitam dilakukan dengan menggunakan cairan pencuci piring (*Sunlight*<sup>®</sup>), bakterisida (*Agrept*), fungisida (*Dithane M-45*), larutan natrium hipoklorit (*Bayclin*<sup>®</sup>), alkohol, *Plant Preservative Mixture* (PPM), dan cuka dapur (*Dixi*). Akuades steril digunakan untuk membilas eksplan setelah tiap tahap sterilisasi. Sterilisasi dengan fungisida dan bakterisida dilakukan menggunakan *shaker*, kemudian sterilisasi dengan larutan natrium hipoklorit, alkohol, PPM, dan cuka dilakukan secara steril di dalam almari *Laminar Air Flow*. Tabel 1 menunjukkan perbedaan metode sterilisasi daun sirih hitam. Perbedaan metode sterilisasi 1 dan 2 untuk eksplan daun adalah lama penggojokan dalam fungisida. Metode 2 menggunakan waktu yang lebih singkat untuk sterilisasi menggunakan fungisida.

**Tabel 1. Perbedaan Metode Sterilisasi pada Eksplan Daun Sirih Hitam.**

Tahap Sterilisasi	Perlakuan Sterilisasi	Metode Sterilisasi 1	Metode Sterilisasi 2
1	Larutan sabun cuci piring	5 menit	5 menit
2	Bakterisida 8g/L	30 menit	30 menit
3	Fungisida 8g/L	60 menit	30 menit
4	Larutan natrium hipoklorit 5%	10 menit	10 menit
5	Larutan natrium hipoklorit 20%	15 menit	15 menit
6	Cuka 2 %	5 menit	5 menit
7	Alkohol 70%	10 menit	10 menit
8	<i>Plant Preservative Mixture</i> (PPM) 0.05%	1 menit	1 menit

### **Sterilisasi Nodia Sirih Hitam**

Eksplan lain yang juga digunakan dalam kultur jaringan tanaman sirih hitam adalah nodia. Nodia digunakan untuk induksi tunas melalui *direct organogenesis*. Optimasi metode sterilisasi dilakukan dengan memodifikasi metode yang digunakan dalam kultur jaringan nodia durian (Sugiyarto & Kuswandi, 2013). Digunakan tiga variasi metode sterilisasi dalam penelitian ini (Tabel 2). Tahapan sterilisasi nodia sama dengan metode sterilisasi daun, yaitu dengan pembilasan setelah tiap tahap dan penggunaan bakterisida dan fungisida, tetapi terdapat variasi waktu untuk fungisida dan penggunaan cuka pada metode 2.

**Tabel 2. Perbedaan Metode Sterilisasi pada Eksplan Nodia Sirih Hitam.**

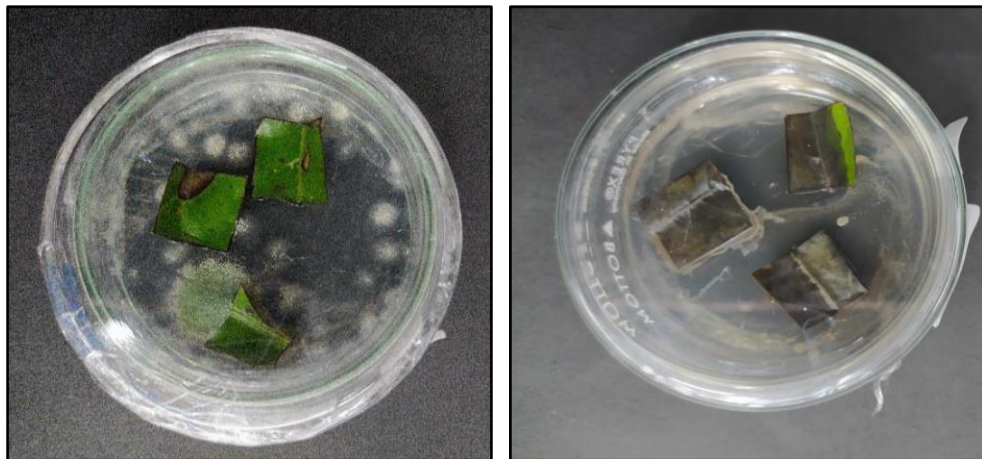
Tahap Sterilisasi	Perlakuan Sterilisasi	Metode Sterilisasi 1	Metode Sterilisasi 2	Metode Sterilisasi 3
1	Larutan sabun cuci piring	15 menit	15 menit	15 menit
2	Bakterisida 8g/L	30 menit	30 menit	30 menit
3	Fungisida 8g/L	75 menit	60 menit	75 menit
4	Larutan natrium hipoklorit 10%	10 menit	10 menit	17 menit
5	Larutan natrium hipoklorit 20%	15 menit	15 menit	18 menit
6	Cuka 2 %	-	5 menit	-
7	Alkohol 70%	10 menit	10 menit	10 menit
8	<i>Plant Preservative Mixture</i> (PPM) 0.05%	3 menit	3 menit	3 menit

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Metode sterilisasi eksplan merupakan tahap yang penting dalam penelitian kultur jaringan tumbuhan, karena menentukan keberhasilan tahap awal penanaman. Sterilisasi yang tidak tepat dapat menyebabkan kontaminasi oleh bakteri dan jamur yang mudah sekali tumbuh di media kultur. Untuk kultur jaringan sirih hitam, di laboratorium kami telah dilakukan beberapa metode sterilisasi, telah digunakan dalam penelitian pendahuluan dengan mengadopsi metode dari Junairiah *et al.* (2019), dan Zuraidassanaaz (2016), tetapi menghasilkan kontaminasi pada lebih dari 90% eksplan (data tidak dipublikasikan). Oleh karena itu, optimasi sterilisasi dari eksplan sirih hitam perlu untuk dilakukan.

### Sterilisasi Eksplan Daun

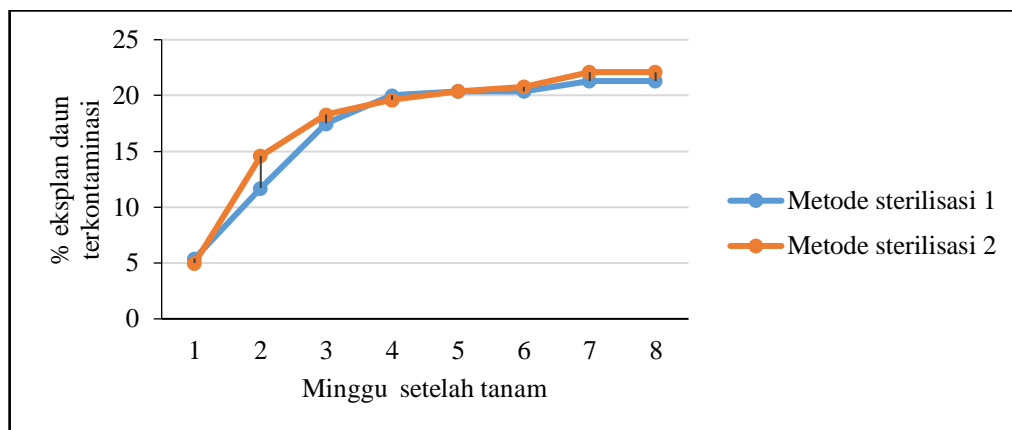
Eksplan daun sirih yang diperoleh dari tanaman yang tumbuh di luar rumah kaca menyebabkan kemungkinan peluang terjadinya kontaminasi cukup tinggi. Dari hasil penanaman *in vitro* daun sirih hitam, terlihat kontaminasi, baik oleh jamur maupun bakteri (Gambar 1).



**Gambar 1. Kontaminasi Jamur (Kiri) dan Bakteri (Kanan) pada Eksplan Daun Sirih Hitam.**

Penggunaan fungisida untuk menekan pertumbuhan jamur telah dilakukan pada penelitian lain dengan eksplan daun. Dua metode sterilisasi daun sirih hitam digunakan dalam penelitian ini dengan membedakan lama penggojokan dalam larutan fungisida (Tabel 1). Hasil penelitian menunjukkan bahwa persentase

eksplan yang terkontaminasi pada semua perlakuan media mulai tampak pada satu minggu setelah tanam dan mengalami peningkatan di minggu kedua sampai minggu ke-8 setelah tanam (Gambar 2). Pada minggu ke-8, persentase kontaminasi pada eksplan daun mencapai 21,3% pada metode 1 (60 menit fungisida) dan 22,1% pada metode 2 (30 menit fungisida).



**Gambar 2. Persentase Eksplan yang Terkontaminasi Menggunakan 2 Metode Sterilisasi pada Eksplan Daun Sirih Hitam di Semua Perlakuan Media Selama 8 Minggu.**

Eksplan daun yang berasal dari tanaman yang tumbuh di tempat terbuka dan tidak diberikan perawatan dengan fungisida di tempat tumbuh menyebabkan terbawanya kontaminan saat ditanam secara *in vitro*. Sterilisasi menggunakan fungisida Dithane<sup>®</sup> juga telah dilakukan untuk penanaman *in vitro* tanaman lain. Salah satu contoh adalah pada kultur jaringan tanaman Stevia, fungisida tersebut mampu menghasilkan 50% eksplan yang tidak terkontaminasi dengan konsentrasi fungisida 2,5gr/L. Fungisida ini mengandung bahan aktif Mencozeb yang mampu menghambat enzim patogen pada tanaman dan termasuk fungisida kontak yang mampu mengurangi infeksi jamur pada permukaan tanaman (Efendi *et al.*, 2023; Rianti *et al.*, 2020; Sari *et al.*, 2014).

Cuka ditambahkan pada kedua metode sterilisasi daun sirih hitam. Cuka dapur atau asam asetat bersifat antifungi dan dapat mengurangi infeksi jamur pada hewan (Pratiwi *et al.*, 2022) atau pada tumbuhan (Rogawansamy *et al.*, 2015). Cuka ditambahkan ke dalam metode sterilisasi daun untuk mengurangi durasi waktu penggojokan dengan fungisida. Penggojokan eksplan dalam larutan fungisida yang lama dapat merusak eksplan dan membuat teknik kultur jaringan menjadi tidak efisien. Penggunaan *Plant Preservative Mixture*<sup>™</sup> untuk sterilisasi adalah untuk menekan kontaminasi oleh bakteri, sehingga tidak perlu menggunakan bakterisida yang dapat memakan waktu yang lama, seperti dengan penggunaan fungisida.

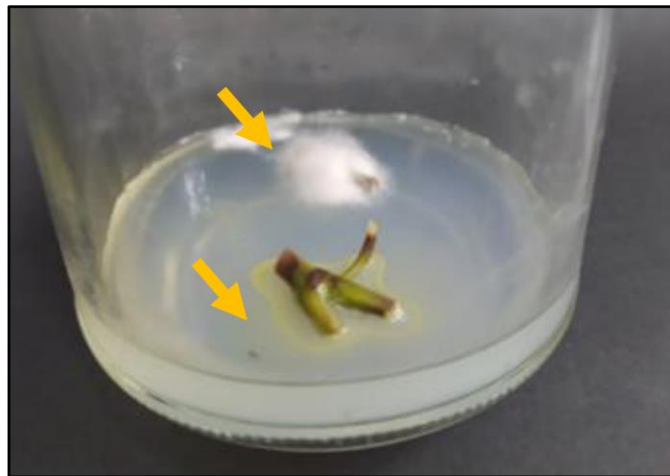
Uji statistik menggunakan uji T menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan antar kedua metode sterilisasi terhadap jumlah eksplan daun yang terkontaminasi pada minggu ke-8 ( $P > 0,05$ ). Hasil uji ANOVA untuk kombinasi semua perlakuan metode sterilisasi dan macam media selama 8 minggu juga menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan ( $P > 0,05$ ). Hal ini menunjukkan bahwa penggojokan eksplan daun di larutan fungisida selama 60

menit menjadi tidak efisien untuk dilakukan, karena penggunaan 30 menit sudah memberikan efek yang sama dengan tahapan sterilisasi yang digunakan dalam penelitian ini.

Fungisida Dithane adalah fungisida kontak, sehingga bekerja saat dalam kontak dengan permukaan eksplan saat sterilisasi. Fungisida tersebut mengandung bahan aktif Mancozeb yang digunakan untuk menghambat enzim-enzim patogen seperti jamur, sehingga dapat mengurangi pertumbuhan jamur pada permukaan tanaman (Damayanti *et al.*, 2021). Fungisida kontak bekerja dengan mencegah terjadinya perkecambahan spora jamur pada permukaan tanaman, sehingga bersifat sebagai pelindung dan lebih efektif jika digunakan sebelum tanaman terserang penyakit (Budiyanto, 2018). Oleh karena itu, pada penelitian ini, lama perendaman dalam fungisida Dithane selama 30 menit untuk eksplan daun cukup efektif untuk melindungi eksplan dari kontaminasi jamur. Perendaman yang lebih lama tidak terbukti efektif karena dapat disebabkan fungisida yang sudah cukup mengenai seluruh permukaan eksplan.

### **Sterilisasi Eksplan Nodia**

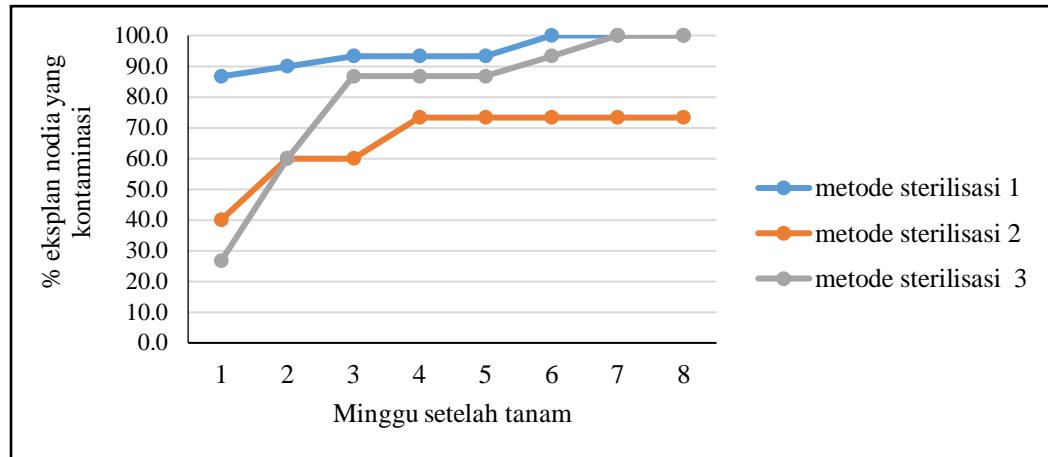
Nodia tanaman sirih hitam digunakan sebagai eksplan dengan tujuan perbanyak klonal. Induksi tunas dari nodia dapat menghasilkan bibit dalam jumlah banyak dan seragam. Kultur *in vitro* nodia sirih hitam juga menghasilkan kontaminasi dari bakteri dan jamur (Gambar 3).



**Gambar 3. Kontaminasi Jamur (Eksplan Atas) dan Bakteri (Eksplan Bawah) pada Eksplan Nodia Sirih Hitam.**

Metode sterilisasi yang digunakan untuk eksplan nodia menggunakan bahan dan tahapan yang hampir sama dengan sterilisasi daun. Pada tahap pertama terdapat perlakuan menggosok nodia sirih hitam. Perlakuan menggosok permukaan nodia di bawah air mengalir bertujuan untuk membersihkan kotoran-kotoran yg menempel pada permukaan batang sirih hitam. Untuk tahapan selanjutnya terdapat beberapa perbedaan konsentrasi dan/atau lama waktu di tiap tahapan sterilisasi. Dari ketiga metode sterilisasi yang digunakan, pada minggu pertama setelah tanam terdapat eksplan yang terkontaminasi dan persentase kontaminasi meningkat hingga mencapai 100% pada minggu ke-8 untuk metode 1 dan metode 3 (Gambar 4). Dari ketiga metode sterilisasi nodia, terlihat bahwa

metode sterilisasi 2 menghasilkan persentase kontaminasi yang lebih rendah pada minggu ke-8 dibandingkan dua metode yang lain.



**Gambar 4. Persentase Eksplan yang Terkontaminasi pada 3 Metode Sterilisasi Eksplan Nodia Sirih Hitam di Semua Perlakuan Media Selama 8 Minggu.**

Uji ANOVA data jumlah eksplan nodia yang terkontaminasi pada semua media dan selama delapan minggu menunjukkan perbedaan yang signifikan antar ketiga perlakuan ( $P < 0,05$ ). Uji lanjut menggunakan DMRT menunjukkan bahwa perbedaan yang signifikan adalah antara ketiga metode sterilisasi (Tabel 3) dan metode sterilisasi 2 menghasilkan jumlah eksplan nodia yang terkontaminasi.

**Tabel 3. Hasil Uji DMRT untuk Jumlah Eksplan Nodia yang Terkontaminasi.**

Metode Sterilisasi	Rerata Eksplan Nodia Terkontaminasi
Metode 1	2.8 c
Metode 2	1.925 a
Metode 3	2.3750 b

Pada metode sterilisasi 2 eksplan nodia, digunakan cuka sebagai salah satu bahan sterilan. Cuka dapur mengandung asam asetat yang dapat mengurangi pertumbuhan mikroorganisme bakteri, fungi, dan virus. Asam asetat dalam cuka dapur merusak dinding sel mikroorganisme dan terdapat polifenol yang berperan dalam merusak sel, serta menghambat aktifitas intraseluler enzim pada bakteri (Zinn & Bockmühl, 2020). Metode sterilisasi 2 pada eksplan nodia menyebabkan persentase kontaminasi lebih rendah terutama pada minggu kedua dan ketiga setelah tanam meskipun lama waktu perendaman dalam fungisida lebih singkat dibandingkan metode 1 dan 3. Pada metode sterilisasi 2 untuk eksplan nodia juga terdapat perlakuan awal dengan menggosok permukaan nodia di bawah air yang mengalir. Perlakuan tersebut dapat membantu mengurangi kontaminan pada permukaan nodia, karena struktur nodia sirih yang memiliki trikoma pada permukaannya (Kuswandi *et al.*, 2023) dapat menjadi tempat menempel kontaminan, seperti spora jamur atau bakteri. Perendaman dengan cuka dan menggosok permukaan nodia lebih efektif dibanding dengan meningkatkan lama waktu perendaman dalam fungisida. Hal ini terlihat pada waktu perendaman dalam fungisida yang lebih singkat pada metode sterilisasi 2 dibandingkan metode





1 dan 3, tetapi mampu menghasilkan persentase eksplan terkontaminasi yang lebih rendah.

Metode sterilisasi pada eksplan daun dan nodia menghasilkan persentase eksplan yang terkontaminasi bervariasi dari 20-100% pada minggu ke-8 setelah tanam. Persentase kontaminasi yang rendah diperoleh pada kedua metode sterilisasi pada daun (21,3% dan 22,1% pada minggu ke-8) dan persentase kontaminasi tertinggi dengan metode 1 pada eksplan nodia (100% pada minggu ke-6).

Tingginya kontaminasi eksplan nodia dibandingkan daun menunjukkan bahwa nodia sirih hitam kemungkinan mengandung kontaminan yang lebih banyak atau lebih sulit dihilangkan akibat struktur organ yang berbeda. Adanya lipatan atau lekukan pada tunas yang berada pada nodus juga menyebabkan sulitnya sterilisasi pada bagian organ tersebut. Perlakuan penggosokan menggunakan sikat gigi halus dan cuka juga belum mampu menurunkan persentase kontaminasi eksplan nodia di bawah 50% pada minggu ke-8 setelah tanam. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai metode sterilisasi yang lebih tepat dan efisien untuk kultur jaringan nodia sirih hitam.

## **SIMPULAN**

Dari kedua metode sterilisasi daun sirih hitam, persentase eksplan terkontaminasi adalah 21,3% dan 22,1% pada minggu ke-8 yang tidak berbeda nyata secara signifikan ( $P > 0,05$ ). Sterilisasi daun sirih hitam yang optimal adalah menggunakan larutan 15 menit larutan sabun cuci piring, 30 menit 8g/L bakterisida, 30 menit 8g/L fungisida, 10 menit larutan natrium hipoklorit 5%, 15 menit larutan natrium hipoklorit 20%, 7 menit 2% cuka, 10 menit alkohol 70%, dan 1 menit 0,05% PPM dengan pembilasan menggunakan air steril di antara masing-masing tahapan.

Untuk nodia sirih hitam, metode sterilisasi 2 (15 menit larutan sabun cuci piring, 30 menit 8g/L bakterisida, 60 menit 8g/L fungisida, 10 menit larutan natrium hipoklorit 10%, 15 menit larutan natrium hipoklorit 20%, 5 menit 2% cuka, 10 menit alkohol 70%, dan 3 menit 0,05 % PPM) lebih efektif dalam menekan kontaminasi. Metode tersebut mampu menghasilkan persentase kontaminasi yang secara signifikan lebih rendah (73,3%,  $P < 0,05$ ) pada minggu ke-8 setelah tanam dibanding dengan metode 1 dan 3 (100% kontaminasi).

## **SARAN**

Untuk penelitian selanjutnya, perlu dilakukan investigasi lebih lanjut mengenai teknik sterilisasi yang lebih efektif untuk kultur jaringan nodia sirih hitam, sehingga dapat menurunkan persentase kontaminasi di bawah 50%. Pengamatan struktur anatomi daun dan nodia sirih hitam juga dapat membantu untuk mencari metode sterilisasi yang lebih efektif dan efisien.

## **UCAPAN TERIMA KASIH**

Kami mengucapkan terima kasih kepada Lenny M. Permatasari dan Halida Zavira atas bantuan teknis di laboratorium, serta Rr. Athiya Mila Shabiha



atas bantuannya dalam analisis statistik penelitian ini. Penelitian ini didanai oleh Pendanaan Riset Inovatif-Produktif (RISPRO) LPDP tahun 2019.

## DAFTAR RUJUKAN

- Budiyanto, A. K. (2018). *Membuat Fungisida Organik*. Malang: UMM Press.
- Damayanti, L., Anggraini, N. F., Lestari, N. S., Sunarti, R. N., & Apriani, I. (2021). Optimasi Teknik Sterilisasi Fungisida Benstar dan Dithane M-45 terhadap Kultur Jaringan Tanaman Akasia (*Acacia crassicarpa*) secara In Vitro. In *Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi Terapan* (pp. 137-146). Palembang, Indonesia: Universitas Islam Negeri Raden Fatah.
- Dwivedi, V., & Tripathi, S. (2014). Review Study on Potential Activity of *Piper betle*. *Pharmacognosy : Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 3(4), 93-98.
- Efendi, I., Safnowandi, S., Fajri, S. R., Sukri, A., & Armiani, S. (2023). Pelatihan Budidaya Jamur Tiram di Desa Rempok Kecamatan Gangga Kabupaten Lombok Utara. *Sasambo: Jurnal Abdimas (Journal of Community Service)*, 5(4), 807-817. <https://doi.org/10.36312/sasambo.v5i4.1541>
- Harjunowibowo, D., Haryani, F. F., & Rinanto, Y. (2022). Penerapan Teknologi *Greenhouse* pada Petani Sirih Hitam di Wonosobo. *Bhinneka : Jurnal Pengabdian Masyarakat*, 1(2), 81-87. <https://doi.org/10.58266/jpmb.v1i2.14>
- Junairiah., Amalia, N. S., Manuhara, Y. S. W., Ni'matuzahroh., & Sulistyorini, L. (2019). Pengaruh Variasi Zat Pengatur Tumbuh IAA, BAP, Kinetin terhadap Metabolit Sekunder Kalus Sirih Hitam (*Piper betle* L. Var *Nigra*). *Jurnal Kimia Riset*, 4(2), 121-132. <http://dx.doi.org/10.20473/jkr.v4i2.16898>
- Kuswandi, P. C., Ariyanti, N. A., Yunus, M. F., & Amri, C. N. A. C. (2023). Anatomical, Morphological and Physiological Leaf Characters of Black Betel (*Piper betle* L. var. *Nigra*) in Varying Natural and Man-Made Habitats. *Biodiversitas : Journal of Biological Diversity*, 24(6), 3236-3244. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d240618>
- Novita, W. (2016). Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun Sirih (*Piper Betle* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus Mutans* secara *In Vitro*. *Jambi Medical Journal : Jurnal Kedokteran dan Kesehatan*, 4(2), 140-155. <https://doi.org/10.22437/jmj.v4i2.3579>
- Nugroho, A. W. (2017). Konservasi Keanekaragaman Hayati melalui Tanaman Obat dalam Hutan di Indonesia dengan Teknologi Farmasi: Potensi Sains dan Tantangan. *Jurnal Kesehatan*, 1(7), 377-383. <https://doi.org/10.25026/jsk.v1i7.71>
- Nugroho, R. A., & Ningsih, E. A. (2017). Produksi Tanaman Obat. In Salim Z., & Munadi, E. (Ed.). *Info Komoditi Tanaman Obat* (pp. 9-20). Jakarta: Balai Pengkajian dan Pengembangan Perdagangan Kementerian Perdagangan Republik Indonesia
- Pratiwi, R. H., Yulistiana., & Astiningrum, R. D. (2022). Analysis of Dermatophytosis Therapy at Persian Cat After Using Apple Vinegar



- (*Malus domestica*). *Media Kedokteran Hewan*, 33(1), 35-47. <https://doi.org/10.20473/mkh.v33i1.2022.35-47>
- Putri, A. I., Herawan, T., Prastyono, P., & Haryjanto, L. (2017). Pengaruh Teknik Sterilisasi Explan terhadap Tingkat Perolehan Kultur Jaringan Aksenik Ramin (*Gonystylus bancanus*). *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan*, 11(2), 131-138. <https://doi.org/10.20886/jpth.2017.11.2.131-138>
- Rianti, D. E., Apriani, I., & Sunarti, R. N. (2020). Pengaruh Pemberian Fungisida Mancozeb terhadap Teknik Sterilisasi Tanaman Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) secara In Vitro. In *Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi Terapan* (pp. 416-427). Palembang, Indonesia: Universitas Islam Negeri Raden Fatah.
- Rogawansamy, S., Gaskin, S., Taylor, M., & Pisaniello, D. (2015). An Evaluation of Antifungal Agents for the Treatment of Fungal Contamination in Indoor Air Environments. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 12(6), 6319-6332. <https://doi.org/10.3390/ijerph120606319>
- Sari, E. F., Prayogo, G. P., Loo, Y. T., Zhang, P., McCullough, M. J., & Cirillo, N. (2020). Distinct Phenolic, Alkaloid and Antioxidant Profile in Betel Quids from Four Regions of Indonesia. *Scientific Reports*, 10(1), 1-12. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-73337-0>
- Sari, E. M., Suwirman., & Noli, Z. A. (2014). Pengaruh Penggunaan Fungisida (Dithane M-45) terhadap Pertumbuhan Tanaman Jagung (*Zea mays L.*) dan Kepadatan Spora Fungi Mikoriza Arbuskula (FMA). *Jurnal Biologi Universitas Andalas*, 3(3), 188-194. <https://doi.org/10.25077/jbioua.3.3.%25p.2014>
- Sugiyarto, L., & Kuswandi, P. C. (2013). Eksplorasi Metode Sterilisasi dan Macam Media untuk Perbanyak Durian (*Durio zibethinus L.*) secara In Vitro. *Jurnal Sains Dasar*, 2(1), 20-24. <http://dx.doi.org/10.21831/jsd.v2i1.2374>
- Zinn, M. K., & Bockmühl, D. (2020). Did Granny Know Best? Evaluating the Antibacterial, Antifungal and Antiviral Efficacy of Acetic Acid for Home Care Procedures. *BMC Microbiology*, 20(1), 1-9. <https://doi.org/10.1186/s12866-020-01948-8>
- Zuraidassanaaz, N. A. (2016). Induksi Kalus Eksplan Daun Sirih Hitam (*Piper Betle L.*) dengan Kombinasi Konsentrasi Zat Pengatur Tumbuh Indole-3-Acetic Acid (IAA) dan Benzyl Amino Purin (BAP). *Skripsi*. Universitas Airlangga.