

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ubi Jalar (*Ipomea batatas* L. Poir) merupakan salah satu komoditas pangan yang mempunyai kandungan karbohidrat, sumber kalori yang tinggi, kaya akan vitamin dan mineral. Di Indonesia, ubi jalar belum setara dengan padi dan jagung sebagai komoditas pangan dan hanya dijadikan sebagai bahan pangan sampingan. Ubi jalar merupakan sumber karbohidrat ke-4 di Indonesia, setelah padi, jagung dan ubi kayu. Namun, perkembangannya dari tahun ke tahun relatif rendah.

Ubi jalar mempunyai komposisi kimia yang kaya karbohidrat, mineral, dan vitamin. Kandungan gizi karbohidrat yang dimiliki ubi jalar cukup tinggi yaitu mencapai 91,42-93,45% (Berat Kering), vitamin A pada ubi jalar dalam bentuk provitamin A mencapai 7000 SI/100 gr atau dua setengah kali lebih besar dari rata-rata kebutuhan manusia. Demikian juga untuk vitamin B₁ mencapai 0,09 mg/100 gr, vitamin B₂ mencapai 0,05 mg/100 gr, vitamin B₃ 0,9 mg/100 gr dan vitamin C 22 mg/100 gr (Zuraida, 2003). Ubi jalar mengandung gula antara 2,0-6,7% dan amilosa sebesar 9,8-26%. Kandungan gula yang tinggi memberi rasa manis yang kuat, sedangkan amilopektin memberikan sifat mumpur/lunak. Ubi jalar yang berwarna ungu merupakan ciri antioksidan yang disebut antosianin (Fitrah, 2013). Hal ini mendukung pemanfaatan ubi jalar sebagai alternatif sumber bahan pangan sampingan.

Melalui penataan pola makan yang tidak tergantung pada satu sumber pangan memungkinkan masyarakat dapat menetapkan pangan pilihan sendiri, membangkitkan ketahanan pangan keluarga masing-masing yang berujung pada peningkatan ketahanan pangan nasional. Penganekaragaman pangan (diversifikasi pangan) merupakan jalan keluar yang saat ini dianggap

paling rasional untuk memecahkan masalah pemenuhan kebutuhan pangan khususnya sumber karbohidrat. Oleh karena itu, penggalakan penanaman dan peningkatan kualitas ubi jalar di sentra-sentra produksi sangat perlu dilakukan. Program diversifikasi pangan dicanangkan pemerintah diarahkan pada konsumsi produk-produk berbahan baku tepung (Antarlina dan Utomo, 1999). Proses tersebut memang patut dicatat sebagai bagian dari proses diversifikasi pangan, mengingat ubi jalar sangat berpotensi penggunaannya menjadi salah satu alternatif dari 20 jenis pangan yang berfungsi sebagai sumber karbohidrat.

Pada tahun 2015, sebanyak 2,30 juta ton umbi basah mengalami penurunan produksi sebanyak 85,02 ribu ton atau setara dengan 3,57% dibandingkan tahun 2014 (Badan Pusat Statistik, 2018). Penurunan produksi sebanyak 12,90 ribu ton terjadi di pulau Jawa dan sebanyak 72,12 ribu diluar pulau Jawa pada tahun 2015. Penurunan produksi ubi jalar tahun 2015 yang relatif besar terjadi di provinsi Jawa Tengah, Sumatera Utara, Bali, Jawa Barat, dan Maluku Utara. Penurunan produksi ubi jalar tahun 2015 yang sebanyak 85,02 ribu ton (3,57%) terjadi pada subround Mei-Agustus dan subround September-Desember masing-masing sebanyak 9,41 ribu ton (1,19 persen) dan 103,68 ribu ton (11,92 persen).

Produksi ubi jalar dapat ditingkatkan dengan menghasilkan bibit unggul untuk diperbanyak melalui berbagai metode penanaman yang dapat meningkatkan produksi untuk membantu program diversifikasi pangan yang dicanangkan oleh pemerintah. Pada umumnya, perbanyak ubi jalar dilakukan dengan menggunakan stek. Penggunaan stek pada perbanyak tanaman ubi jalar akan menyebabkan penurunan hasil dikarenakan ketahanannya terhadap penyakit dan hama akan semakin menurun setelah empat generasi perbanyak menggunakan stek (Sarwono, 2005). Untuk mengatasi hal ini dapat digunakan metode kultur jaringan. Kultur jaringan atau sering disebut juga teknik *in vitro* adalah suatu metode untuk mengisolasi bagian

dari tanaman seperti protoplasma, sel, jaringan, organ serta menumbuhkannya dalam kondisi aseptik sehingga bagian-bagian tersebut dapat memperbanyak diri dan beregenerasi menjadi tanaman utuh kembali (Gunawan, 1995).

Teknik kultur jaringan atau sering disebut juga teknik *in vitro* merupakan salah satu cara untuk mendapatkan bahan tanam yang bebas patogen karena menghasilkan bibit dalam jumlah yang lebih banyak dalam waktu yang relatif singkat, bebas penyakit, tidak tergantung pada iklim dan cuaca, menghasilkan tanaman yang sehat, mempertahankan sifat baik induk, tidak membutuhkan lahan yang luas untuk pembibitan, sedikit tenaga kerja, dan dapat memperbanyak tanaman tertentu yang sulit jika diperbanyak secara konvensional (Yusnita, 2005).

Keberhasilan dari suatu teknik *in vitro* terletak pada susunan genetik dari spesies tanaman, nutrisi, ZPT, dan kondisi steril terhadap bahan dan alat yang digunakan. Kondisi steril ini dapat dicapai jika bahan dan alat yang digunakan disterilisasi terlebih dahulu sehingga kontaminasi dapat dihindarkan pada kultur *in vitro* dan keberhasilan dari suatu teknik *in vitro* dapat tercapai.

Setiap bahan tanaman memiliki tingkat kontaminasi yang berbeda-beda tergantung dari jenis tanaman, bagian tanaman yang digunakan, morfologi permukaan, lingkungan tumbuh, umur tanaman dan kondisi tanaman (George & Sherrington, 1983). Keadaan ini mempersulit penentuan prosedur sterilisasi standar yang berlaku untuk semua tanaman dan juga untuk menentukan prosedur standar yang dapat dipergunakan untuk suatu jenis tanaman yang berasal dari tempat yang berbeda. Prosedur sterilisasi setiap bahan tanaman harus ditentukan melalui percobaan pendahuluan. Berdasarkan uraian di atas maka penulis sangat tertarik untuk meneliti respon pertumbuhan tanaman ubi jalar ungu (*Ipomea batatas* L. Poir) terhadap metode sterilisasi yang diberikan.

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh metode sterilisasi yang sesuai pada kultur tunas ubi jalar ungu (*Ipomea batatas* L. Poir).

1.3 Hipotesis Penelitian

1. Diduga ada pengaruh perbedaan metode sterilisasi terhadap kultur tunas ubi jalar ungu (*Ipomea batatas* L. Poir).

1.4 Kegunaan Penelitian

Kegunaan penelitian ini adalah :

1. Untuk memperoleh metode sterilisasi yang sesuai bagi kultur tunas ubi jalar ungu (*Ipomea batatas* L. Poir).
2. Untuk memperoleh bibit ubi jalar ungu (*Ipomea batatas* L. Poir) yang bebas patogen.
3. Untuk meningkatkan produksi ubi jalar ungu (*Ipomea batatas* L. Poir) guna mendukung program diversifikasi pangan yang dicanangkan oleh pemerintah.
4. Sebagai bahan informasi untuk berbagai pihak yang terkait didalam usaha budidaya tanaman ubi jalar ungu (*Ipomea batatas* L. Poir).
5. Sebagai bahan penyusun skripsi untuk memenuhi persyaratan dalam menempuh ujian sarjana di Fakultas Pertanian Universitas HKBP Nommensen, Medan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Taksonomi Ubi Jalar Ungu

Taksonomi ubi jalar menurut Heyne (1987) adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Spermatophyta
Subdivisio	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Ordo	: Convolvulus
Familia	: Convolvulaceae
Genus	: <i>Ipomea</i>
Species	: <i>Ipomea batatas</i> L. Poir

Menurut Juanda dan Cahyono (2000), berdasarkan warna ubi jalar dibedakan menjadi beberapa golongan sebagai berikut :

1. Ubi jalar putih, yakni jenis ubi jalar yang dagingnya berwarna putih.
2. Ubi jalar kuning, yakni jenis ubi jalar yang memiliki daging umbi berwarna kuning, kuning muda, atau kekuning-kuningan.
3. Ubi jalar orange, yakni ubi jalar dengan warna daging berwarna orange
4. Ubi jalar ungu, yakni jenis ubi jalar yang memiliki daging berwarna ungu hingga ungu muda.

Dalam penelitian ini akan digunakan ubi jalar yang memiliki daging buah berwarna ungu. Ubi jalar ungu memiliki kandungan gizi yang tidak jauh berbeda dengan jenis ubi jalar yang lain. Kandungan antosianin yang tersimpan didalam ubi jalar saat ini menjadi komoditas yang bernilai dalam diversifikasi pangan yang dicanangkan oleh pemerintah.

2.2 Kultur Jaringan

Kultur jaringan atau dikenal juga dengan *tissue culture* adalah suatu teknik mengisolasi bagian-bagian dari tanaman seperti sel, sekelompok sel, jaringan, organ, protoplasma, dan sebagainya yang ditumbuhkan secara khusus dalam suatu lingkungan yang aseptik (bebas mikroorganisme) untuk diperbanyak dan kemudian diregenerasikan kembali menjadi tanaman lengkap yang mempunyai sifat persis seperti induknya (Gunawan, 1992).

Teknik ini merupakan perbanyakan vegetatif yang hanya memerlukan sebagian kecil dari tanaman yang digunakan untuk memperoleh bibit yang banyak, homogen serta memiliki sifat yang sama dengan induknya (BALITHUT, 2013). Modifikasi teknik kultur jaringan dapat dilakukan dengan penambahan persenyawaan organik kompleks pada media yang dapat berupa buah atau sayuran untuk dijadikan media kultur jaringan dengan syarat tidak mengandung zat

berbahaya apapun yang dapat menghambat pertumbuhan tanaman. Teknik ini sangat membantu dalam usaha untuk mengeliminasi patogen atau yang dikenal juga dengan penyakit sistemik, karena pada teknik ini dilakukan metode memilih bagian-bagian atau sel-sel yang tidak mengandung patogen sistemik terutama virus dan menumbuhkan sel-sel tanaman tersebut serta meregenerasikannya kembali menjadi tanaman yang sempurna. Kultur jaringan dikenal juga dengan kultur *in vitro* atau *in vitro culture* karena teknik ini dilakukan di dalam wadah gelas (Wattimena dkk, 1992).

Prinsip yang digunakan pada teknik kultur jaringan adalah totipotensi yang menyatakan bahwa setiap bagian tanaman dapat berkembang biak karena seluruh bagian dari tanaman tersebut terdiri atas jaringan-jaringan hidup yang mempunyai informasi genetik dan perangkat fisiologis yang lengkap untuk tumbuh dan berkembang menjadi tanaman lengkap kembali jika ditempatkan pada kondisi yang sesuai.

Terdapat beberapa kelebihan yang diberikan oleh teknik kultur jaringan pada tanaman yang diusahakan dibandingkan dengan teknik perbanyakan secara konvensional dalam bidang pertanian. Adapun kelebihan-kelebihan tersebut adalah bibit yang diusahakan memiliki sifat yang identik dengan induknya, perbanyakan dapat dilakukan dengan tidak bergantung pada musim sekaligus mampu menghasilkan bibit dengan jumlah yang besar dalam waktu yang singkat, dapat meminimalisir pemakaian tempat pada teknik kultur jaringan karena tidak membutuhkan tempat yang luas, dan dapat menghasilkan bibit yang memiliki kesehatan dan mutu yang terjamin karena ditumbuhkan dalam tempat yang steril (aseptik).

Pada masa-masa awal penggunaan kultur jaringan, banyak peneliti yang menggunakan jaringan tanaman dikotil dari kelompok herba maupun berkayu untuk dijadikan sebagai sumber eksplan primer, meskipun ada juga yang menggunakan eksplan primer dari kelompok tanaman

lain, seperti yang dilakukan oleh Morel pada tahun 1950 yang berhasil mengkulturkan jaringan tanaman monokotil dengan bantuan air kelapa sebagai zat pengatur tumbuh dan Tulecke pada tahun 1959 yang mengkulturkan haploid dari serbuk sari tanaman *Taxus*.

Komposisi dari media yang digunakan merupakan salah satu indikator keberhasilan dalam penggunaan metode kultur jaringan dikarenakan pada media kultur jaringan menyediakan tidak hanya unsur hara makro dan mikro yang dibutuhkan tanaman tetapi juga karbohidrat yang umumnya berupa sukrosa untuk menggantikan karbon yang biasanya didapat dari atmosfer melalui fotosintesis. Untuk memperoleh hasil yang lebih baik, pada media dapat ditambahkan vitamin, asam amino, dan juga zat pengatur tumbuh. Tahapan pertumbuhan dari tanaman yang diusahakan pada teknik kultur jaringan dan tipe pertumbuhan menentukan jenis dan konsentrasi zat pengatur tumbuh yang diperlukan.

Untuk mempelajari diferensiasi sel, terutama sekali pembentukan elemen-elemen *tracheary* pada jaringan yang ditumbuhkan merupakan bukti nyata bahwa kultur jaringan telah digunakan secara luas dengan berbagai teknik berbeda yang telah diterapkan. Eksplan primer dari berbagai jaringan yang berbeda mampu menghasilkan elemen *tracheary* selama pengkulturkan. Pada penelitian anatomi juga telah dimanfaatkan teknik kultur jaringan yang menggunakan potongan pucuk tanaman tingkat rendah seperti tanaman suplir, *Selaginella*, dan *Equisetum* (Wetmore dan Wardlaw, 1951).

2.3 Jenis – Jenis Sterilan

2.3.1 Alkohol

Alkohol merupakan salah satu jenis sterilan yang memiliki kemampuan aktivitas bakteriosid yang mengesankan, berspektrum luas dan juga tidak meninggalkan sisa kimia dengan konsentrasi alkohol yang paling efektif adalah 60%-90% (Poerwo et al., 2008). Alkohol

memiliki suatu sifat yang memberikan aktivitas antimikrobia yang disebut dengan denaturasi protein karena efektif memecah protein yang ada di dalam mikroorganisme dan juga merusak fosfolipid pada membran sel bakteri (Adji, 2007). Efektivitas yang dimiliki oleh alkohol sebagai sterilan bekerja sangat baik terhadap berbagai jenis bakteri (tetapi tidak terhadap virus dan jamur), juga memiliki sifat mudah terbakar dan pada pemakaian berulang menyebabkan kekeringan pada permukaan media.

Alkohol adalah senyawa organik yang memiliki gugus hidroksil (-OH) yang terikat pada atom karbon, yang ia sendiri terikat pada atom hidrogen dan atau atom karbon lain. Dengan mensubstitusikan -OH ke H dari CH_4 , maka didapat CH_3OH yang dikenal dengan Metanol. Rumus fungsional dari Alkohol adalah OH dengan formula umum untuk alkohol ROH, dimana R adalah alkil atau substitusi kelompok alkil. Alkohol memiliki banyak golongan sederhana jika dilihat dari gugus fungsinya. Selain Metanol, Etanol juga merupakan salah satu dari golongan alkohol yang paling sederhana (John Wiley *et al*, 1989).

Alkohol mempunyai titik didih yang cukup tinggi disebabkan oleh adanya ikatan hidrogen antar molekul. Hal ini menyebabkan alkohol dianggap sebagai molekul organik yang analog dengan air. Kedua ikatan antara C-O dan H-O bersifat polar karena elektronegatifitas pada oksigen. Sifat ikatan O-H yang sangat polar menghasilkan ikatan hidrogen dengan alkohol lain atau dengan sistem ikatan hidrogen lain, misal alkohol dengan air dan dengan amina. Panjang gugus alkil, banyaknya cabang, dan banyaknya gugus hidroksil yang terikat pada atom karbon merupakan faktor yang mempengaruhi peningkatan titik didih alkohol.

2.3.2 Natrium Hipoklorit (NaOCl)

Natrium Hipoklorit memiliki kemampuan melepaskan klorin menjadi bahan antimikroba yang efektif dengan melapisi jaringan mikroorganisme untuk membunuh mikroorganisme

sehingga dapat dikatakan sebagai salah satu bahan kimia yang berfungsi sebagai sterilan. Natrium Hipoklorit merupakan golongan halogen yang teroksidasi dan merupakan sterilan dengan derajat tinggi karena sangat aktif terhadap bakteri, virus, jamur, parasit dan beberapa spora. Struktur kimia daripada Natrium Hipoklorit adalah NaOCl dan berupa larutan berwarna putih agak kekuningan berbau khas juga sedikit menyengat.

Kemampuan yang dimiliki oleh Natrium Hipoklorit sebagai sterilan dikarenakan keberadaan soda kaustik didalam Natrium Hipoklorit yang menyebabkan pH meningkat. Natrium Hipoklorit memiliki pH antara 11-12 sehingga efek antimikrobanya mampu masuk lebih dalam untuk membersihkan area yang terkontaminasi secara lebih baik.

2.3.3 Kalsium Hipoklorit [Ca(ClO)₂]

Kalsium Hipoklorit adalah salah satu bahan sterilisasi yang umum dijumpai karena harganya yang lebih murah, lebih stabil dan mudah larut dalam air (Ali, 2010). Kalsium Hipoklorit atau dikenal juga dengan nama Kaporit dengan struktur kimia [Ca(ClO)₂] dalam bentuk butiran memiliki sifat yang mudah larut dalam air sehingga pada proses sterilisasi dapat bekerja dengan efektif. Kaporit dipilih sebagai sterilan dalam proses sterilisasi karena Klor yang merupakan unsur kimia terdapat dalam senyawa Kaporit terutama HOCl umumnya sangat efektif untuk mereduksi zat organik, mengoksidasi logam, menginaktivasi patogen dan bakteri juga mikroorganisme lainnya dan pada uji Kaporit di Laboratorium disebutkan bahwa Klorin yang terkandung dalam Kaporit terdiri dari 70% (Said, 2007).

Pada proses sterilisasi dibutuhkan konsentrasi yang tepat untuk membunuh mikroorganisme yang menyebabkan kontaminasi pada media tumbuh tanaman secara in vitro. Pada Kalsium Hipoklorit dengan konsentrasi yang rendah menyebabkan mikroorganisme pada media tidak tersterilisasi dengan baik. Sedangkan penggunaan Kalsium Hipoklorit dengan

konsentrasi yang tinggi menyebabkan sisa unsur Klor yang tertinggal pada media dan menimbulkan dampak yang buruk terhadap tanaman yang diusahakan pada proses sterilisasi.

2.4 Sterilisasi

Di dalam pelaksanaan kultur jaringan, sterilisasi merupakan salah satu faktor yang dijadikan indikator keberhasilan daripada pengkulturan yang dilakukan, karena bertujuan untuk mengeliminir kontaminan yang terbawa oleh eksplan. Sterilisasi pada bahan kultur dapat dilakukan dengan berbagai cara, seperti penggunaan bahan kimia sterilan atau pun perlakuan sterilisasi secara fisik yakni dengan pembakaran atau pemanasan dengan suhu tertentu.

Detergen, bakterisida, dan fungisida merupakan bahan-bahan sterilan yang paling sering digunakan. Penggunaan sterilan bahan kimia atau pun sterilisasi secara fisik dapat dilakukan secara bersamaan untuk mengetahui tingkat sterilisasi yang baik di dalam proses kultur jaringan. Kondisi steril tidak hanya dibutuhkan oleh eksplan tetapi juga dibutuhkan oleh alat maupun lingkungan dilakukannya kultur jaringan tersebut. Pada hal ini keberhasilan kultur jaringan dapat dicapai jika bahan, alat dan lingkungan dilakukannya proses kultur jaringan disterilisasi terlebih dahulu karena bahan tanaman (eksplan) mengandung berbagai kontaminan yang berupa cendawan, bakteri, serangga, spora hidup pada permukaan eksplan tersebut.

Jika kontaminan tersebut tidak dihilangkan, maka pada media yang mengandung unsur hara makro dan unsur hara mikro akan berkembang dengan cepat. Dan dalam hitungan hari, kontaminan akan memenuhi botol kultur dan merusak tanaman yang diusahakan, yang mana kerusakan yang terjadi ini adalah matinya eksplan sebagai akibat langsung dari serangan kontaminan-kontaminan atau pun akibat tidak langsung karena persenyawaan toksik yang diproduksi oleh kontaminan.

Pada eksplan sterilisasi dilakukan hanya sebatas sterilisasi pada permukaan atau biasa dikenal dengan istilah disinfestasi (menghilangkan infestasi kontaminan) dan bukan disinfeksi (menghilangkan infeksi kontaminan dalam eksplan) karena di dalam proses sterilisasi eksplan, kontaminan-kontaminan yang dihilangkan adalah kontaminan yang berada pada permukaan eksplan dan bukan kontaminan yang berada didalam ekplan tersebut.

Tingkat kontaminasi permukaan dari setiap bahan tanaman adalah berbeda tergantung dari jenis tanamannya, bagian tanaman yang digunakan, morfologi permukaan, lingkungan tumbuh, musim pengambilan bahan tanam, umur tanaman dan kondisi tanaman (George & Sherrington, 1983). Hal penting yang harus diperhatikan didalam sterilisasi bahan tanaman adalah bahwa sel tanaman dan kontaminan merupakan benda hidup. Kontaminan harus dihilangkan tanpa mengganggu pertumbuhan sel tanaman.

2.5 Kontaminan

Kultur jaringan membentuk kondisi yang steril dan aseptik didalam proses pengerjaannya karena jika tidak steril dan aseptik maka akan terjadi kontaminasi oleh mikroorganisme yang akan berakibat pada rusaknya eksplan yang ditanam bahkan akan membuat eksplan tersebut mati. Komponen paling rentan terserang kontaminasi adalah media karena media menyediakan sumber makanan bagi mikroorganisme untuk tumbuh dan berkembang, tetapi umumnya juga mikroorganisme akan tumbuh dengan cepat dan akan menutupi permukaan media dan eksplan yang ditanam.

Media tumbuh dan eksplan dapat terkontaminasi oleh mikroorganisme karena keduanya dapat berfungsi sebagai substrat yang baik bagi pertumbuhan mikroorganisme termasuk bakteri dan jamur. Eksplan yang terkontaminasi akan menunjukkan gejala berwarna putih, biru atau

krem yang disebabkan oleh jamur dan bakteri. Ciri dari kontaminasi jenis bakteri dapat dilihat dari besar kecilnya koloni yang terbentuk, bentuk dari koloni, kenaikan permukaan, halus kasarnya permukaan, wajah permukaan, warna koloni dan berlendir atau tidaknya media yang terserang kontaminan jenis bakteri. Ciri dari kontaminasi jenis jamur dapat dilihat dari kemunculan hifa, miselium dan adanya spora. Kontaminasi dapat terjadi dari eksplan baik internal maupun eksternal, mikroorganisme dapat masuk kedalam media, botol kultur atau alat-alat tanam yang kurang steril, ruang kerja dan kultur yang kotor juga kecerobohan dalam pelaksanaan (Gunawan, 1992).

BAB III

BAHAN DAN METODE

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian telah dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Balai Induk Hortikultura Gedung Johor, Kecamatan Medan Johor, Sumatera Utara. Pelaksanaan penelitian pada 24 Juni 2019 sampai 24 Juli 2019.

3.2 Bahan dan Alat Penelitian

Bahan yang digunakan di dalam penelitian ini adalah eksplan berupa mata tunas dari umbi ubi jalar ungu, media kultur jaringan MS, detergen, bakterisida, fungisida, aquades, Alkohol 70%, NaOCl 5%, NaOCl 10%, $[Ca(ClO)_2]$ 6%.

Alat-alat yang digunakan adalah laminar air flow cabinet (LAFB), botol kultur, erlenmeyer, gelas ukur, petridis, scalpel, bunsen, timbangan analitik, hotplate, spatula, gelas beker, tissue, pinset, panci, kompor, sendok pengaduk, autoklaf, pH meter dan kertas label.

3.3 Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan penyusunan media atau botol kultur secara acak dengan faktor perlakuan yaitu perbedaan sterilan dan lama perendaman. Perlakuan dilakukan pada sterilisasi dengan 8 perlakuan, yaitu :

S₁ : Alkohol 70%, 1 menit + NaOCl 5%, 5 menit

S₂ : Alkohol 70%, 1 menit + NaOCl 5%, 10 menit

S₃ : Alkohol 70%, 2 menit + NaOCl 10%, 5 menit

S₄ : Alkohol 70%, 2 menit + NaOCl 10%, 10 menit

S₅ : Alkohol 70%, 1 menit + [Ca(ClO)₂] 6%, 20 menit

S₆ : Alkohol 70%, 1 menit + [Ca(ClO)₂] 6%, 30 menit

S₇ : Alkohol 70%, 2 menit + [Ca(ClO)₂] 6%, 20 menit

S₈ : Alkohol 70%, 2 menit + [Ca(ClO)₂] 6%, 30 menit

3.4 Pelaksanaan penelitian

Pelaksanaan penelitian meliputi beberapa kegiatan, yaitu :

3.4.1 Pengadaan bahan penelitian

Pada penelitian ini, sumber tanaman yang digunakan adalah eksplan mata tunas ubi jalar ungu (*Ipomea batatas* L. Poir) yang telah diinduksi selama 1 bulan dengan ciri eksplan yang sudah memiliki panjang tunas seukuran 1 cm untuk ditanam pada media. Penyediaan eksplan dilakukan dengan cara mengambil potongan mata tunas dari induksi ubi jalar ungu yang telah dilakukan selama 1 bulan.

3.4.2 Pembuatan Media

Media kultur yang digunakan adalah media yang umum dijumpai yakni formula Murashige and Skoog atau yang biasa dikenal dengan sebutan media MS. Pembuatan media dilakukan dengan pembuatan larutan stok terlebih dahulu. Larutan stok adalah larutan bahan media yang dibuat dalam jumlah atau volume yang besar dimana hal ini bertujuan untuk meminimalisir kebutuhan waktu untuk menimbang bahan media kultur setiap kali membuat media. Larutan stok disimpan di tempat gelap dengan temperatur yang rendah.

3.4.3 Sterilisasi Media, Alat dan Ruang Kultur

Sterilisasi media dilakukan dengan cara sterilisasi basah menggunakan autoklaf dengan memasukkan botol-botol kultur tersebut ke dalam autoklaf dan disterilisasi dengan suhu 121°C dengan tekanan 17,5 psi selama 20-30 menit. Setelah disterilisasi menggunakan autoklaf, media disimpan di dalam ruang penyimpanan steril ber-AC dengan suhu 24°C-26°C selama 3 hari sebelum digunakan untuk memastikan bahwa media yang dibuat tidak terkontaminasi oleh apapun untuk dapat digunakan pada penelitian.

Alat-alat yang digunakan seperti botol kultur, erlenmeyer, gelas ukur, petridis, scalpel, bunsen, spatula, gelas beker, pinset, panci, sendok pengaduk dicuci menggunakan detergen dan dibilas menggunakan aquades. Kemudian disterilisasi lanjut secara basah menggunakan autoklaf dengan tekanan 17,5 psi dengan temperatur 121°C selama 60 menit.

Ruangan yang digunakan untuk melakukan kegiatan kultur jaringan harus selalu dalam kondisi steril agar tingkat keberhasilan tinggi. Sterilisasi ruangan dapat dilakukan dengan cara menyemprotkan ruangan dengan larutan Alkohol 95%, sedangkan sterilisasi lantai dapat dilakukan dengan menyemprotkan formalin kemudian ruangan ditutup rapat selama 12 jam dan

selama 12 jam tersebut, ruangan tidak boleh dimasuki oleh orang karena akan berbahaya bagi kesehatan.

3.4.4 Sterilisasi Laminar Air Flow Cabinet (L AFC)

Pada sterilisasi Laminar Air Flow dilakukan dengan cara menyemprotkan larutan alkohol 70% kemudian dibiarkan selama 10 menit, dan setelah itu lampu UV diaktifkan selama 30-60 menit.

3.4.5 Sterilisasi Eksplan

Sterilisasi eksplan tanaman ubi jalar ungu (*Ipomea batatas* L. Poir) dilakukan dalam 2 tahapan. Tahapan pertama dilakukan diluar Laminar Air Flow Cabinet dan tahapan kedua dilakukan didalam Laminar Air Flow Cabinet.

3.4.5.1 Sterilisasi Eksplan di luar Laminar Air Flow Cabinet

Sterilisasi eksplan mata tunas ubi jalar ungu (*Ipomea batatas* L. Poir) di luar Laminar Air Flow Cabinet diawali dengan pencucian umbi ubi ungu dibawah air mengalir untuk menghilangkan tanah yang masih lengket pada umbi ubi ungu. Kemudian umbi ubi ungu yang sudah dibersihkan dibawah air mengalir direndam didalam larutan Bayclin 1 ml/l selama 10-15 menit untuk kemudian ditiriskan dan dikeringkan dan selanjutnya disemprotkan GA₃ untuk merangsang pertumbuhan tunas umbi ubi jalar ungu sebagai bahan tanam untuk penelitian.

3.4.5.2 Sterilisasi Eksplan di dalam Laminar Air Flow Cabinet

Sterilisasi eksplan mata tunas ubi jalar ungu (*Ipomea batatas* L. Poir) di dalam Laminar Air Flow Cabinet dilakukan sesuai dengan perlakuan. Pada perlakuan S₁, eksplan direndam di

dalam Alkohol 70% selama 1 menit kemudian dibilas dengan aquades dan direndam kembali dengan NaOCl 5% selama 5 menit. Pada perlakuan S₂, eksplan direndam di dalam Alkohol 70% selama 1 menit kemudian dibilas dengan aquades dan direndam kembali dengan NaOCl 5% selama 10 menit. Pada perlakuan S₃, eksplan direndam di dalam Alkohol 70% selama 2 menit kemudian dibilas dengan aquades dan direndam kembali dengan NaOCl 10% selama 5 menit. Pada perlakuan S₄, eksplan direndam di dalam Alkohol 70% selama 2 menit kemudian dibilas dengan aquades dan direndam kembali dengan NaOCl 10% selama 10 menit. Pada perlakuan S₅, eksplan direndam di dalam Alkohol 70% selama 1 menit kemudian dibilas dengan aquades dan direndam kembali dengan [Ca(ClO)₂] 6% selama 20 menit. Pada perlakuan S₆, eksplan direndam di dalam Alkohol 70% selama 1 menit kemudian dibilas dengan aquades dan direndam kembali dengan [Ca(ClO)₂] 6% selama 30 menit. Pada perlakuan S₇, eksplan direndam di dalam Alkohol 70% selama 2 menit kemudian dibilas dengan aquades dan direndam kembali dengan [Ca(ClO)₂] 6% selama 20 menit. Pada perlakuan S₈, eksplan direndam di dalam Alkohol 70% selama 2 menit kemudian dibilas dengan aquades dan direndam kembali dengan [Ca(ClO)₂] 6% selama 30 menit. Pada setiap perlakuan sterilisasi yang telah dilakukan terhadap eksplan mata tunas ubi jalar selanjutnya dilakukan penanaman pada media tanam.

3.4.6 Penanaman eksplan pada media penelitian

Penanaman eksplan tanaman ubi jalar ungu (*Ipomea batatas* L. Poir) dilakukan di LAFC yang telah disterilkan terlebih dahulu dengan larutan alkohol 70%. Induksi mata tunas yang digunakan sebagai eksplan kultur jaringan diambil menggunakan pinset untuk ditanam ke dalam botol media yang sesuai dengan perlakuan. Apabila penanaman pada botol-botol media telah selesai dilakukan maka selanjutnya yang harus dilakukan adalah meletakkan botol-botol media di rak-rak kultur jaringan.

3.4.7 Pemeliharaan Kultur

Pemeliharaan kultur dapat dilakukan dengan menempatkan botol-botol kultur pada rak yang telah disediakan dengan suhu yang juga telah diatur yakni $\pm 25^{\circ}\text{C}$. Penempatan botol kultur pada rak yang telah disediakan harus pada kondisi terang dengan penyinaran lampu fluorescence dengan jarak ± 50 cm dari botol-botol kultur. Persentase kelembapan yang diharuskan pada pemeliharaan kultur eksplan ini adalah 80-90% mengingat kelembapan disekitar lingkungan tumbuh eksplan mempengaruhi pola perkembangan eksplan tersebut sehingga diusahakan agar ruangan terhindar daripada kontaminan seperti bakteri maupun jamur. Ruangan kultur juga harus disemprot menggunakan alkohol 95% agar terbebas dari kontaminan.

3.5 Pengamatan Parameter

Pengamatan dilakukan 1 hari setelah kultur (HSK) terhadap perkembangan eksplan yang dijadikan bahan penelitian hingga 30 HSK. Adapun parameter yang diamati adalah :

3.5.1 Waktu Kontaminasi Muncul

Pengamatan waktu pertama munculnya kontaminasi dilakukan dengan melihat langsung secara kasat mata. Pengamatan dilakukan setiap hari setelah dikulturkan dengan menentukan waktu munculnya kontaminasi pada setiap media.

3.5.2 Persentase Eksplan yang Tidak Terkontaminasi

Pengamatan eksplan yang tidak terkontaminasi dilakukan selama 4 MSK. Persentase eksplan yang terkontaminasi dilakukan dengan cara menghitung jumlah eksplan yang terkontaminasi, dengan rumus :

$$\text{Persentase eksplan yang tidak terkontaminasi} = \frac{\text{Jumlah eksplan yang tidak terkontaminasi}}{\text{Jumlah eksplan keseluruhan}} \times 100 \%$$

3.5.3 Persentase Eksplan yang Hidup

Pengamatan eksplan yang hidup dilakukan selama 4 MSK. Persentase eksplan yang hidup dilakukan dengan cara menghitung jumlah eksplan yang hidup, dengan rumus : Persentase

$$\text{eksplan yang hidup} = \frac{\text{Jumlah eksplan yang hidup}}{\text{Jumlah eksplan keseluruhan}} \times 100\%$$

3.5.4 Jenis Kontaminan

Jenis kontaminan yang muncul berupa bakteri dan jamur. Ciri dari kontaminasi jenis bakteri, eksplan maupun media akan basah dan menyebabkan adanya lendir. Ciri dari kontaminan jenis jamur dapat dilihat dari kemunculan hifa, misselium dan adanya spora.