

**PENGARUH LAMA PENGGEDAPAN TERHADAP
PENCOKLATAN PADA KULTUR EMBRIO PINANG SIRIH
(*Areca catechu* L.)**

343/HD/2009

14-9-2009

OLEH

IRMA LEILANI
MORALITA CHATRI
MELIZA FITRIA

Makalah disampaikan pada Seminar Nasional dan Rapat Tahunan
(SEMIRATA) Badan Kerja Sama (BKS) Wilayah Barat Bidang MIPA
17-19 Juli 2005 di Universitas Jambi

JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI PADANG
2005

**PENGARUH LAMA PENGGELAPAN TERHADAP PENCOKLATAN
PADA KULTUR EMBRIO PINANG SIRIH (*Areca catechu* L.)¹⁾**

***Irma Leilani*²⁾, *Moralita Chatri*²⁾ dan *Meliza Fitri*³⁾
*Biologi FMIPA UNP***



ABSTRACT

The problem of seed culture of Areca Nut (*Areca catechu* L.) is the browning of explants and it caused the no growth explants or die. Unsuitable condition for the activity of poliphenol oxidase enzyme can inhibit the browning process, for the example is the darkening.

The aims of the study was to know the effect of the darkening for the browning to the seed culture of Areca Nut and the effective duration of darkening for the browning inhibit. The study consists of 6 treatments and 5 replications. The treatments were A (control), B (1 week darkening), C (2 weeks darkening), D (3 weeks darkening), E (4 weeks darkening), and F (5 weeks darkening). The data collect are the percentage of the growth of explant and the browning.

Result of the study disclosed that the darkening decreased the browning and increased the explants growth percentage. Five weeks darkening was the best for decreased the browning.

Keywords: Tissue culture, browning, darkening, areca nut.

PENDAHULUAN

Pinang sirih merupakan salah satu jenis tanaman perkebunan yang tersebar pada berbagai daerah di Indonesia, memiliki nilai ekonomi yang cukup tinggi dan prospek yang cukup cerah. Hal ini dibuktikan dengan meningkatnya permintaan konsumen luar negeri terhadap biji pinang yang telah dikeringkan dari tahun ke tahun (Pandian dan Rompas, 1994: 34).

Perluasan areal tanaman pinang masih menjadi masalah yang cukup serius karena belum tersedianya bibit yang bermutu (Pandian dan Rompas, 1994: 34). Perkecambahan secara konvensional, yaitu dengan perkecambahan biji membutuhkan waktu yang lama karena pinang sirih memiliki masa dormansi. Menurut Untu (1995: 61) bibit pinang sirih akan berkecambah setelah 2-3 bulan dalam persemaian dan selama itu bisa terjadi kerusakan bibit akibat hama atau penyakit. Teknik kultur *in vitro* merupakan salah satu solusi yang cukup efektif untuk mengatasi masalah penyediaan bibit pinang sirih (Gunawan, 1992: 12).

1) Makalah diseminarkan pada SEMIRATA XVIII BKS Wilayah Barat Bidang MIPA tgl 17-19 Juli 2005 di Universitas Jambi.

2) Dosen Biologi FMIPA UNP.

3) Alumni Biologi FMIPA UNP.

Walaupun perbanyakkan tanaman pinang secara *in vitro* masih jarang dilakukan, namun pada golongan palma lain sudah banyak seperti : kelapa, aren dan kelapa sawit. Perbanyakkan secara *in vitro* ini masih mempunyai tingkat keberhasilan yang rendah. Hal ini disebabkan terjadinya pencoklatan pada eksplan saat diisolasi. Pencoklatan sering terjadi pada kultur tanaman palma karena kandungan fenol yang tinggi (Aswandi, 2002: 3). George dan Sherrington (1984: 334-335) menambahkan bahwa pencoklatan sering terjadi pada kultur tanaman yang mengandung tanin dan senyawa fenol.

Penelitian kultur jaringan pinang sirih (*Areca catechu* L) yang telah dilakukan juga dihadapkan dengan masalah pencoklatan. Menurut hasil penelitian Yuriko (2001: 37), pencoklatan pada kultur embrio pinang sirih dengan penambahan NAA 6 ppm terjadi sebesar 11,67% pada medium MS. Aswandi (2000: 18) juga menyatakan bahwa pada kultur embrio pinang sirih pada medium B5 juga terjadi pencoklatan sebesar 17,77%. Sementara itu penelitian Prahardini, Sudaryono dan Purnomo (1993, dalam Nelfiyanti 1998:24) menunjukkan 57% eksplan tunas pucuk salak yang dikulturkan mengalami pencoklatan. Menurut George dan Sherrington (1984: 336) pencoklatan pada eksplan dapat menghambat pertumbuhan bahkan menyebabkan kematian. Salah satu cara yang dapat dipakai untuk mengurangi pencoklatan adalah dengan memberikan penggelapan.

Penggelapan selama satu minggu pada tanaman rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) yang ditambah dengan arang aktif dapat menghambat pencoklatan pada media maupun eksplan. Sedangkan pada kultur yang langsung disinari (tanpa penggelapan) pencoklatan terjadi 4 hari setelah pengkulturkan. (Nazir, 1991 dalam Nelfiyanti, 1998: 3). Penelitian tentang pemberian lama penggelapan pada kultur pinang sirih (*Areca catechu* L) belum ada dilaporkan. Berdasarkan permasalahan tersebut, penulis tertarik untuk mengadakan penelitian dengan judul “Pengaruh Lama Waktu Penggelapan terhadap Pencoklatan pada Kultur Embrio Pinang Sirih (*Areca catechu* L.)”

Tujuan penelitian ini adalah untuk:

1. Mengetahui pengaruh penggelapan terhadap pencoklatan pada kultur embrio pinang sirih (*Areca catechu* L.).
2. Mengetahui lama waktu penggelapan yang tepat untuk mencegah pencoklatan pada kultur embrio pinang sirih (*Areca catechu* L.).

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober-Desember 2004 di Laboratorium Kultur Jaringan Balai Benih Induk Tanaman Hortikultura, Lubuk Minturun Padang.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan antara lain: gunting, pinset, pisau, skalpel, botol kultur, Laminar Air Flow Cabinet (LAFC), beker glass, labu ukur, autoclave, cawan petri, pipet ukur, lampu spritus, magnetic stirer, pengaduk gelas, timbangan analitik, rak kultur, kotak pemindah dan hand sprayer.

Bahan yang digunakan antara lain: embrio muda pinang sirih yang diperoleh dari petani pinang di Lubuk Minturun, zat kimia penyusun media MS, agar, sukrosa, NAA 6 ppm, alkohol 96%, Bayclin (larutan hipoclorit) deterjen, HCl 0,1 N, NaOH 0,1 N, spritus, aquades steril, kertas topi, plastik, aluminium foil, karton hitam, kertas label, plastik wrap.

Rancangan Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimen. Penelitian terdiri dari 6 perlakuan dengan masing-masing 5 ulangan.

- A. Tanpa penggelapan
- B. Penggelapan selama 1 minggu
- C. Penggelapan selama 2 minggu
- D. Penggelapan selama 3 minggu
- E. Penggelapan selama 4 minggu
- F. Penggelapan selama 5 minggu

Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian dapat dikelompokkan atas beberapa tahap yaitu:

1. Sterilisasi alat

Botol kultur dicuci dengan deterjen, dibilas dengan aquades lalu direndam dalam Bayclin selama 24 jam. Kemudian disterilkan dengan autoclave. Setelah itu dikeringkan dengan oven pada suhu 70°C sampai pada saat akan digunakan. LAFC disterilkan dengan menyemprotkan alkohol 70% pada meja kerja. Aquades disterilkan dengan autoclave.

2. Pembuatan Medium.

Seluruh zat yang menyusun komposisi medium Murashige dan Skoog ditimbang dan dikelompokkan menurut stoknya dan dilarutkan masing-masing dalam 1 L

aquades. Untuk membuat 1 L medium dipipet 50 mL stok I, 5 mL stok II, 5 mL stok III dan 5 ml stok IV. Lalu masukkan ke dalam beker glass aquades 200 mL ditambah sukrosa 30 gram lalu dihomogenkan dengan magnetik stirer. Dalam beker glass lain, aquades dimasukkan sebanyak 100 mL ditambah 7 gram agar, dihomogenkan sampai panas dan mendidih.

Beker glass 1 dan 2 dicampurkan kemudian volume aquades dicukupkan sampai 1 liter. Kemudian medium diberi NAA 6 ppm. pH medium diukur menjadi 5.7 dan apabila pH kurang dari 5,7 teteskan NaOH, tetapi apabila pH lebih dari 5,7 teteskan HCl. Kemudian medium dimasukkan pada botol kultur masing-masing 15 mL. Lalu disterilisasi menggunakan autoclave pada suhu 121°C, tekanan 15 psi selama 15 menit. Botol kultur yang berisi medium diletakkan pada rak penyimpanan dan dibiarkan selama satu minggu untuk melihat apakah terjadi kontaminasi atau tidak.

3. Persiapan eksplan

Di laboratorium, buah pinang dicuci dengan deterjen sambil disikat untuk mengangkat kotoran yang melekat. Kemudian dibilas, setelah bersih, buah dipotong pada pangkalnya \pm 2 cm kemudian langsung disterilkan dengan cara direndam dalam alkohol 70% selama 30 menit (Yuriko,2001:20).

4. Penanaman eksplan.

Penanaman eksplan dilakukan di LAFC. Embrio dikeluarkan dengan mengorek buah menggunakan skalpel lalu diambil dengan hati-hati menggunakan pinset yang telah disterilkan. Eksplan yang sudah steril ditanam pada tiap botol kultur. Lalu botol ditutup dengan plastik wrap sambil didekatkan ke api. Kemudian eksplan diletakkan pada rak kultur.

6. Pemberian perlakuan

Pemberian perlakuan dilakukan dengan cara memasukkan botol eksplan ke dalam kotak karton hitam sedangkan yang tidak diberi penggelapan langsung diletakkan pada ruang inkubasi yang diberi cahaya. Setelah selesai pemberian perlakuan, botol eksplan dikeluarkan dari kotak karton hitam dan diberi cahaya untuk pemeliharaan (Nelfiyanti, 1998:20).

5. Pemeliharaan

Temperatur ruangan kultur dijaga sekitar pada suhu 25°C dan penyinaran diberikan dengan lampu neon 40 watt serta rak kultur disemprot dengan alkohol setiap hari. Eksplan yang terkontaminasi segera dipisahkan.

6. Pengamatan

Pengamatan meliputi eksplan yang hidup (%) dan eksplan yang mengalami pencoklatan (%). Dihitung pada akhir penelitian (minggu ke-8). Data yang didapat dari penelitian ini dianalisis secara deskriptif dengan membandingkan persentase dari masing-masing parameter.

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Persentase Eksplan yang Hidup

Hasil pengamatan terhadap pemberian penggelapan yang berbeda memberikan hasil yang berbeda terhadap persentase eksplan yang hidup (Tabel 1).

Tabel 1. Persentase Rata-rata Eksplan yang Hidup dengan pada Lama Penggelapan yang berbeda.

Perlakuan	Eksplan yang hidup (%)
A (tanpa penggelapan)	45
B (penggelapan 1 minggu)	60
C (penggelapan 2 minggu)	70
D (penggelapan 3 minggu)	75
E (penggelapan 4 minggu)	80
F (penggelapan 5 minggu)	90

Pada perlakuan A (tanpa penggelapan) eksplan yang hidup sebanyak 45%, pada perlakuan B eksplan yang hidup menjadi 60%, perlakuan C eksplan yang hidup sebanyak 70% perlakuan D menjadi 75%, perlakuan E persentase eksplan yang hidup adalah 80% dan perlakuan F persentase eksplan yang hidup menjadi 90%. Jadi waktu penggelapan dengan persentase hidup terbesar adalah dengan pemberian penggelapan selama 5 minggu. Semakin lama waktu penggelapan yang diberikan, ternyata semakin tinggi persentase eksplan yang hidup.

Persentase eksplan yang hidup dalam penelitian ini termasuk besar. Hal ini diduga karena embrio muda yang digunakan sebagai eksplan, memiliki kemampuan hidup yang tinggi. Hal ini sesuai dengan pendapat Wiendi (1991:88), pada bagian tanaman yang masih muda keadaan sel-selnya masih aktif membelah sehingga merupakan bagian tanaman yang paling baik untuk eksplan.

Eksplan embrio pinang sirih yang hidup dapat berwarna putih kekuningan, putih kehijauan dan berwarna hijau yang tidak terkontaminasi oleh mikroorganisme. Sedangkan eksplan yang mati akan berwarna coklat kehitaman. Semakin tinggi persentase eksplan yang hidup maka semakin rendah persentase eksplan yang mengalami pencoklatan. Hal ini terjadi karena pencoklatan dapat mengakibatkan kematian pada eksplan. Persentase eksplan yang hidup tertinggi pada perlakuan F sebanyak 90%, sedangkan persentase eksplan yang hidup terendah ada pada perlakuan A sebesar 45%.

Pada perlakuan A (tanpa penggelapan), beberapa eksplan yang mula-mula berwarna putih, kemudian berubah menjadi coklat kehitaman pada sebagian permukaan eksplan. Setelah beberapa minggu, pada bagian permukaan eksplan yang tidak berubah warna tadi menjadi kehijauan. Namun keadaan ini tidak bertahan lama karena adanya pencoklatan yang disebabkan oleh fenol pada permukaan sebagian eksplan menumpuk sehingga mempersulit eksplan untuk menyerap zat hara yang ada pada media dan akhirnya eksplan menjadi mati. Hal ini sesuai dengan pendapat Wattimena (1987: 211) bahwa adanya pelukaan pada jaringan tanaman bisa menyebabkan jaringan tersebut menjadi coklat dan mati.

Selanjutnya Bridg (2000: 51) menjelaskan bahwa oksidasi senyawa fenol menjadi quinon pada tanaman adalah reaksi alami yang berfungsi untuk proteksi tanaman tersebut. Produk reaksi ini adalah eksudat yang berwarna coklat atau kehitam-hitaman pada eksplan. Bagian ujung eksplan yang luka adalah bagian yang paling mudah mengalami pencoklatan. Zat-zat fenolik yang dihasilkan dari pencoklatan akan menyebar dengan cepat pada jaringan dan medium. Bila jumlahnya terlalu banyak akan dapat bersifat toksik bagi jaringan dan menghambat pengambilan hara dari medium oleh jaringan yang akhirnya dapat menyebabkan kematian jaringan. Di samping itu pada konsentrasi yang tinggi senyawa fenolik akan menghambat aktivitas gibberelin dan IAA sehingga menghambat pertumbuhan (Wattimena, 1987:197).

Sedangkan pada perlakuan yang diberi penggelapan (perlakuan B, C, D, E dan F), eksplan setelah dikeluarkan dari kotak hitam masih berwarna putih kekuningan, sebagian besar tidak terjadi pencoklatan pada eksplan dan kemungkinan eksplan untuk hidup juga lebih besar. Setelah beberapa minggu eksplan yang hidup berangsur-angsur berubah warna menjadi hijau.

B. Persentase Eksplan yang Mengalami Pencoklatan

Hasil pengamatan terhadap persentase eksplan yang mengalami pencoklatan untuk masing-masing perlakuan dapat dilihat dari Tabel 2.

Tabel 2: Persentase Eksplan yang Mengalami Pencoklatan pada Lama Penggelapan yang Berbeda

Perlakuan	Eksplan yang mengalami pencoklatan (%)
A (tanpa penggelapan)	55
B (penggelapan 1 minggu)	30
C (penggelapan 2 minggu)	30
D (penggelapan 3 minggu)	25
E (penggelapan 4 minggu)	20
F (penggelapan 5 minggu)	10

Pada perlakuan A (tanpa penggelapan) eksplan yang baru ditanam langsung ditempatkan pada ruang inkubasi yang diberi cahaya dan terjadi pencoklatan pada eksplan sebanyak 55%, pada perlakuan B pencoklatan yang terjadi menurun menjadi 30%, perlakuan C pencoklatan 30% perlakuan D turun menjadi 25%, perlakuan E persentase pencoklatan adalah 20% dan perlakuan F persentase pencoklatan menjadi hanya 10%. Jadi makin lama penggelapan maka pencoklatan yang terjadi pada eksplan semakin berkurang. Hal ini disebabkan karena pemberian penggelapan dapat mengurangi aktivitas enzim polifenol oksidase sebagai penyebab pencoklatan pada eksplan. Wattimena (1987:197) menjelaskan bahwa senyawa fenol itu akan meningkat dengan meningkatnya intensitas cahaya. Maka dengan penggelapan aktivitas senyawa fenol dapat berkurang. Sedangkan menurut Zaid (1985, dalam Nelfiyanti, 1998:3) aktivitas enzim polifenol dapat dihambat oleh auksin yang lebih banyak diproduksi dalam keadaan gelap. Namun bagaimana mekanisme penghambatan aktivitas enzim polifenol oksidase oleh auksin belum diketahui.

Pencoklatan yang terjadi erat kaitannya dengan respirasi. Dwidjoseputro (1985:146) menjelaskan bahwa jika jaringan terluka maka respirasi akan meningkat sebagai manifestasi dari aktivitas sel-sel parenkim yang berusaha menutupi luka tersebut. Di sekitar daerah yang luka terdapat lebih banyak kandungan gula dari pada tempat-tempat yang agak jauh dari luka itu. Dengan adanya kandungan gula yang lebih banyak maka respirasi meningkat. Jika respirasi meningkat maka aktivitas enzim

polifenol oksidase juga meningkat karena enzim ini merupakan enzim yang aktif dalam respirasi. Dengan demikian zat fenolik yang dihasilkan juga lebih banyak. Selanjutnya George dan Sherrington (1984:334) menyatakan bahwa senyawa fenol mempunyai efek gangguan fisiologis yang besar terhadap pertumbuhan eksplan pada perbanyakan tanaman secara *in vitro*, di mana senyawa fenol ini akan terakumulasi di sekitar jaringan parenkim eksplan dan di dalam media kultur yang menyebabkan pencoklatan.

KESIMPULAN

Berdasarkan atas hasil penelitian dan pembahasan yang telah dikemukakan, maka dapat diambil kesimpulan:

1. Penggelapan berpengaruh terhadap pencoklatan eksplan pada kultur embrio pinang sirih (*Areca catechu* L.)
2. Lama waktu penggelapan yang terbaik untuk mengurangi pencoklatan pada kultur embrio pinang sirih (*Areca catechu* L.) adalah 5 minggu.

DAFTAR KEPUSTAKAAN

- Aswandi. 2002. *Pertumbuhan Embrio Pinang Sirih (Areca catechu L.) pada Berbagai Tingkat Konsentrasi NAA dan BAP*. Skripsi. Fakultas Pertanian Universitas Andalas. Padang.
- Bridg, H. 2000. *Micropropagation and Determination of the in Vitro Stability of Annona cherimola Mill and Annona muricata L.* <http://edoc.hu-berlin.de/dissertationen/bridg-hannia-2000-03-24/HMTL/bridg.html>.
- Dwidjoseputro. 1985. *Pengantar Fisiologi Tumbuhan*. PT Gramedia. Jakarta.
- George, E.F and Sherrington, P.D. 1984. *Plant Propagation by Tissue Culture*. Exergenetics Limited. England.
- Gunawan, L.W. 1988. *Teknik Kultur Jaringan Tumbuhan*. Pusat Antar Universitas Bioteknologi Institut pertanian Bogor. Bogor.
- . 1992. *Bioteknologi Tanaman*. Pusat Antar Universitas Bioteknologi Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Nelfiyanti. 1998. *Pemberian Lama Penggelapan untuk Mengurangi Pencoklatan pada Shoot Tip Enau (Arenga pinnata (Wurmb) Merr.) yang Ditumbuhkan secara in Vitro*. Skripsi. Fakultas Pertanian Universitas Andalas. Padang.
- Pandin, D.S. dan. Rompas, T. 1994. *Karakterisasi Tanaman Pinang di Bengkulu, Sumatera Barat dan Sumatera Utara*. Buletin Balitka Vol. 7 No. 2 Balai Penelitian Tanaman Kelapa. Manado.

5/21
LEI
P.1

343/Hd/2009 - p1(1)

- Untu, Z. 1995. *Penggunaan Zat Pengatur Tumbuh pada Pembibitan Pinang*. Buletin Balitka Vol. 8 No. 2. Balai Penelitian Tanaman Kelapa. Manado.
- Wattimena, G.A. 1987. *Zat Pengatur Tumbuh*. Pusat Antar Universitas Bioteknologi Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Wiendi, N.A. Wattimena, G.A. dan. Gunawan, L.W. 1991. *Perbanyakan Tanaman*. Dalam Bioteknologi Tanaman. Pusat Antar Universitas Bioteknologi Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Yuriko, H. 2001. *Kultur Embrio Pinang Sirih (Areca catechu L.) secara in Vitro pada beberapa Tingkat Kematangan Buah*. Skripsi. Fakultas Pertanian Universitas Andalas. Padang

