

TAHAPAN STERILISASI DAN SKARIFIKASI BENIH KAYU KUKU (*Pericopsis mooniana* THW) UNTUK MEMPERCEPAT PERKECAMBAHAN SECARA *In Vitro*

Nursyamsi dan Abdul Qudus Toaha

Balai Litbang Lingkungan Hidup dan Kehutanan Makassar
Jl. P. Kemerdekaan Km 16 Makassar, Sulawesi Selatan, 90243
Telp. (0411) 554049, Fax (0411) 554058

E-mail: nursyamsianwar@yahoo.com

ABSTRAK

Kayu kuku merupakan salah satu jenis kayu mewah dan mahal harganya sehingga terjadi eksploitasi yang berlebihan yang tidak diiringi dengan penanaman kembali. Hal ini menyebabkan kayu kuku termasuk spesies flora yang rawan punah. Upaya budidaya perlu dilakukan, agar kayu kuku tidak punah antara lain melalui kultur jaringan. Faktor utama yang sangat memengaruhi keberhasilan kultur jaringan adalah sterilisasi. Eksplan yang steril dapat diperoleh melalui sterilisasi yang tepat. Keberhasilan sterilisasi dipengaruhi oleh pemilihan eksplan, cara sterilisasi dan bahan sterilan yang digunakan. Untuk eksplan benih kayu kuku perlu dipilih benih yang sehat, berwarna cerah dan tidak kisut. Bahan sterilan yang digunakan yaitu mankozeb 80%, deterjen, alkohol 70%, natrium hipoklorit 3%, tween 20 serta betadine. Sterilisasi ada yang dilakukan di luar laminar dan di dalam laminar. Untuk mempercepat perkecambahan benih kayu kuku, eksplan diskarifikasi dengan mengupas sedikit kulitnya. Informasi ini diharapkan akan menambah pengetahuan mengenai sterilisasi dan skarifikasi benih kayu kuku melalui kultur jaringan.

Kata kunci: *Sterilisasi, skarifikasi, kayu kuku (*Pericopsis mooniana* THW), kultur jaringan (in vitro)*

I. PENDAHULUAN

Kayu kuku (*Pericopsis mooniana* THW) termasuk salah satu jenis kayu mewah karena mempunyai permukaan yang licin, mengkilap dengan garis-garis dekoratif yang indah. Harga kayu kuku cukup tinggi di pasaran sehingga banyak permintaan terhadap kayu tersebut. Hal ini menyebabkan terjadi eksploitasi yang berlebihan yang tidak diiringi dengan upaya penanaman kembali. Eksploitasi yang berlebihan mengakibatkan keberadaan kayu kuku di alam sudah

mulai berkurang sehingga Lembaga *International Union for Conservation of Nature* (IUCN) menempatkan kayu kuku (*nandu wood*) sebagai spesies flora yang statusnya rawan punah. Upaya budidaya perlu dilakukan untuk mempertahankan keberadaan jenis ini, salah satunya dengan melalui kultur jaringan.

Kultur jaringan tanaman merupakan suatu metode untuk mengisolasi bagian tanaman seperti sel, jaringan dan organ kemudian menumbuhkannya menjadi tanaman utuh dalam kondisi lingkungan yang aseptik (*in vitro*). Kelebihan kultur jaringan tanaman antara lain bibit dapat diperbanyak dalam jumlah yang besar dan seragam, tidak membutuhkan tempat yang luas serta perbanyakannya tidak tergantung musim.

Salah satu faktor yang memengaruhi keberhasilan kultur jaringan adalah sterilisasi. Proses sterilisasi eksplan (bahan yang digunakan untuk kultur) merupakan kegiatan yang penting dalam kultur jaringan. Eksplan yang berasal dari lapangan banyak mengandung debu, kotoran-kotoran serta berbagai kontaminan lainnya seperti jamur dan bakteri yang perlu dihilangkan. Kontaminan-kontaminan yang melekat pada eksplan tersebut harus dibersihkan karena jika tidak dihilangkan, maka dalam media yang mengandung vitamin, karbohidrat dan berbagai mineral akan ditumbuhi jamur dan bakteri. Eksplan yang telah ditanam dalam media tersebut akan ditutupi jamur dan bakteri dalam beberapa hari, ini yang menyebabkan eksplan akan mati. Ketepatan cara sterilisasi, bahan sterilan maupun waktu sterilisasi yang digunakan akan menentukan keberhasilan proses sterilisasi yang dilakukan. Eksplan yang bebas kontaminan (eksplan yang steril) dapat diperoleh melalui sterilisasi yang tepat.

Bahan tanaman yang digunakan sebagai eksplan pada percobaan ini adalah benih kayu kuku (*Pericopsis mooniana* THW). Benih kayu kuku mempunyai kulit yang keras dan memiliki impermeabilitas yang tinggi terhadap udara dan air akibat adanya lapisan lilin pada benih (Husna, 2015). Hal ini akan menghambat perkecambahan benih kayu kuku. Untuk mempercepat perkecambahan benih kayu kuku dapat dilakukan skarifikasi.

Informasi mengenai kultur jaringan kayu kuku masih kurang sehingga dengan adanya tulisan ini diharapkan dapat menambah informasi tersebut. Dalam tulisan akan diuraikan mengenai cara pemilihan eksplan benih kayu kuku, bahan yang digunakan untuk sterilisasi (sterilan), cara sterilisasi dan cara skarifikasi benih kayu

kuku yang dapat mempercepat perkecambahan melalui kultur jaringan.

II. EKSPLAN BENIH KAYU KUKU

Benih kayu kuku yang digunakan sebagai eksplan berasal dari hasil eksplorasi pohon kayu kuku yang terdapat di Cagar Alam Lamedai Kabupaten Kolaka, Provinsi Sulawesi Tenggara. Buah kayu kuku termasuk jenis polong-polongan. Buah yang sudah masak secara fisiologis ditandai dengan buah berwarna kecokelatan dengan atau tanpa bercak putih dan hitam serta kulit buah dan bijinya mengeras (Alfaizin *et al.*, 2015).

Buah yang sudah masak fisiologis tersebut diambil dari pohonnya kemudian diekstraksi. Ekstraksi benih (pemisahan biji dari buah) dilakukan dengan cara ekstraksi kering. Buah dikering anginkan selama 2-3 hari, lalu kulit buah dikupas dan biji dikeluarkan dari kulit buah. Biji yang terkumpul disortir untuk memisahkan antara biji yang jelek dengan biji yang baik. Biji yang baik ditandai dengan biji nampak segar, tidak kisut, warna kecokelatan dan tebal serta tidak berpenyakit. Biji yang baik selanjutnya digunakan sebagai eksplan untuk kultur jaringan. Berikut foto buah kayu kuku yang masak fisiologis disajikan pada Gambar 1.a dan benih yang sudah disortir (Gambar 1.b).



Gambar 1. a). Buah yang sudah masak, b). Benih hasil sortiran
(Sumber foto: BP2LHK Makassar)

III. STERILAN (BAHAN STERILISASI)

Kegagalan dalam sterilisasi organ maupun jaringan tanaman akan menyebabkan kontaminasi. Kontaminasi pada eksplan dapat terjadi karena adanya bakteri dan jamur. Kontaminasi yang disebabkan oleh bakteri dapat diketahui dengan adanya cairan lendir berwarna putih bening yang mengelilingi daerah sekitar eksplan yang akan menghambat pertumbuhan dari eksplan tersebut. Kontaminasi yang disebabkan oleh jamur dapat diketahui dari munculnya hifa-hifa pada media atau daerah sekitar eksplan, ada yang berwarna putih, hitam, hijau dan kuning keemasan kemudian menyebar ke seluruh permukaan eksplan. Ada beberapa faktor yang menyebabkan terjadinya kontaminasi misalnya; tutup botol yang tidak rapat sehingga spora-spora jamur dapat masuk, pengerjaan di *laminar air flow cabinet* yang kurang berhati-hati dan bahan serta konsentrasi desinfektan yang kurang tepat sehingga tidak mematikan kontaminan yang terdapat pada eksplan. Kondisi seperti ini diperlukan bahan desinfektan yang cocok dengan konsentrasi yang tepat untuk mensterilisasi suatu eksplan.

Sterilan yang umum digunakan untuk sterilisasi eksplan ada beberapa macam. Pemilihan sterilan dipengaruhi antara lain jenis tanaman, bagian tanaman yang akan digunakan dan umur tanaman. Sterilan yang umum digunakan dalam kultur jaringan antara lain alkohol 70% dengan waktu perendaman 0,5-1 menit, sublimat (HgCl₂) dengan konsentrasi 0,01-0,05% dan waktu perendaman 10-20 menit (Gunawan, 1992), natrium hipoklorit (NaOCl) atau natrium hipoklorit dengan konsentrasi 1,5-20% dengan waktu perendaman 5-20 menit (Wetherell, 1982), kalsium hipoklorit atau kaporit (CaOCl), dan hidrogen peroksida (H₂O₂). Sterilan NaOCl dengan komposisi 20 ml NaOCl dicampur aquades 80 ml telah digunakan untuk mensterilisasi benih saninten (*Castanopsis argentea*) (Surya *et al.*, 2017). Selain bahan-bahan kimia tersebut, dapat juga digunakan fungisida yang mengandung zat aktif mankozeb 80% dan bakterisida.

Dari hasil percobaan yang telah dilakukan diperoleh bahan-bahan yang digunakan untuk sterilisasi benih kayu kuku yaitu mankozeb 80%, detergen, alkohol 70%, betadin, natrium hipoklorit 3% dan Tween 20. Tween 20 merupakan salah satu bahan yang ditambahkan ke dalam sterilan yang berfungsi untuk menurunkan

tegangan permukaan larutan sehingga kontak dengan tanaman menjadi lebih baik dan sterilan menjadi lebih efektif (Zulkarnain, 2009).

IV. CARA STERILISASI

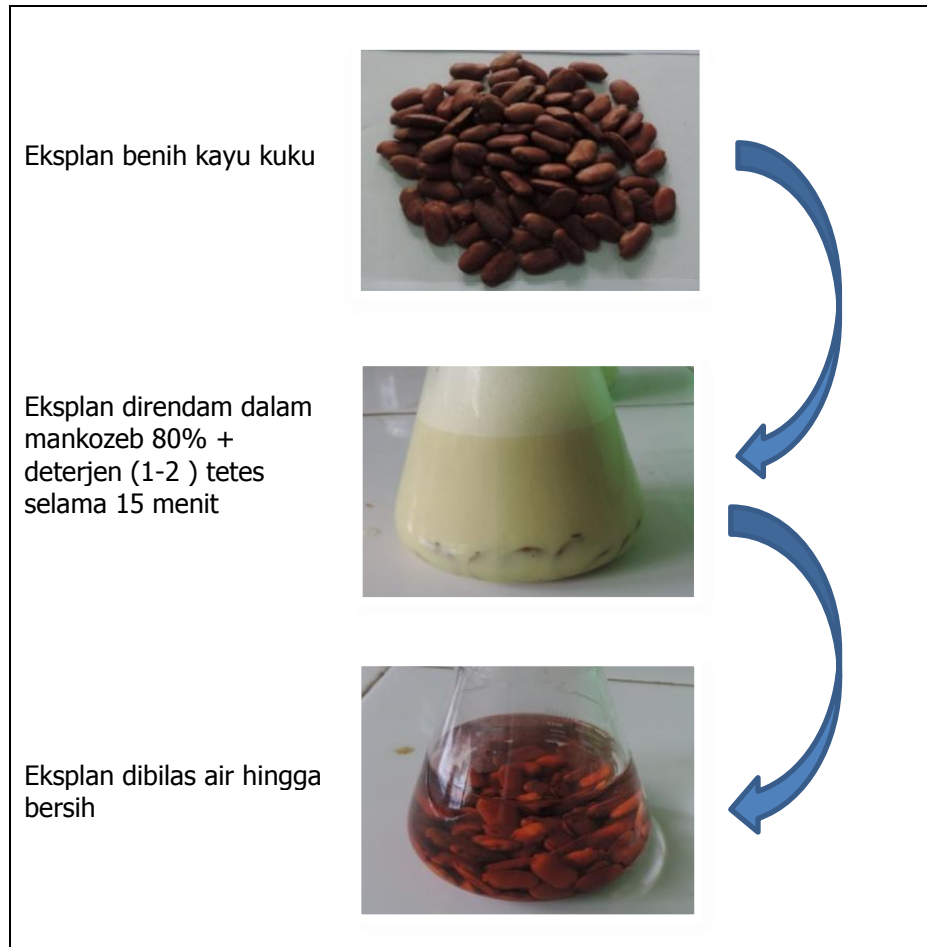
Permukaan terluar dari eksplan mengandung banyak mikroorganisme yang harus dihilangkan melalui sterilisasi permukaan eksplan. Menurut Dodds dan Lorin (1985), sterilisasi permukaan bertujuan untuk menghilangkan mikroorganisme yang dapat merusak eksplan yang akan dikulturkan. Untuk mensterilisasi permukaan sangat sulit tanpa merusak jaringan tanaman. Hal penting pada proses sterilisasi bahan tanaman bahwa sel tanaman dan sumber kontaminan sama-sama benda hidup, sehingga dalam proses sterilisasi diharapkan sel tanaman tetap hidup sedangkan sumber kontaminan dapat mati (Oyebanji *et al.*, 2009).

Cara sterilisasi eksplan secara umum dimulai dengan sterilisasi permukaan yang dilakukan di luar *Laminar Air Flow Cabinet*. Bagian-bagian eksplan yang kotor dan mati dibuang, lalu dicuci dengan menggunakan deterjen yang lembut di bawah air kran untuk memecah koloni kontaminan permukaan. Untuk mematikan spora jamur yang melekat pada eksplan, dapat digunakan mankozeb 80% yang ditambah dengan deterjen yang lembut. Adanya deterjen akan mempermudah penetrasi sterilan dan mencegah terbentuknya gelembung udara yang menutupi permukaan jaringan (Wethrell, 1982). Setelah direndam dalam mankozeb 80%, eksplan dibilas dengan air hingga bersih.

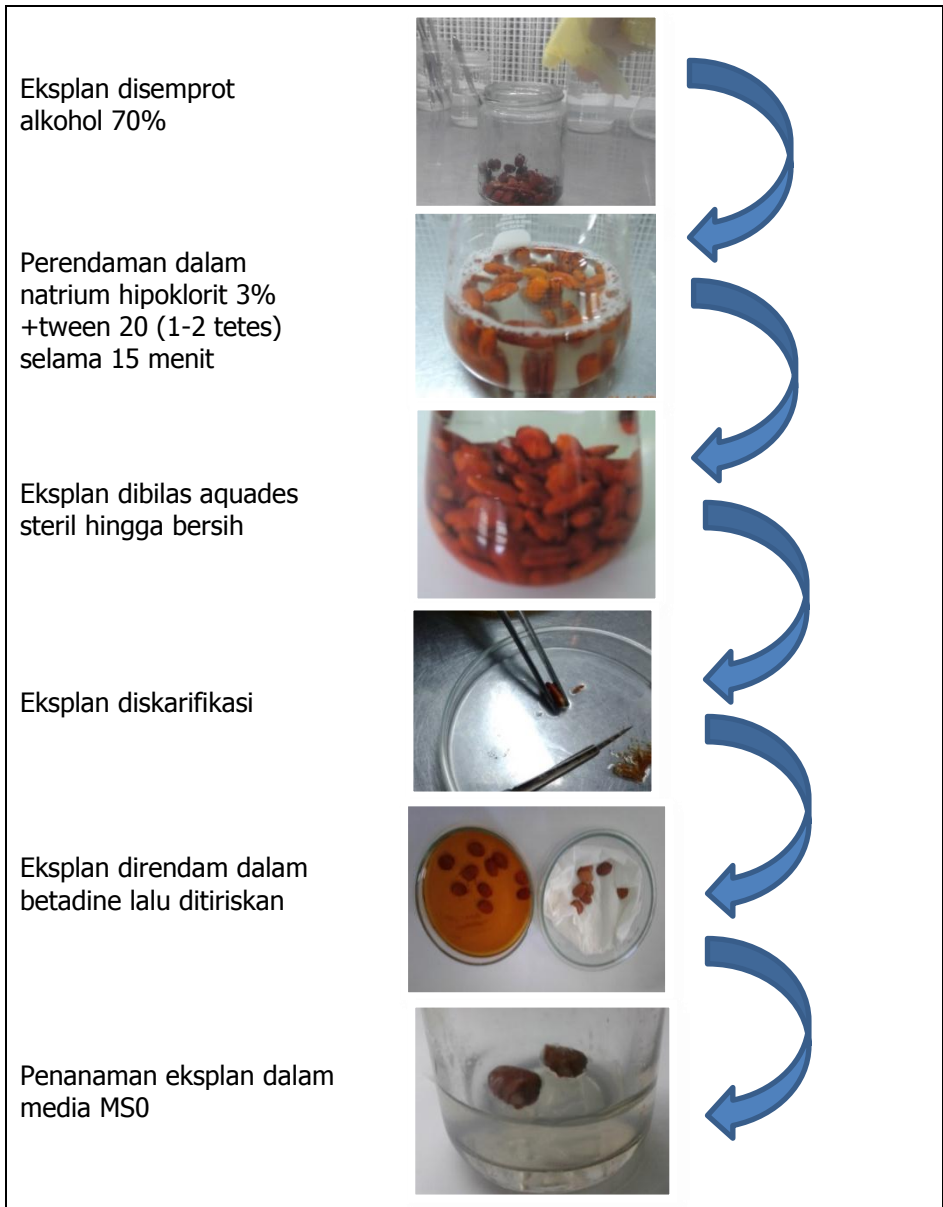
Proses sterilisasi selanjutnya dilakukan dalam *laminar air flow cabinet*. Eksplan yang telah bersih direndam dalam larutan kimia sistemik pada konsentrasi dan waktu perendaman tertentu. Dalam sterilisasi kadang-kadang lebih efektif menggunakan dua atau lebih sterilan contohnya eksplan direndam dalam alkohol 70% terlebih dulu kemudian direndam dalam HgCl₂ dan dibilas dengan aquades steril. Dapat juga dengan cara eksplan direndam dalam alkohol 70% selama 0,5-1 menit kemudian direndam dalam natrium hipoklorit selama 5-20 menit. Prosedur mana yang efektif harus ditentukan melalui percobaan pendahuluan (Gunawan, 1988).

Sterilisasi benih kayu kuku dilakukan dalam 2 tahap yaitu sterilisasi di luar laminar dan sterilisasi dalam laminar. Pada Gambar 3

dan 4 disajikan cara sterilisasi yang digunakan pada eksplan benih kayu kuku (Nursyamsi, 2016).



Gambar 2. Sterilisasi eksplan benih kayu kuku yang dilakukan di luar laminar



Gambar 3. Sterilisasi eksplan benih kayu kuku yang dilakukan di dalam laminar (Sumber foto: BP2LHK Makassar)

Eksplan benih kayu kuku yang telah ditanam pada media MS0 kemudian disimpan dalam ruang inkubasi. Setelah 2-3 hari, eksplan akan mengeluarkan senyawa fenolik yang menyebabkan media berwarna coklat (*browning*) dan kulit benih berwarna kehitaman akibat pelukaan yang dilakukan pada eksplan. Eksplan sebaiknya dipindahkan ke media baru agar tidak menghambat perkecambahan. Pada Gambar 4 disajikan *browning* yang terjadi pada media eksplan dan Gambar 5 menyajikan eksplan yang telah dipindahkan ke media baru.



Gambar 4. *Browning* yang terjadi pada media
(Sumber foto: BP2LHK Makassar)

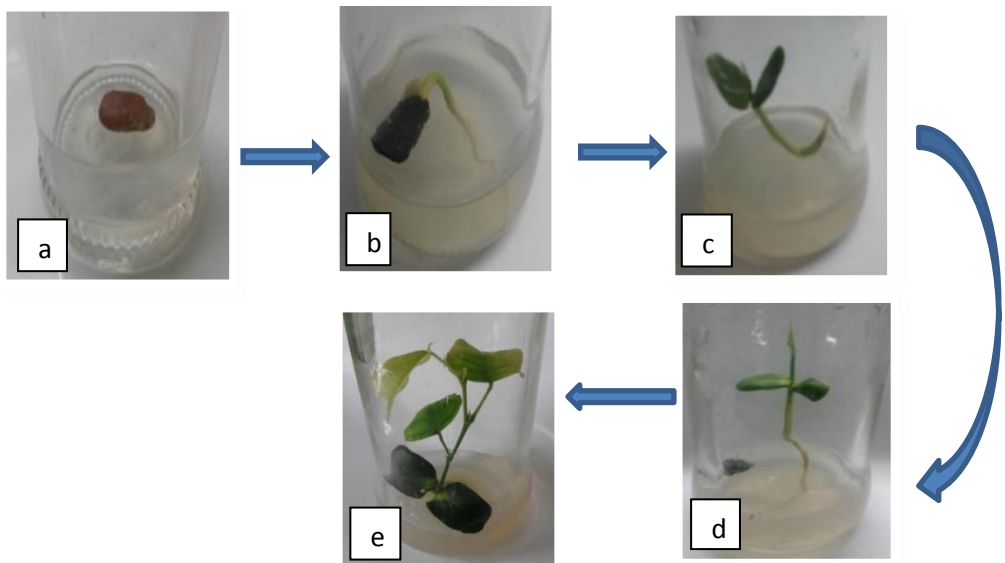


Gambar 5. Eksplan yang telah dipindahkan ke media baru (Sumber foto: BP2LHK Makassar)

V. SKARIFIKASI PADA BENIH UNTUK MEMPERCEPAT PERKECAMBAHAN

Skarifikasi adalah pemecahan kulit biji dengan tujuan untuk melunakkan kulit benih yang keras, sehingga menjadi permeabel terhadap air dan gas (Sutopo, 2002). Skarifikasi pada eksplan benih kayu dilakukan dengan cara mengupas sedikit kulit eksplan sehingga air, udara dan unsur-unsur hara yang terdapat dalam media dapat diserap oleh benih. Air, udara dan unsur-unsur hara tersebut akan digunakan oleh benih untuk mempercepat perkecambahannya.

Dari hasil pengamatan yang telah dilakukan pada eksplan, nampak jika tidak dilakukan skarifikasi maka benih membutuhkan waktu yang lama untuk dapat berkecambah. Perkecambahan terhambat karena kulitnya keras dan adanya lapisan lilin. Eksplan yang diskarifikasi dapat mempercepat perkecambahan karena dengan adanya luka yang dibuat pada eksplan, maka air dan lainnya dapat berimbibisi ke dalam benih. Perkecambahan eksplan benih kayu yang diskarifikasi terjadi kurang lebih 6 hari setelah tanam (Nursyamsi, 2016) sedangkan yang tidak diskarifikasi membutuhkan waktu lebih lama yaitu paling cepat 3 bulan setelah tanam. Selain membutuhkan waktu yang lama, perkecambahannya juga tidak serempak. Persentase kecambah benih kayu kuku melalui kultur jaringan dengan perlakuan tersebut lebih tinggi yaitu 90% dibandingkan jika dkecambahkan secara konvensional dengan perlakuan perendaman air panas pada suhu 80°C yaitu 66% (Alfaizin *et al.*, 2015). Hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Sandi *et al.* (2014), benih kayu kuku yang direndam air panas dengan suhu 80°C selama 48 jam menghasilkan persentase kecambah yang lebih rendah yaitu 28%. Pada Gambar 6 disajikan tahap perkecambahan benih kayu kuku secara *in vitro*.



Gambar 6. Tahap perkecambahannya benih kayu kuku secara *in vitro*. a). Benih yang baru ditanam, b). Benih mulai keluar hipokotilnya, c). Kotiledon terbuka, d). Daun mulai terbentuk, e). Benih berkecambah dengan sempurna.

VI. KESIMPULAN

Benih kayu kuku yang berasal dari Cagar Alam Lamedai dapat disterilkan dan dipercepat perkecambahannya melalui kultur jaringan. Persentase perkecambahannya 90% dapat diperoleh dengan cara pemilihan eksplan benih. Biji yang nampak segar, tidak kisut, warna kecokelatan dan tebal serta tidak berpenyakit. Bahan-bahan yang digunakan untuk sterilisasi benih kayu kuku di luar laminar yaitu mankozeb 80%, detergen, dan alkohol 70%. Bahan yang digunakan pada waktu sterilisasi di dalam laminar yaitu betadine, natrium hipoklorit 3% dan Tween 20. Untuk mempercepat perkecambahan benih kayu kuku dapat dilakukan skarifikasi dengan cara mengupas sedikit kulitnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Alfaizin, D., Suhartati., Kurniawan, E. 2015. Benih dan Perkecambahan Kayu Kuku (*Pericopsis mooniana* THW). Info Teknis Eboni 13 (1): 1-11.
- Dodds JH, Robert LW. 1985. Experiment in Plant Tissue Culture. 2nd editon. New York (US): Cambridge University Press.
- Gunawan, L.W. 1992. Teknik Kultur Jaringan Tumbuhan. Bogor: Pusat Antar Universitas (PAU) Bioteknologi IPB Bogor.
- Gunawan, L.W. 1988. Teknik Kultur Jaringan. Lab. Kultur Jaringan Tanaman Depdikbud Dirjen Dikti, PAU Bioteknologi, IPB Bogor.
- Husna, 2015. Budidaya dan Konservasi Kayu Kuku. IPB Press. Bogor.
- Nursyamsi, 2016. Efektivitas Sterilisasi dan Perlakuan pada Benih Terhadap Perkecambahan Kayu Kuku. Prosiding seminar nasional biologi 2016. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, UNHAS. Makassar.
- Oyebanji OB, Nweke O, Odebunmi O, Galadima NB, Idris MS, Nnodi UN, Afolabi AS, Oghadu GH. 2009. Simple, Effective And Economical Explant-Surface Sterilization Protocol For Cowpea, Rica, And Sorghum Seeds. African Journal of Biotechnology 8(20):5395-5399.
- Sandi, A.L.I, Indriyanto, Duryat. 2014. Ukuran Benih Dan Skarifikasi dengan Air Panas Terhadap Perkecambahan Benih Pohon Kuku (*Pericopsis Mooniana*). Jurnal Sylva Lestari 2(3): 83-92.
- Surya, M.I., N.I. Kurnita, L. Setyaningsih, L. Ismain, Z. Muttaqin. 2017. Perbanyak Castanopsis argentea secara *in vitro*. ProsidingPROS SEM NAS MASY BIODIV INDON 3(1): 10-15.
- Sutopo, L. 2002. Teknologi Benih. Buku. PT Raja Grafindo Persada.
- Wetherell, D. F. 1982. Pengantar Propagasi Tanaman secara In Vitro. Koensomardiyah S. SU, penerjemah; Semarang: IKIP Semarang Press. Terjemahan dari: Introduction to In Vitro Propagation.
- Zulkarnain, H. 2009. Kultur jaringan Solusi Perbanyak Tanaman Budidaya. Bumi Aksara. Jakarta.

