



# **Analisis Pengaruh Konsentrasi Pemberian Fungisida Benomil Terhadap Sterilisasi Kultur Jaringan Ruas Batang Tanaman Jeruk Tawangmangu**

**Syafira Maharani<sup>1\*</sup>, Norman Yoshi Haryono<sup>2</sup>, Baiq Dina Mariana<sup>1</sup>**

1) Prodi Bioteknologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Malang, Indonesia.

2) Balai Penelitian Tanaman Jeruk dan Buah Subtropika (Balitjestro), Indonesia

\*Penulis korespondensi, Surel: [syafira.maharani.1903436@students.um.ac.id](mailto:syafira.maharani.1903436@students.um.ac.id)

## **Abstrak**

Varietas jeruk keprok Tawangmangu perlu dipertahankan kemurniannya sekaligus dikembangkan untuk menjaga sumber jeruk genetik dan mencukupi pemenuhan kebutuhan jeruk nasional. Salah satu usaha yang dilakukan untuk mendapatkan benih bermutu yaitu dengan melakukan pemurnian dengan kultur jaringan. Penyediaan eksplan yang bebas dari kontaminasi pada tahap awal kegiatan kultur memiliki peranan penting untuk keberhasilan kegiatan. Metode sterilisasi yang digunakan dengan cara yang tepat, konsentrasi bahan sterilan, dan waktu sterilisasi yang digunakan akan menentukan keberhasilan proses sterilisasi. Kegiatan ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi fungisida Benomil dan waktu perendaman pada saat sterilisasi, untuk mengurangi kontaminasi eksplan pada saat sterilisasi. Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah eksperimen laboratorium dengan melakukan beberapa perlakuan terhadap eksplan. Perbandingan konsentrasi ada 4 perlakuan yang ditulis dengan A, B, C, dan D. Perlakuan A sebanyak 0,3 gr untuk 150 ml aquades steril (0,20%), perlakuan B sebanyak 0,4 gr untuk 150 ml aquades steril (0,26%), perlakuan C sebanyak 0,5 gr untuk 150 ml aquades steril (0,30%), dan perlakuan D sebanyak 0,6 gr untuk 150 ml aquades steril (0,40%). Berdasarkan hasil pengamatan yang dilakukan menunjukkan bahwa perlakuan D memiliki tingkat munculnya kontaminasi eksplan yang rendah. Konsentrasi Benomil sebanyak 0,40 % (g/l) sangat efektif untuk menekan jumlah kontaminasi yang muncul pada eksplan, sehingga cocok pada tahap sterilisasi.

Kata kunci : Jeruk keprok Tawangmangu, fungisida Benomil, dan Benstar.

## **1. Pendahuluan**

Di Indonesia, tanaman jeruk keprok memiliki daya tarik tersendiri dalam masyarakat. Jeruk ini memiliki buah berwarna oranye dengan rasa yang asam manis membuatnya banyak diminati. Salah satu varietas jeruk keprok lokal yang dimiliki Indonesia adalah jeruk keprok Tawangmangu. Jeruk keprok Tawangmangu (*Citrus reticulata* var *Tawangmangu*) merupakan salah satu komoditas hortikultura yang dulu sangat terkenal dan menjadi primadona unggulan di Kabupaten Karanganyar [1]. Jeruk keprok ini memiliki ciri khas yakni kulit buah ketika matang berwarna oranye dan memiliki rasa yang manis dan aroma yang khas. Varietas jeruk keprok ini berkualitas cukup baik, kulit buah mudah dikupas, penampilan buah menarik, dan rasa manis.

Masalah utama yang banyak dihadapi adalah populasinya semakin menyusut dikarenakan beberapa faktor antara lain hama dan penyakit tanaman, campur tangan manusia, serta faktor lingkungan. Petani jeruk saat ini sulit mendapatkan tanaman jeruk yang sehat dan berproduksi cepat [2]. Penyebabnya yaitu penyakit Citrus Vein Phloem Degeneration (CVPD) yang merupakan penyebab utama rendahnya produktivitas tanaman jeruk [3]. Salah satu solusi yang dapat dilakukan agar dapat memiliki varietas unggul seperti induk adalah mengupayakan perbenihan jeruk dengan kultur jaringan dari ruas batang jeruk yang sehat.

Varietas jeruk keprok Tawangmangu perlu dipertahankan kemurniannya sekaligus dikembangkan untuk menjaga sumber jeruk genetik dan mencukupi pemenuhan kebutuhan

jeruk nasional. Untuk itu, diperlukan benih jeruk yang berkualitas yang merupakan salah satu penentu keberhasilan budidaya jeruk. Salah satu usaha yang dilakukan untuk mendapatkan benih bermutu yaitu dengan melakukan pemurnian dengan kultur jaringan. Kultur jaringan adalah suatu cara untuk memperbanyak tanaman dari bagian tanaman itu sendiri menjadi tanaman lengkap dalam kondisi yang aseptik dan terkendali [4]. Eksplan yang digunakan pada kultur jaringan tanaman berpengaruh terhadap pertumbuhan kalus dan tunas selain faktor media [5]. Kalus yang berasal dari eksplan jaringan muda ukuran selnya lebih besar, laju pertumbuhannya tinggi dan lebih mudah menghasilkan sel-sel baru bila dibandingkan dengan kalus yang berasal dari jaringan dewasa. Sehingga pada penelitian ini digunakan eksplan yang berasal dari ruas batang muda jeruk Tawangmangu.

Penyediaan eksplan yang bebas dari kontaminasi pada tahap awal kegiatan kultur memiliki peranan penting untuk keberhasilan kegiatan. Metode sterilisasi yang digunakan dengan cara yang tepat, konsentrasi bahan sterilan, dan waktu sterilisasi yang digunakan akan menentukan keberhasilan proses sterilisasi. Kombinasi bahan sterilan dan waktu perendaman yang tepat merupakan salah satu faktor yang menentukan keberhasilan sterilisasi [6]. Kegiatan sterilisasi merupakan upaya yang dilakukan dalam rangka mencegah dan menghindari kontaminasi, dan kegiatan ini hal mutlak yang harus dilakukan dalam berbagai rangkaian kegiatan kultur in vitro [7]. Bahan sterilan yang digunakan antara lain larutan fungisida Benomil, sodium hipoklorit (Clorox), detergen, dan alkohol 10%. Berdasarkan penelitian sebelumnya, penggunaan fungisida seperti Benomil, yang dilakukan dengan meningkatkan konsentrasi dan menambahkan waktu perendaman dapat cukup baik untuk menurunkan presentase eksplan yang terkontaminasi.

Tingginya kontaminasi merupakan salah satu permasalahan yang sering kali ditemui dalam kultur jaringan [8]. Jaringan Eksplan yang masih muda tidak hanya rentan terhadap kontaminasi tetapi juga terdapat kerusakan akibat bahan sterilan yang bersifat toksik sehingga konsentrasi dan waktu perendaman eksplan dengan bahan sterilan harus benar-benar diperhatikan. Kegiatan ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi fungisida Benomil dan waktu perendaman pada saat sterilisasi, untuk mengurangi kontaminasi pada eksplan.

## **2. Metode**

### **2.1. Bahan Percobaan**

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah plantet dari tanaman jeruk keprok Tawangmangu, bahan untuk sterilisasi peralatan (alkohol 70%, alkohol 96%), sterilisasi eksplan (detergen, fungisida Benstar (Benomil 50%), alkohol 10%, kloroks 10%), spiritus, media tumbuh MS (Murashige dan Skoog), myo-inositol, gula, agar, aquades, dan NaOH.

### **2.2. Alat Percobaan**

Alat yang digunakan pada penelitian ini terdiri dari alat-alat untuk kultur in vitro diantaranya timbangan analitik, gelas ukur, beaker glass, labu ukur, pH meter, autoclave, panci, magnetic stirrer, kompor dan tabung gas, spatula, botol kultru, pengaduk, Laminar Air Flow (LAF), scapel, cawan petri, bunsen, kertas saring, kertas label, bulpen, tissue, plastic wrap, pinset, kamera HP.

### **2.3. Prosedur Membuat Media MS**

Bubuk Myo-inositol, MS, dan gula dimasukkan kedalam 1 liter aquades steril. Kemudian dilakukan pengadukan dengan magnetic stirrer hingga homogen. Selanjutnya larutan diukur

kadar pH nya menggunakan pH meter. Larutan media ditambahkan NaOH hingga mencapai pH 5,7. Nilai pH 5,7. Ditambahkan agar sebanyak 13gr, apabila pemberian konsentrasi agar tinggi maka media menjadi kaku. Selanjutnya media dimasak hingga semua komposisi benar-benar larut. Media yang sudah matang dibagi kedalam sebanyak 50 wadah botol kultur berukuran 250ml. Masing-masing botol diisi 20ml media cair. Botol kultur ditutup dengan tutup botol atau plastic wrap dengan diikat karet gelang. Botol-botol kultur yang sudah siap selanjutnya disterilkan dengan autoklaf selama 10 menit dengan suhu 120oC hingga mencapai tekanan mencapai 1 atm. Botol kultur dikeluarkan dan kemudian dikeringkan di dalam ruangan kultur. Media steril disimpan pada suhu ruangan dan siap dipakai.

#### **2.4. Prosedur Pengambilan Sampel**

Penelitian ini dilakukan menggunakan metode eksperimental labolatorium dengan melakukan beberapa perlakuan terhadap eksplan. Tahapan yang dilakukan dalam penelitian ini yaitu, yang pertama adalah pengambilan sampel ruas batang muda jeruk di Instalasi Penelitian dan Pengkajian Teknologi (IP2TP) Tlekung Balitjestro. Sampel ruas batang muda diambil dengan menggunakan gunting taman kecil, kriteria ruas batang muda yang dibutuhkan adalah batang masih lunak dan biasanya ditemukan di ujung batang baru. Kemudian setelah itu dibawa ke dalam laboratorium untuk dilakukan sterilisasi.

#### **2.5. Prosedur Sterilisasi**

Pencucian pertama dengan menggunakan larutan detergen tujuannya agar menghilangkan lemak dan debu yang menempel pada ruas batang muda. Pencucian dilakukan dalam wadah botol dan eksplan direndam dan ditutupi dengan kain kasa. Eksplan selanjutnya dialiri air mengalir pada botol kultur yang telah ditutupi kain kasa selama 30 menit. Tujuannya agar larutan detergen benar-benar menghilang dan tidak menempel lagi pada batang daun muda jeruk.

Selanjutnya membuat larutan fungisida Benomil dengan dilarutkan ke dalam 150 ml aquades steril. Pada penelitian ini menggunakan fungisida Benomil dengan merk Benstar. Takaran bubuk fungisida Benstar yang digunakan sesuai dengan perlakuan yang dilakukan, dapat dilihat pada Tabel 1. Ruas batang jeruk yang sudah dicuci direndam ke dalam larutan fungisida Benstar selama 40 menit.

Fungisida Benstar adalah fungisida dengan bahan aktif yang dapat mengkontaminasi eksplan tanaman dan media kultur. Fungisida Benomil Benstar termasuk fungisida dengan golongan bahan aktif dari bentolyn. Sehingga fungisida Benomil Benstar ini mampu menekan pertumbuhan kontamin pada eksplan dan media kultur [9]. Proses pembuatan dan sterilisasi media juga menjadi faktor penting dalam mendukung keberhasilan kultur jaringan tanaman karena media tumbuh dan eksplan paling rentan terhadap kontaminasi mikroorganisme [10].

Tahapan selanjutnya adalah melakukan pengerjaan di dalam Laminar Air Flow (LAF). LAF, alat, dan botol yang berisi eksplan disterilisasi dengan menyemprotkan alkohol 76%. Larutan Cloroxs 10% (ml/ml) dan larutan alkohol 10% (ml/ml) disiapkan di dalam beaker glass. Ruas batang dipotong menjadi kecil-kecil dan disesuaikan dengan mata tunasnya. Eksplan dimasukkan ke dalam larutan Cloroxs 10% selama 5 menit kemudian dibilas menggunakan air aquades steril sebanyak 3 kali pembilasan. Selanjutnya dimasukkan ke dalam larutan alkohol 10% selama 5 menit dan dibilas menggunakan air aquades steril sebanyak 3 kali. Setelah itu eksplan ditiriskan dengan kertas saring di dalam LAF.

### **2.6. Prosedur Penanaman/ Inisiasi Eksplan**

Penanaman atau inisiasi eksplan pada media dilakukan secara aseptik di dalam LAF dengan menggunakan peralatan diseksi (pinset dan gunting) [11]. Tahap penanaman eksplan dilakukan secara aseptik di dekat api bunsen [12]. Selain itu, peralatan yang akan digunakan sebelum dan sesudah digunakan disemprot terlebih dahulu dengan alkohol 70%. Eksplan yang sudah disterilkan dimasukkan kedalam botol kultur yang berisi media sesuai dengan perlakuan dengan posisi eksplan ditegakkan pada media [13]. Masing-masing perlakuan menggunakan 4 botol sebagai ulangan dan ditanam sebanyak 4 eksplan setiap botol. Satu wadah botol kultur ditanam 4 tunas untuk meminimalisir terjadinya kontaminasi. Botol kultur ditutup kemudian diberi plastic wrap agar kedap udara dan disimpan di dalam ruangan kultur yang suhunya dipertahankan antara 16-18 oC. Penyinaran menggunakan lampu neon dengan ketinggian 20 cm dari botol kultur. Pengamatan pertumbuhan dan perkembangan eksplan dilakukan setiap 3 hari sekali selama 4 minggu.

### **3. Hasil dan Pembahasan**

Pada penelitian ini variabel yang diamati meliputi persentase kontaminasi, differensiasi morfologi eksplan, waktu pertama kontaminasi muncul, dan browning. Berdasarkan hasil pengamatan yang dilakukan, waktu pertama kontaminasi muncul menunjukkan variasi waktu yang beragam. Waktu yang diperoleh bervariasi dengan waktu diantara dua minggu awal (minggu pertama dan kedua) dan dua minggu terakhir (minggu ketiga dan keempat) setelah melakukan penanaman di media MS hingga kontaminasi muncul. Dari variasi waktu tersebut dikelompokkan menjadi 2 jenis variasi sumber kontaminasi yakni kontaminasi eksternal dan kontaminasi internal. Kontaminasi eksternal disebabkan oleh mikroorganisme yang berasal dari luar eksplan. Respon kontaminasi eksternal ini sangat cepat karena mikroorganisme berada di permukaan eksplan. Salah satu cara untuk mengatasi kontaminasi eksternal ini dengan menggunakan kombinasi bahan sterilan. Kontaminasi eksternal dengan jenis kontaminasi yang muncul pada hari ke 1-13 atau selama 2 minggu setelah penanaman. Kontaminasi internal disebabkan oleh mikroorganisme yang berasal dari eksplan yang tumbuh dan berkembang di dalam media. Pertumbuhan dan perkembangan mikroorganisme internal biasanya muncul diatas 2 minggu atau pada hari ke 14-30. Data hasil pengamatan waktu pertama kontaminasi muncul dapat dilihat pada Tabel 2.

Dari data tabel diatas terlihat bahwa waktu pertama kontaminasi muncul dari masing-masing perlakuan sterilisasi berbeda-beda. Ada 2 faktor yang terjadi munculnya kontaminasi yakni faktor eksternal dan internal. Faktor eksternal diantaranya kondisi botol kultur tidak kedap udara sehingga memungkinkan masuknya udara yang membawa bakteri atau fungi kedalam botol. Faktor internal bisa disebabkan karena kurang optimal pada saat proses sterilisasi dan ketika melakukan inisiasi eksplan ke dalam botol kultur kurang aseptik, sehingga eksplan dapat terkontaminasi. Jenis-jenis kontaminasi yang muncul pada eksplan dapat dilihat pada Gambar 1.

Berdasarkan pengamatan yang dilakukan rata-rata pada perlakuan A dan B mengalami kontaminasi pada faktor eksternal atau diantara waktu 2 minggu penanaman. Perlakuan C hanya sebagian yang mengalami kontaminasi dan perlakuan D tidak mengalami kontaminasi hingga waktu akhir penelitian (selama 30 hari), dapat dilihat pada Gambar 15. Pemberian konsentrasi fungisida Benomil pada perlakuan D sebanyak 0,4% (gr/l) dengan waktu perendaman selama 40 menit. Hal ini membuktikan bahwa konsentrasi fungisida Benomil pada saat sterilisasi sangat berpengaruh terhadap munculnya kontaminasi pada eksplan. Fungisida Benomil bekerja membunuh bakteri dan fungi secara sistemik pada jaringan

eksplan. Karena bahannya terdistribusi dalam jaringan transportasi tumbuhan xylem maupun floem, kemudian fungisida akan masuk ke dalam metabolisme tumbuhan, sehingga dapat secara efektif membunuh bakteri dan fungi yang dibawa oleh eksplan.

Persentase kontaminasi diamati berdasarkan banyaknya eksplan dalam botol kultur yang terkontaminasi, dalam setiap botol kultur terdapat 4 eksplan. Berdasarkan pengamatan yang dilakukan persentase kontaminasi pada setiap minggunya meningkat. Data persentase kontaminasi eksplan pada setiap botol kultur disajikan dalam Tabel 3. Kemudian rata-rata semua botol pada setiap minggu dibuat dalam grafik yang dapat dilihat pada Gambar 2.

Berdasarkan data pengamatan di atas, persentase kontaminasi pada setiap perlakuan berbeda-beda. Pada setiap minggu botol eksplan yang terkena kontaminasi akan terus menyebar sehingga meningkatkan jumlah persentase eksplan yang terkena kontaminasi. Konsentrasi pemberian fungisida Benomil yang rendah memiliki jumlah persentase kontaminasi yang tinggi, sedangkan konsentrasi pemberian fungisida yang tinggi memiliki jumlah persentase kontaminasi yang rendah. Pada grafik diatas jumlah eksplan yang terkena kontaminasi pun juga mengalami penurunan pada perlakuan D. Perlakuan D dengan pemberian konsentrasi fungisida Benomil 0,4% (gr/l) terbukti dapat membuat eksplan tidak terkena kontaminasi baik fungi ataupun bakteri.

Kontaminasi disebabkan masuknya unsur lain yang tidak diharapkan, bersifat parasit dan mengganggu pertumbuhan eksplan. Kontaminasi oleh jamur atau fungi ditandai dengan munculnya benang-benang halus berwarna putih yang merupakan miselium fungi. Eksplan yang terpapar fungi akan menginfeksi jaringan eksplan secara sistemik. Akibatnya lama kelamaan akan menyebabkan jaringan eksplan akan mati. Kontaminasi oleh fungi biasanya disebabkan oleh *Rhizopus* sp. dan *Mucor* sp. Ciri-ciri eksplan terkontaminasi fungi, eksplan akan lebih kering dan muncul hifa fungi dengan munculnya garis-garis seperti benang yang berwarna putih hingga abu-abu. Kontaminasi yang disebabkan oleh bakteri ditandai dengan munculnya lendir pada media atau eksplan. Bercak lendir biasanya berwarna putih yang merupakan koloni bakteri. Eksplan yang terkontaminasi bakteri akan basah atau berlendir, dikarenakan bakteri akan langsung menyerang terhadap jaringan eksplan. Kontaminasi bakteri biasanya disebabkan oleh *Agrobacterium* sp., *Bacillus* sp., *Staphylococcus* sp., dan *Pseudomonas* sp [14]. Perbedaan pemberian konsentrasi fungisida Benomil tidak berpengaruh nyata terhadap differensiasi morfologi eksplan pada umur 1,2,3, dan 4 minggu. Namun morfologi secara kasat mata dapat terlihat, yakni eksplan yang masih hidup berwarna hijau segar. Morfologi eksplan yang hidup diamati pada berdasarkan 3 klasifikasi pengamatan, yang disajikan pada Tabel 4.

Hasil pengamatan yang dilakukan selama 30 hari menunjukkan keberhasilan eksplan untuk hidup atau tumbuh mengalami peningkatan terhadap perlakuan D. Konsentrasi fungisida Benomil (Benstar) sebanyak 0,4% (gr/l) membuat eksplan mengalami pertumbuhan yang lebih baik dari perlakuan A,B, dan C. Pertumbuhan eksplan setelah diatas satu minggu dari penanaman akan terlihat. Penampakan secara kasat mata eksplan tetap berwarna hijau segar serta tidak mengalami browning. Kondisi eksplan pada saat diakhir penelitian pada perlakuan D masih tetap hijau segar dan menunjukkan eksplan sudah dapat beradaptasi dengan baik pada lingkungan baru. Pada minggu terakhir pengamatan eksplan pada botol perlakuan D, nodus mengalami pemanjangan namun masih belum muncul tunas baru. Pada hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa perlakuan teknik sterilisasi berpengaruh nyata terhadap parameter jumlah eksplan browning, tetapi perlakuan komposisi media dan interaksi keduanya tidak berpengaruh nyata terhadap parameter tersebut [15]. Pada

pengamatan yang dilakukan selama satu bulan, fenomena browning muncul pada eksplan di minggu ke 3 setelah penanaman. Data browning pada setiap botol kultur dapat dilihat pada Tabel 5.

Hasil dari beberapa perlakuan konsentrasi fungisida Benomil pada saat sterilisasi yang dilakukan menunjukkan pengaruh yang nyata terhadap parameter jumlah eksplan browning. Pada perlakuan D semua eksplan sejak awal penanaman hingga akhir penelitian masih terlihat berwarna hijau segar tanpa adanya brownig. Pada perilaku A,B,dan C masih ada beberapa eksplan yang mengalami browning. Eksplan yang mengalami browning berasal dari eksplan yang masih muda sehingga ketika diberi perlakuan sterilasi jaringan yang ada didalam eksplan menjadi mati, dapat dilihat pada Gambar 3. Sel-sel eksplan yang masih hidup dengan tingkat browning yang sedikit ada kemungkinan untuk tumbuh, adaptasi yang dilakukan oleh eksplan didalam media membuat eksplan masih tetap tumbuh.

Salah satu cara yang dapat dilakukan untuk mengatasi browning dengan melakukan subkultur ke media padat yang dilengkapi dengan pemberian arang aktif dan vitamin C kemudian ditempatkan diruang inkubasi dengan pencahayaan gelap dan terang untuk mengatasi browning pada eksplan, sehingga inisiasi regenerasi secara in vitro dapat tercapai dengan optimal. Mekanisme melakukan subkultur dengan menindahkan eksplan yang belum terkontaminasi dengan fungi atau bakteri dalam satu botol, dapat dilihat pada Gambar 4. Botol eksplan yang terkontaminasi tidak boleh digoyang-goyang atau dimiringkan karena akan membuat cairan kontam yang ada didalam botol dapat mengenai eksplan yang masih sehat.

Menurut penelitian sebelumnya mengatakan bahwa metode untuk mengatasi pencokelatan (browning) dengan menggunakan arang aktif sebagai adsorben dan vitamin C sebagai antioksidan. Batas eksplan dapat dilakukan subkultur adalah ketika eksplan tidak sepenuhnya mengalami browning namun pada saat eksplan masih ada bagian yang hijau. Eksplan yang seluruhnya mengalami browning tidak perlu dilakukan sub kultur karena jaringannya sudah mati.

### **3.1. Mekanisme Senyawa Benomil pada Saat Sterilisasi**

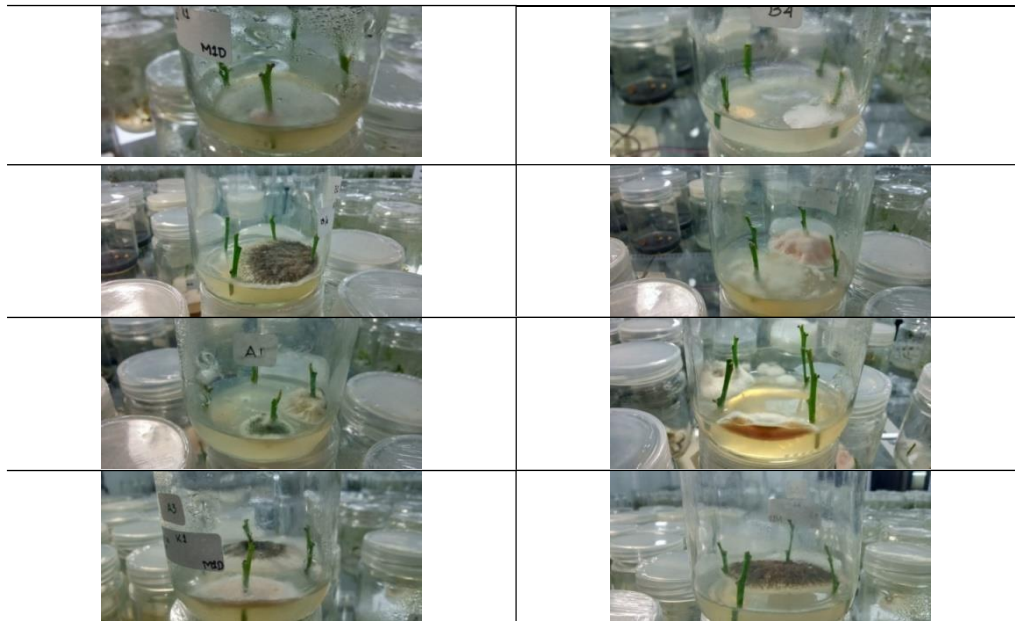
Berdasarkan penelitian yang dilakukan, terbukti bahwa fungisida Benomil dapat secara efektif digunakan pada saat sterilisasi eksplan. Benomil termasuk dalam kelas senyawa organik yang dikenal sebagai ester asam 2-benzimidazolilkarbamat. Ini adalah senyawa heteropolisklik aromatik yang mengandung gugus ester asam karbamat, yang terikat-N dengan atom C2 dari bagian benzimidazol, dapat dilihat pada Gambar 5. Benomil adalah benzimidazol karbamat yang banyak digunakan sebagai fungisida sistemik dalam pertanian dan perkebunan. Benomil dimetabolisme terutama menjadi carbendazim, yang merupakan senyawa yang lebih beracun. Mekanisme Benomil dan metabolitnya carbendazim melindungi tanaman terhadap jamur. Di dalam metabolisme jaringan sel, Benomil yang memiliki sistem cincin benzimidazole ini telah diakui secara klinis sebagai antivirus, antihistamin, dan antibakteri. Tahapan awal yang terjadi adalah eksplan terendam dalam larutan Benomil, kemudian Benomil terserap oleh jaringan tanaman bersama dengan proses metabolisme tanaman. Di dalam eksplan, Benomil dimetabolisme melalui hidrolisis dan fotolisis pada tanaman. Fungisida ini membunuh sel pada jamur patogen selama mitosis dengan mendistorsi gelendong mitosis. Peristiwa toksisitas Benomil yang terjadi adalah peluruhan fisik jamur atau zat patogen yang menempel atau ada pada eksplan. Ini dengan cepat diikuti dengan hilangnya kontaminan lain dalam jaringan eksplan seperti bakteri dan zat patogen lain. Benomil dan carbendazim menghambat perakitan mikrotubulus pada jamur sambil membiarkan

mikrotubulus tanaman tidak terluka. Bahan aktif Benomil bersifat eradikan (menghilangkan) dengan menghambat pertumbuhan miselium sebelum atau setelah infeksi [16].

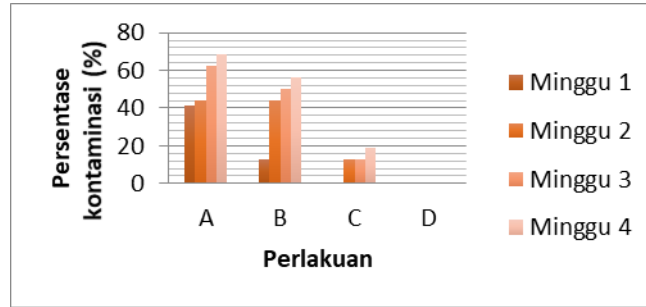
Benomil termasuk dari kelas fungisida benzimidazol. Benzimidazole berpengaruh pada pembelahan inti dengan mengikat mikrotubulus sehingga benang gelendong tidak terorganisir [17]. Golongan benzimidazol adalah fungisida yang dapat menghambat sintesa beta tubulin. Berfungsi menghambat pertumbuhan jamur dengan menghambat polimerasi mikrotubulus dengan cara berikatan dengan beta tubulin sehingga menghambat perakitan mikrotubulus pada jamur. Mikrotubulus tersusun atas polimer dari dimer alfa dan beta tubulin, ia menunjukkan polaritas karena satu ujungnya bisa  $\alpha$ -tubulin (ujung -) dan ujung lainnya,  $\beta$ -tubulin (ujung +). Bentuk mikrotubulus dari polimerisasi dua jenis protein globular (terutama  $\alpha$ - dan  $\beta$ -tubulin) membentuk filamen linier yang disebut protofilamen. Mikrotubulus memiliki peran struktural utama dalam silia eukariotik dan flagela.

Benomil akan berikatan dengan subunit  $\beta$ -tubulin (positif), dapat dilihat pada Gambar 4. Benomil bertindak dengan mengikat mikrotubulus jamur sehingga ikatan mikrotubul menjadi tidak terorganisir dan menghentikan pertumbuhan hifa. Hal ini menjadi mekanisme aksi yang memungkinkan untuk optimalisasi mencegah adanya kontaminan jamur atau bakteri pada eksplan. Pada saat Benomil berikatan dengan  $\beta$ -tubulin jamur akan menghambat polimerisasi mikrotubulus dan memblok pengambilan glukosa pada jamur sehingga persediaan glikogen menurun dan pembentukan ATP sebagai sumber energi berkurang, akibatnya jamur akan mati.

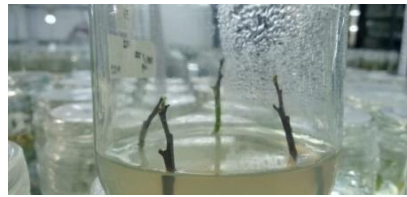
### 3.2. Gambar dan Tabel



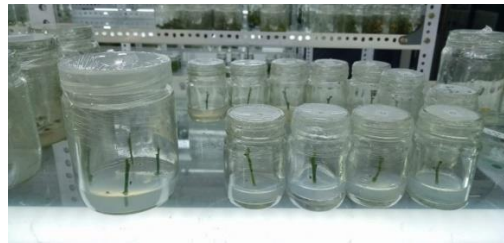
Gambar 1. Macam-macam kontaminasi yang muncul



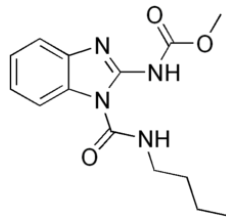
**Gambar 2.** Presentase rata-rata jumlah kontaminan pada setiap perlakuan



**Gambar 3.** Eksplan yang mengalami browning



**Gambar 4.** Subkultur eksplan



**Gambar 5.** Benomil (Benlate) adalah fungisida dengan inti benzimidazole



**Gambar 6.** Benomil berikatan dengan mikrotubul jamur (fungi)

**Tabel 1.** Takaran fungisida Benomil pada setiap perlakuan

Perlakuan	Takaran
A	0,3 gr fungisida Benstar + 150 ml aquades steril
B	0,4 gr fungisida Benstar + 150 ml aquades steril
C	0,5 gr fungisida Benstar + 150 ml aquades steril
D	0,6 gr fungisida Benstar + 150 ml aquades steril

**Tabel 2.** Waktu pertama kontaminasi muncul

Perlakuan	Botol Kultur	Kontaminasi Eksternal	Kontaminasi Internal
A	1	Hari ke-10	
	2	Hari ke-10	
	3	Hari ke-10	
	4		Hari ke-17
B	1	Hari ke-13	
	2	Hari ke-8	
	3	Hari ke-8	
	4	Hari ke-12	
C	1	Hari ke-12	
	2	Hari ke-13	
	3		Tidak terkontaminasi
	4		Tidak terkontaminasi
D	1		Tidak terkontaminasi
	2		Tidak terkontaminasi

3	terkontaminasi Tidak
4	terkontaminasi Tidak

Tabel 3. Data persentase kontaminasi pada setiap minggu

Perlakuan	Botol Kultur	Persentase kontaminasi (per minggu)			
		1	2	3	4
A	1	75%	75%	75%	75%
	2	40%	50%	75%	75%
	3	50%	50%	75%	75%
	4	0%	0%	25%	50%
B	1	0%	25%	25%	50%
	2	25%	75%	75%	75%
	3	25%	50%	50%	50%
	4	0%	25%	50%	50%
C	1	0%	25%	25%	50%
	2	0%	25%	25%	25%
	3	0%	0%	0%	0%
	4	0%	0%	0%	0%
D	1	0%	0%	0%	0%
	2	0%	0%	0%	0%
	3	0%	0%	0%	0%
	4	0%	0%	0%	0%

Tabel 4. Hasil pengamatan differensiasi morfologi eksplan

Perlakuan	Botol Kultur	Perkembangan eksplan (per minggu)			
		1	2	3	4
A	1	1	1	1	0
	2	1	1	1	0
	3	1	1	1	0
	4	1	2	1	1
B	1	1	2	2	2
	2	1	1	0	0
	3	1	2	0	0
	4	1	2	0	0
C	1	1	1	1	0
	2	1	1	1	0
	3	1	2	2	2
	4	1	2	2	2
D	1	1	2	2	2
	2	1	2	2	2
	3	1	2	2	2
	4	1	2	2	2

Tabel 5. Data browning pada setiap botol kultur

Perlakuan	Botol Kultur	Browning (per minggu)			
		1	2	3	4
A	1	0%	10%	10%	10%
	2	0%	5%	5%	10%
	3	0%	5%	5%	10%
	4	0%	5%	10%	10%
B	1	0%	5%	5%	10%
	2	0%	10%	10%	10%
	3	0%	10%	10%	10%
	4	0%	10%	10%	10%
C	1	0%	5%	5%	5%
	2	0%	0%	0%	0%
	3	0%	0%	0%	0%
	4	0%	0%	0%	0%
D	1	0%	0%	0%	0%
	2	0%	0%	0%	0%
	3	0%	0%	0%	0%
	4	0%	0%	0%	0%

#### 4. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang dilakukan dengan judul “Analisis Pengaruh Konsentrasi Pemberian Fungisida Benomil Terhadap Sterilisasi Kultur Jaringan Ruas Batang Tanaman Jeruk Tawangmangu ” maka dapat dibuat kesimpulan sebagai berikut :

1. Konsentrasi pemberian fungisida Benomil yang rendah memiliki jumlah persentase kontaminasi yang tinggi, sedangkan konsentrasi pemberian fungisida yang tinggi memiliki jumlah persentase kontaminasi yang rendah.
2. Sterilisasi dengan menggunakan konsentrasi fungisida Benomil 0,4% (gr/l) dengan waktu perendaman selama 40 menit, menghasilkan persentase eksplan hidup tanpa adanya kontaminasi. Dengan demikian penggunaan fungisida Benomil sebagai bahan sterilisasi merupakan bahan yang baik untuk kultur.
3. Fungisida Benomil tidak berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan eksplan.
4. Fungisida Benomil berpengaruh nyata terhadap browning.

#### Daftar Rujukan

- [1] F. Pembibitan, “SELEKSI TANAMAN F 1 JERUK (Citrus sp.) PADA FASE PEMBIBITAN,” 2009. <http://elibrary.ub.ac.id/handle/123456789/27171> (accessed Apr. 20, 2022).
- [2] A. Miryam and I. Suliansyah, “MULTIPLIKASI JERUK KACANG ( Citrus nobilis L.) PADA BEBERAPA KONSENTRASI NAA DAN BAP PADA MEDIA WPM SECARA IN VITRO,” Jerami, vol. 1, no. 2, pp. 1–8, 2008.
- [3] E. Wahyuningsih, “CVPD pada jeruk (Citrus spp) dan upaya pengendaliannya,” Vis vitalis, vol. 2, no. 2, pp. 65–73, 2009, [Online]. Available: [http://biologi.unas.ac.id:8080/publikasi/CVPD pada jeruk.pdf](http://biologi.unas.ac.id:8080/publikasi/CVPD%20pada%20jeruk.pdf).
- [4] K. Dewi, “Regenerasi Tanaman Dari Beberapa Sumber Eksplan Pada Mutan Kacang Tanah,” no. 1, pp. 171–174, 1998.

- [5] E. Prihastanti, E. D. Hastuti, S. Widodo, and A. Suedy, "Pertumbuhan dan Perkembangan Eksplan Jeruk Keprok Tawangmangu ( *Citrus reticulata* Var Tawangmangu ) Secara In Vitro," pp. 536-539, 2016.
- [6] A. Shofiyani and O. D. Hajoeningtjas, "PENGARUH STERILAN DAN WAKTU PERENDAMAN PADA EKSPAN DAUN KENCUR ( *Kaemferia galanga* L) UNTUK MENINGKATKAN KEBERHASILAN KULTUR KALUS," *Agritech*, vol. 12, no. 1, pp. 11-29, 2010.
- [7] A. Shofiyani and N. Damajanti, "PENGEMBANGAN METODE STERILISASI PADA BERBAGAI EKSPAN GUNA MENINGKATKAN KEBERHASILAN KULTUR KALUS KENCUR (*Kaemferia galanga* L)," *Agritech*, vol. XVII, no. 1, pp. 55-64, 2015.
- [8] L. Rahmawati and M. Lukmana, "PENGARUH LAMA PERENDAMAN STERILISASI EKSPAN DAUN KARET (*Hevea brasiliensis*) SECARA IN VITRO," *Ziraa'Ah Maj. Ilm. Pertan.*, vol. 44, no. 3, p. 301, 2019, doi: 10.31602/zmip.v44i3.1783.
- [9] M. S, "Media tumbuh kultur jaringan tanaman. Makalah pada Pelatihan Kultur Jaringan Tanaman PS Agronomi Unsoed," Purwokerto, 2002.
- [10] S. Sudiyanti, T. B. Rusbana, and S. Susiyanti, "Inisiasi Tunas Kokoleceran (*Vatica bantamensis*) pada Berbagai Jenis Media Tanam dan Konsentrasi BAP (Benzyl Amino Purine) Secara In Vitro," *J. Agro*, vol. 4, no. 1, pp. 1-14, 2017, doi: 10.15575/1069.
- [11] S. Tuhuteru, M. L. Hehanussa, and S. H. . Raharjo, "Pertumbuhan Dan Perkembangan Anggrek *Dendrobium anosmum* Pada Media Kultur In Vitro Dengan Beberapa Konsentrasi Air Kelapa," *Agrologia*, vol. 1, no. 1, 2018, doi: 10.30598/a.v1i1.293.
- [12] L. Admojo and A. Indrianto, "Pencegahan Browning Fase Inisiasi Kalus Pada Kultur Midrib Daun Klon Karet (*Hevea Brasiliensis* Muell Arg) Pb 330," *J. Penelit. Karet*, vol. 3, pp. 25-34, 2016, doi: 10.22302/ppk.jpk.v34i1.220.
- [13] D. Yanti and M. N. Isda, "Shoots Induction of nodes (*Citrus microcarpa* Bunge.) with addition 6- Benzyl Amino Purine (BAP) by In Vitro: INDUKSI TUNAS DARI EKSPAN NODUS JERUK KASTURI (*CITRUS MICROCARPA BUNGE.*) DENGAN PENAMBAHAN 6- BENZYL AMINO PURINE (BAP) SECARA IN VITRO," *Biospecies*, vol. 14, no. 1, pp. 53-58, 2021, [Online]. Available: <https://online-journal.unja.ac.id/biospecies/article/view/11192>.
- [14] B. Mega, "3 Permasalahan Utama pada Kultur Jaringan Tanaman dan Solusinya," *Kompas.com*, 2022. <https://www.kompas.com/skola/read/2022/04/07/160000369/3-permasalahan-utama-pada-kultur-jaringan-tanaman-dan-solusinya?page=all>.
- [15] R. Hutama Sulistiyo et al, "Pengaruh Teknik Sterilisasi dan Komposisi Medium terhadap Pertumbuhan Tunas Eksplan Sirsak Ratu," *BIOEDUKASI J. Pendidik. Biol.*, vol. 11, no. 1, pp. 1-5, 2018, [Online]. Available: <http://dx.doi.org/10.20961/bioedukasi-uns.v11i1.19726>.
- [16] D. Andriani, S. Wiyono, and W. Widodo, "Sensitivitas *Colletotrichum* spp. pada Cabai terhadap Benomil, Klorotalonil, Mankozebe, dan Propineb," *J. Fitopatol. Indones.*, vol. 13, no. 4, pp. 119-126, 2017, doi: 10.14692/jfi.13.4.119.
- [17] C. Sumardiyono, "Ketahanan Jamur terhadap Fungisida di Indonesia," *J. Perlindungan Tanam. Indones.*, vol. 14, no. 1, pp. 1-5, 2008.