

SKRIPSI

**PENGARUH NANOPARTIKEL (ZnO-NPs) DALAM MENGURANGI
KONTAMINASI DAN MENINGKATKAN PEMULIHAN EKSPAN
DAUN *Coffea arabica* L. YANG DIKULTUR SECARA IN VITRO**

WIDYA SAFITRI

H041191039



**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

**PENGARUH NANOPARTIKEL (ZnO-NPs) DALAM MENGURANGI
KONTAMINASI DAN MENINGKATKAN PEMULIHAN EKSPAN
DAUN *Coffea arabica* L. YANG DIKULTUR SECARA IN VITRO**

SKRIPSI

*Diajukan sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar Sarjana Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Hasanuddin*



**WIDYA SAFITRI
H041191039**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

LEMBAR PENGESAHAN

**PENGARUH NANOPARTIKEL (ZnO-NPs) DALAM MENGURANGI
KONTAMINASI DAN MENINGKATKAN PEMULIHAN EKSPLAN
DAUN *Coffea arabica* L. YANG DIKULTUR SECARA IN VITRO**

Disusun dan diajukan oleh:

WIDYA SAFITRI

H041191039

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Studi program sarjana Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin pada tanggal 27 Juli 2023 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Pembimbing Utama

Pembimbing Pertama



Dr. Andi Ilham Latunra, M.Si.
NIP. 196702071992031001



Dr. Eva Johannes, M.Si.
NIP. 196102171986012001

Ketua Program Studi,



Dr. Magdalena Litany, M.Sc.
NIP. 196409291989032002

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang Bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Widya Safitri

NIM : H041191039

Program Studi : Biologi

Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa Skripsi dengan judul:

Pengaruh Nanopartikel (ZnO-NPs) Dalam Mengurangi Kontaminasi dan Meningkatkan Pemulihan Eksplan Daun *Coffea arabica* L. yang Dikultur Secara In Vitro

adalah karya saya sendiri dan tidak melanggar hak cipta lain. Apabila di kemudian hari Skripsi karya saya ini terbukti bahwa sebagian atau keseluruhannya adalah hasil karya orang lain yang saya pergunakan dengan cara melanggar hak cipta pihak lain, maka saya bersedia menerima sanksi.

Makassar, 27 Juli 2023

Yang menyatakan



Widya Safitri

KATA PENGANTAR

Dengan mengucapkan *Alhamdulillah* segala puji dan syukur penulis panjatkan atas kehadiran Allah SWT, yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik. Shalawat serta salam senantiasa tercurahkan kepada Rasulullah SAW yang telah membawa manusia dari zaman kegelapan menuju zaman yang beradab seperti sekarang ini.

Skripsi dengan judul **“Pengaruh Nanopartikel (ZnO-NPs) Dalam Mengurangi Kontaminasi dan Meningkatkan Pemulihan Eksplan Daun *Coffea arabica* L. yang Dikultur Secara *In Vitro*”** disusun sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Sains pada Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin. Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam penyusunan skripsi ini. Untuk itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini.

Penelitian dan penulisan skripsi ini tentunya tidak lepas dari doa, bantuan, dan dukungan dari berbagai pihak dan orang-orang yang terkasih, baik secara langsung maupun tidak langsung. Oleh karena itu dengan segala kerendahan hati, pada kesempatan ini, penulis ingin memberikan penghargaan yang setinggi-tingginya dan ribuan ucapan terima kasih kepada keluarga terkhususnya kepada kedua orang tua penulis, Ibunda tercinta Hj. Darmawati dan Ayahanda tercinta H.Takbir Jafar yang senantiasa setulus hati memberikan doa, kasih sayang, semangat dan dukungan penuh yang besar kepada penulis sehingga dapat

menyelesaikan studi ini. Terima kasih pula kepada saudara penulis Muhammad Yogi Saputra dan Putri Nur Zahira yang senantiasa setulus hati memberikan doa, kasih sayang, semangat, dan dukungan yang besar kepada penulis dalam menyelesaikan studi serta semua keluarga besar penulis, terima kasih banyak atas doa dan dukungannya.

Terima kasih penulis ucapkan yang sebesar-besarnya kepada Bapak Dr. Andi Ilham Latunra, M.Si selaku pembimbing utama sekaligus sebagai dosen penasehat akademik yang telah banyak meluangkan waktu, memberikan dukungan, memberikan saran-saran positif, memberikan bimbingan, motivasi dan pengetahuan yang berharga kepada penulis baik dalam penyusunan skripsi ini maupun kehidupan akademik. Terima Kasih pula yang sebesar-besarnya penulis ucapkan kepada ibu Dr. Eva Johannes, M.Si selaku pembimbing pertama yang senantiasa tak jenuh membimbing, memberi dukungan, memberi motivasi dan memberikan masukan yang membangun selama tahap penelitian penyusunan skripsi ini.

Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada:

1. Rektor Universitas Hasanuddin beserta jajarannya, Bapak Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, M. Sc.
2. Bapak Dr. Eng Amiruddin, M.Si. Selaku dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin serta seluruh staf yang telah membantu penulis dalam hal akademik maupun administrasi
3. Ibu Dr. Magdalena Litaay M.Sc. selaku ketua Program studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin. Terima kasih atas ilmu, masukan, serta saran yang diberikan kepada penulis.

4. Bapak Dr. Eddyman W. Ferial, S.Si., M.Si dan Ibu Dr. Zaraswati Dwyana, M.Si selaku penguji sidang sarjana yang telah memberikan kritik dan saran positif demi kemajuan skripsi ini.
5. Seluruh Bapak/Ibu dosen Program Studi Biologi yang telah membimbing dan memberikan ilmunya dengan tulus dan sabar kepada penulis selama proses perkuliahan. Serta staf pegawai Departemen Biologi yang telah banyak membantu penulis baik dalam menyelesaikan administrasi maupun memberikan dukungan kepada penulis selama ini
6. Kepada seluruh staf UPT Balai Benih Tanaman Hortikultura, Kabupaten Gowa, Provinsi Sulawesi Selatan terkhusus kepada kepala laboratorium kultur jaringan yakni pak Mansyur yang telah sabar mengajarkan ilmu-ilmu dalam praktik kultur jaringan, dan meluangkan waktu serta membantu memberikan ide dalam tahap penelitian skripsi penulis.
7. Kepada Laboratorium kultur jaringan, Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, terkhusus kepada kanda Ardiansyah, S.Si yang selalu memberikan saran dan motivasi saat melakukan penelitian dan penyusunan skripsi ini hingga selesai.
8. Kepada teman-teman seperjuangan dalam penelitian kultur jaringan tanaman yakni Yani, Rifqah, Nada, dan Wahida yang senantiasa mendukung dan membantu pada saat magang maupun penelitian ini berlangsung.
9. Kepada Sulfikar, terima kasih atas doa, dukungan dan perhatiannya selama ini sehingga penulis bisa menyelesaikan skripsi ini.
10. Kepada Sahabat Erni Pratiwi, Nur Aulia, dan Noer Madinah Tulmunawwara yang masih menemani dan tetap memberikan dukungan hingga saat ini.

11. Kepada teman-teman Biologi 2019 (Biotigris) yang tidak sempat disebutkan satu persatu, terima kasih telah kebersamai dalam kehidupan kampus dari awal perkuliahan hingga akhir penyusunan skripsi
12. Kepada saudara-saudariku KM FMIPA Unhas 2019 yang tidak sempat saya sebutkan satu persatu yang telah memberikan kenangan dan berbahagia dalam situasi apapun.
13. Kepada teman-teman KKNT Smart Village Barru Gelombang 108, terkhusus kepada posko Tuwung, Kec. Barru yang tidak sempat saya sebutkan satu persatu, Terima kasih telah memberikan doa dan dukungan kepada penulis.

Dengan ini saya mengucapkan terima kasih banyak untuk semua pihak yang terlibat, baik yang telah disebutkan maupun yang tidak disebutkan. Semoga kedepannya skripsi ini dapat berguna sebagai referensi tambahan bagi banyak orang. Semoga Allah senantiasa memberikan rahmat dan hidayah-Nya untuk kita semua.

Makassar, 27 Juli 2023

Penulis

ABSTRAK

Kultur jaringan merupakan suatu teknologi perbanyakan tanaman dari sel, jaringan, maupun organ tanaman. Salah satu kendala utama yang dihadapi dalam perbanyakan *in-vitro* adalah tingginya persentase kontaminasi eksplan terutama pada sumber eksplan yang berasal dari lapangan. Beberapa studi penelitian dilakukan untuk mengurangi persentase kontaminasi mikroba baik menggunakan desinfektan selama penyiapan eksplan maupun bahan kimia antijamur dan antibakteri pada media. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan nanopartikel ZnO (ZnO-NPs) dan konsentrasi optimalnya dalam mengurangi kontaminasi dan meningkatkan pemulihan eksplan daun kopi arabika *Coffea arabica* L. yang dikultur secara *in vitro*. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Biologi FMIPA Unhas. Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 1 faktorial yaitu penambahan nanopartikel ZnO dengan 6 konsentrasi yaitu 0 mg/L, 5 mg/L, 10 mg/L, 15 mg/L, 20 mg/L, dan 25 mg/L. Media eksplan kopi arabika *Coffea arabica* L. terdiri atas *Murahige-Skoog* (MS) + 2,0 mg/L 2,4-D + 0,5 mg/L Kinetin (MS+ZPT) dan nanopartikel ZnO dengan berbagai konsentrasi. Tiap perlakuan diulang sebanyak 3 kali. Data dianalisis dengan uji Kruskal-Wallis dan *Analysis of Variance* (ANOVA) kemudian dilanjutkan dengan uji lanjut *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf 5%. Hasil menunjukkan bahwa perlakuan nanopartikel ZnO 25 mg/L memiliki pengaruh nyata terhadap penghambatan kontaminasi dengan perlakuan lainnya. Morfologi kalus yaitu memiliki tekstur remah dan kompak serta warna putih kekuningan hingga coklat dari perlakuan penambahan nanopartikel ZnO, sedangkan persentase eksplan membentuk kalus dengan hasil yaitu tidak memberikan pengaruh nyata.

Kata kunci: Kopi arabika *Coffea arabica* L, Nanopartikel, Kultur *in vitro*, Kontaminasi, ZnO-NPs.

ABSTRACT

Tissue culture is a technology of plant propagation from cells, tissues, or plant organs. One of the main obstacles encountered in in-vitro propagation is the high percentage of explant contamination, especially in explant sources from the field. Several research studies were conducted to reduce the percentage of microbial contamination using either disinfectants during explant preparation or antifungal and antibacterial chemicals in the media. This study aims to determine the effect of adding ZnO nanoparticles (ZnO-NPs) and its optimal concentration in reducing contamination and increasing the recovery of arabica coffee *Coffea arabica* L. leaf explants cultured in vitro. This research was carried out at the Biological Tissue Culture Laboratory, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Hasanuddin University. The experiment was carried out using a completely randomized design with 1 factorial, the addition of ZnO nanoparticles with 6 concentrations level that is 0 mg/L, 5 mg/L, 10 mg/L, 15 mg/L, 20 mg/L, and 25 mg/L. Arabica coffee *Coffea arabica* L. explant media consisted of Murahige-Skoog (MS) + 2.0 mg/L 2,4-D + 0.5 mg/L Kinetin (MS+ZPT) and ZnO nanoparticles with various concentrations. Each treatment was repeated 3 times. Data were analyzed with the Kruskal-Wallis test and Analysis of Variance (ANOVA) then continued with the Duncan Multiple Range Test (DMRT) at 5% level. The results showed that the 25 mg/L ZnO nanoparticle treatment had a significant effect on the inhibition of contamination with other treatments. The morphology of the callus had a crumb and compact texture and a yellowish-white to brown color from the treatment of the addition of ZnO nanoparticles, while the percentage of explants formed callus with the result that it had no significant effect.

Keywords: Arabica coffee *Coffea arabica* L, Nanoparticles, In vitro culture, Contamination, ZnO-NPs.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
PERNYATAAN KEASLIAN	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Tujuan Penelitian	4
I.3 Manfaat Penelitian	4
I.4 Waktu dan Tempat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
II.1 Kopi <i>Coffea sp.</i>	5
II.1.1 Kopi Arabika <i>Coffea arabica L.</i>	6
II.2. Teknologi Kultur Jaringan	8
II.2.1 Kultur Jaringan Kalus	10
II.2.2 Zat Pengatur Tumbuh.....	11
II.2.3 Sterilisasi.....	13

II.2.3.1 Nanopartikel.....	14
II.2.3.1.1 <i>Zinc Oxide</i> (ZnO).....	16
II.2.3.2 Fungisida.....	18
II.2.3.3 Natrium Hipoklorit (NaOCl)	20
BAB III METODE PENELITIAN	21
III.1 Alat dan Bahan.....	21
III.1.1 Alat.....	21
III.1.2 Bahan.....	21
III.2 Rancangan Penelitian.....	21
III.3 Prosedur Penelitian.....	22
III.3.1 Sterilisasi	22
III.3.1.1 Sterilisasi Alat dan Bahan	22
III.3.1.2 Sterilisasi Sampel.....	22
III.3.1.3 Sterilisasi Ruang Kerja.....	23
III.3.2 Pembuatan Media.....	23
III.3.2.1 Larutan Nanopartikel ZnO	23
III.3.2.2 Pembuatan Larutan Stok.....	23
III.3.2.2.1 Pembuatan Larutan Stok 2,4-D.....	23
III.3.2.2.2 Pembuatan Larutan Stok Kinetin.....	24
III.3.2.3 Pembuatan Media MS + ZPT	24
III.3.2.4 Pembuatan Media MS + ZPT + Nanopartikel.....	24
III.3.3 Penanaman Eksplan	25
III.3.4 Pemeliharaan Kalus.....	25
III.4 Parameter Pengamatan.....	26

III.4.1 Tahap Pengamatan...	26
III.4.2 Parameter Uji Nanopartikel Dengan Pengamatan Kalus.....	26
III.4.3 Parameter Uji Nanopartikel Dalam Menghambat Kontaminasi	27
III.5 Analisis Data.....	27
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	29
IV.1 Persentase Eksplan Membentuk Kalus Kopi Arabika	29
IV.2 Tekstur dan Warna Kalus Kopi Arabika.....	31
IV.3 Nanopartikel ZnO Menghambat Kontaminasi Pada Eksplan	36
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	42
V.1 Kesimpulan.	42
V.2 Saran.....	42
DAFTAR PUSTAKA	43
LAMPIRAN.....	49

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Pembuatan Media MS + ZPT + Nanopartikel	24
Tabel 2. Tekstur Kalus Kopi Arabika <i>Coffea arabica</i> L.....	32
Tabel 3. Warna Kalus Setelah 60 HST Kopi Arabika <i>Coffea arabica</i> L.....	34
Tabel 4. Uji DMRT 5% Pemberian Nanopartikel ZnO Dalam Menghambat Kontaminasi Mikroba.....	37
Tabel 5. Komposisi Media MS	49

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Morfologi Kopi Arabika <i>Coffea arabica</i> L.	7
Gambar 2. Struktur Tetrahedral ZnO-NPs	17
Gambar 3. Grafik Rata-rata Eksplan Kopi Arabika <i>Coffea arabica</i> L. Membentuk Kalus	29
Gambar 4. Kalus Pada Eksplan Kopi Arabika <i>Coffea arabica</i> L.	31
Gambar 5. Tekstur Kalus Kopi Arabika <i>Coffea arabica</i> L.	33
Gambar 6. Grafik Persentase Eksplan Hidup Tidak Terkontaminasi	36
Gambar 7. Mekanisme Antibakteri Dari Nanopartikel ZnO.....	39
Gambar 8. Mekanisme Antijamur Dari Nanopartikel ZnO.	40

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Komposisi Media Murashige and Skoog (MS)	49
Lampiran 2.	Perhitungan Pengambilan ZnO-NPs Dalam Larutan Stok	50
Lampiran 3.	Skema Kerja	51
Lampiran 4.	Sterilisasi Alat dan Ruang Kerja	52
Lampiran 5.	Pembuatan Larutan Stok 2,4-D dan Kinetin.....	53
Lampiran 6.	Pembuatan Media Pertumbuhan.....	54
Lampiran 7.	Sterilisasi Eksplan Daun Kopi Arabika <i>Coffea arabica</i> L.	55
Lampiran 8.	Penanaman Eksplan Daun Kopi Arabika <i>Coffea arabica</i> L.	56
Lampiran 9.	Pemeliharaan dan Pengamatan Eksplan Daun Kopi Arabika <i>Coffea arabica</i> L.	57
Lampiran 10.	Hasil Pengamatan Kalus Kopi Arabika <i>Coffea arabica</i> L.	58
Lampiran 11.	Data Hasil Pengamatan Persentase Eksplan Membentuk Kalus	64
Lampiran 12.	Data Hasil Pengamatan Pengaruh Nanopartikel ZnO Dalam Menghambat Kontaminasi Pada Eksplan.....	65
Lampiran 13.	Hasil Uji Normalitas Kolmogorov-Smirnov Eksplan Membentuk Kalus dan Pengaruh Nanopartikel Menghambat Kontaminasi	66
Lampiran 14.	Hasil Uji Kruskal-Wallis Persentase Eksplan Membentuk Kalus..	67
Lampiran 15.	Hasil Uji Anova dan Uji Lanjut DMRT 5% Pemberian Nanopartikel ZnO Dalam Menghambat Kontaminasi	68

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Kopi merupakan salah satu minuman yang banyak diminati di dunia, dengan konsumsi tahunan global lebih dari 500 miliar cangkir (Leibrock,dkk., 2022). Dalam bursa perdagangan internasional, Kopi ini menduduki urutan kedua dan diproduksi oleh lebih dari 80 negara. Kopi menjadi salah satu komoditas utama ekspor Indonesia dalam perdagangan internasional. Produksi kopi Indonesia berada pada urutan keempat setelah Brazil, Vietnam dan Colombia dengan output produksi mencapai USD 852 juta pada tahun 2021 dengan negara tujuan ekspor utama ke Amerika Serikat, Mesir, Jepang, Spanyol dan Malaysia. Kontribusi komposisi ekspor untuk kelima negara tersebut mencapai 60% dari total ekspor kopi Indonesia (Ridha, dkk., 2022).

Sulawesi selatan merupakan salah satu daerah sentra produksi kopi terbaik di Indonesia dengan luas areal penanaman mencapai 61.285 hektare. Kopi yang banyak dibudidayakan secara komersial yakni kopi arabika *Coffea arabica* L. dan kopi robusta *Coffea canephora* L. dengan rata-rata produksi kopi setiap tahunnya mencapai 18.000 ton. Pusat produksi kopi di Sulawesi Selatan tersebar pada 7 kabupaten, dimana produksi kopi robusta di atas 1000 ton per tahun dihasilkan di kabupaten Bulukumba, Bantaeng, Sinjai, Pinrang, Luwu, Luwu Utara dan Toraja. Sementara produksi kopi arabika sebesar 1000 ton per tahun dihasilkan di kabupaten Toraja, Enrekang, dan Gowa (Maskar dan Faisal, 2022).

Secara tradisional, kopi dapat diperbanyak secara generatif dengan menggunakan biji atau secara vegetatif dengan menggunakan stek, okulasi, dan sambung pucuk. Namun, terdapat beberapa kelemahan dalam perbanyakan ini, diantaranya keterbatasan jumlah bahan tanam berupa benih dan juga dalam perbanyakan kopi melalui biji, tidak dapat menjamin hasil yang didapatkan akan sama dengan induknya. Berdasarkan hal tersebut, kultur jaringan ini memberikan alternatif untuk menghasilkan tanaman yang memiliki kualitas yang sama dengan indukannya dengan jumlah yang besar dalam waktu yang relatif singkat (Arimarsetiowati, R., 2011).

Teknik kultur jaringan merupakan metode paling sederhana dan mudah untuk diterapkan dalam berbagai program pemuliaan tanaman. Dalam kultur jaringan, dilakukan kultur embriogenesis somatik yang perbanyakannya dilakukan dengan berbagai jenis eksplan, antara lain kultur antera, meristem, biji, akar dan daun (Damayanti, dkk., 2021). Namun dalam kopi, perbanyakan *in vitro* banyak menggunakan eksplan daun karena dianggap menguntungkan. Hal ini disebabkan karena ketersediaan bahan daun sepanjang tahun. Selain itu, Perbanyakan tanaman kopi secara *in vitro* melalui embriogenesis somatik menggunakan eksplan daun juga telah lama dioptimalkan pada berbagai spesies (Devasia, dkk., 2020).

Meskipun dalam kultur jaringan kopi banyak menggunakan eksplan daun, pembentukan kultur *in vitro* menggunakan eksplan tersebut menjadi tantangan yang cukup besar. Salah satu kendala utama pada tahap awal teknik kultur jaringan yakni bagaimana mendapatkan eksplan dengan tingkat kontaminasi bakteri atau fungi yang rendah di dalam botol kultur. Hilangnya kultur primer yang maksimal

dikarenakan kontaminasi mikroba yang ada di permukaan maupun secara endogen di dalam eksplan (Nugraheni, dkk., 2019).

Meskipun bahan kimia seringkali digunakan dalam kultur jaringan sebagai antijamur dan antibakteri, hal tersebut juga sering merugikan pertumbuhan dan diferensiasi eksplan yang dikultur. Dalam beberapa tahun terakhir berbagai penelitian telah membuktikan sifat antimikroba dari nanopartikel. Nanopartikel ini banyak digunakan untuk desinfeksi permukaan dan pemulihan eksplan dalam percobaan kultur jaringan berbagai tanaman. Diantara berbagai nanopartikel, dalam penelitian (Helaly, dkk., 2014) dijelaskan bahwa ZnO ini dapat melakukan penghambatan yang signifikan terhadap kontaminan bakteri dan jamur sehingga didapatkan hasil produksi kultur yang bebas kontaminasi. Sifat antibakteri nanopartikel ZnO juga dibuktikan dalam penelitian (Aquisman, dkk., 2020), dimana ekstrak dari tumbuhan yang disintesis dengan ZnO-NPs menunjukkan potensi aktivitas antibakteri. Selain itu, nanopartikel ZnO juga dapat digunakan dalam menghambat pertumbuhan jamur (fungi) dengan cara mengganggu fungsi selnya (Djearamane, dkk., 2022).

Berdasarkan uraian latar belakang di atas, produksi kopi dapat dimaksimalkan dengan pengurangan kontaminasi dan pemulihan eksplan dalam percobaan kultur jaringan dengan penambahan nanopartikel ZnO pada media kultur. Oleh karena itu, Penelitian ini dirancang dengan tujuan untuk menguji kemampuan ZnO-NPs dan konsentrasinya optimalnya dalam mengendalikan pertumbuhan mikroorganisme dan pengaruhnya terhadap eksplan daun kopi arabika *Coffea arabica* L. dalam kondisi *in vitro*.

I.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian yaitu:

1. Untuk mengetahui pengaruh nanopartikel ZnO dalam mengendalikan pertumbuhan mikroorganisme dan pemulihan eksplan pada kultur jaringan kopi arabika *Coffea arabica* L.
2. Untuk mengetahui konsentrasi optimal dari nanopartikel ZnO dalam mengendalikan pertumbuhan mikroorganisme dan pemulihan eksplan pada kultur jaringan kopi arabika *Coffea arabica* L.

I.3 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah terkait kemampuan nanopartikel ZnO dalam mengurangi kontaminasi dan menunjukkan pemulihan eksplan pada konsentrasi yang tepat secara *in vitro* melalui teknologi kultur jaringan sehingga dapat digunakan dalam berbagai pemuliaan tanaman terkhusus dalam pemuliaan kopi arabika *Coffea arabica* L.

I.4 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari hingga Maret 2023. Pengambilan sampel dilakukan di Kampung kopi, kabupaten Gowa, Sulawesi Selatan. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan, Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, Makassar.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Kopi *Coffea* sp.

Kopi merupakan salah satu komoditas bernilai tinggi di dunia, yakni peringkat kedua setelah minyak bumi. Ini dibudidayakan di lebih dari 80 negara, dengan area produksi lebih dari 10,2 juta hektar di daerah tropis dan subtropis, terutama di Afrika, Asia dan Amerika (Duque dan Matthew, 2022). Nama kopi berasal dari nama kota Kaffa di tenggara Ethiopia, di mana kopi pertama kali ditemukan. Ada sejarah lain yang mengatakan bahwa kata kopi berasal dari kata “kuvvah” yang berarti “kekuatan”, karena kopi dapat mencegah kantuk (Rahmawati dan Kiki, 2018).

Indonesia merupakan salah satu negara produsen dan eksportir kopi terbesar di dunia. Sekitar 67% dari kopi Indonesia dikirim ke pasar internasional melalui mekanisme ekspor kopi, hal ini mengakibatkan kestabilan perekonomian kopi Indonesia sangat bergantung pada kondisi pasar dunia. Berdasarkan data yang dihimpun dari *Food and Agriculture Organization*, *International Coffee Organization*, dan *UN Comtrade* diketahui bahwa pada tahun 2010 hingga 2019 volume ekspor kopi Indonesia mengalami fluktuasi. Hal ini dapat dipengaruhi oleh kualitas kopi yang diproduksi, faktor iklim dan cuaca, serta luas lahan untuk menunjang produksi kopi. Sementara itu, negara yang mengimpor kopi dari Indonesia yakni Amerika Serikat, Jepang, Jerman, Malaysia, Italia, Rusia, dan juga Mesir (Rachmaningtyas, dkk., 2021).

Tanaman kopi adalah salah satu spesies tanaman yang termasuk dalam famili *Rubiaceae* dan genus *Coffea*. Genus ini terdiri atas lebih dari 80 spesies asli hutan khatulistiwa Afrika Timur dan Barat, Madagaskar dan pulau-pulau di Samudra Hindia. Kopi yang saat ini banyak dibudidayakan secara komersial karena bernilai ekonomi yang tinggi yakni kopi arabika *Coffea arabica* L. dan kopi robusta *Coffea canephora* L. (Duque dan Matthew, 2022).

II.1.1 Kopi Arabika *Coffea arabica* L.

Kopi arabika *Coffea arabica* L. merupakan salah satu jenis kopi yang banyak dibudidayakan secara komersial oleh masyarakat. Kopi arabika *Coffea arabica* L. berasal dari Ethiopia dan Abessinia. Kopi ini berhasil menguasai pasar kopi di dunia hingga 70%. Kopi arabika *Coffea arabica* L. memiliki rasa yang lebih disukai oleh konsumen dibandingkan dengan jenis kopi lainnya. Mutu cita rasa ini menyebabkan nilai atau harga kopi arabika di pasaran tinggi (fitriyah, dkk., 2021).

Klasifikasi kopi arabika *Coffea arabica* L. menurut Tjitrosoepomo (2013) adalah sebagai berikut:

Regnum : Plantae
Divisio : Spermatophyta
Subdivisio : Angiospermae
Classis : Dicotyledoneae
Ordo : Rubiales
Familia : Rubiaceae
Genus : *Coffea*
Species : *Coffea arabica* L.

Kopi arabika *Coffea arabica* L. dapat tumbuh pada ketinggian 1000-2000 mdpl, curah hujan 1.250-2.500 mm/tahun dengan temperatur 15-25°C, serta berbuah setahun sekali. Karakteristik fisik dari tanaman kopi arabika *Coffea arabica* L. yakni tinggi pohon mencapai 3 meter, cabang primernya rata-rata mencapai 123 cm, sedangkan ruas cabangnya pendek. Batangnya tegak, bulat, percabangan monopodial, permukaan batang kasar, dan warna batangnya kuning keabu-abuan. Kopi arabika memiliki kelemahan yaitu, rentan terhadap penyakit karat daun oleh jamur *Hemileia Vastatrix* (Siswanto dan Yulia, 2022).



Gambar 1. Morfologi kopi arabika *Coffea arabica* L. : (a) Daun kopi. (b) Buah Kopi. (c) tanaman Kopi. (d) Bunga kopi.
Sumber: Al-asmari, dkk., 2020

Kopi arabika *Coffea arabica* L. cenderung menimbulkan aroma *fruity* karena adanya senyawa aldehid, asetaldehida, dan propanal. Kopi arabika *Coffea arabica* L. memiliki Kadar kafein biji mentah yang lebih rendah dibandingkan biji mentah kopi robusta *Coffea canephora* L. dimana kandungan kafein kopi Arabika *Coffea arabica* L hanya sekitar 1,2%. Buah dari kopi ini berbentuk bulat seperti telur, dengan warna buah hijau kemudian berubah menjadi merah terang saat matang. Apabila buah kopi ini telah matang, maka cenderung mudah rontok (Siswanto dan Yulia, 2022). Biji dari kopi ini juga lebih besar daripada kopi robusta

dengan berat sekitar 18-22 g/100 biji dengan cita rasa khas dan sedikit asam (Fitriyah, dkk., 2021).

II.2 Teknologi Kultur Jaringan

Kultur jaringan tanaman merupakan suatu teknologi perbanyakan tanaman dari sel, jaringan, maupun organ tanaman pada media padat atau cair dalam kondisi aseptik. Keseluruhan tanaman dapat diregenerasi dari jaringan kecil atau sel tanaman pada media kultur yang sesuai di bawah kondisi lingkungan yang terkendali (Gaikwad, dkk., 2017). Selain perbanyakan tanaman, kultur jaringan juga dapat digunakan untuk menghasilkan haploid ganda, kriopreservasi, memperbanyak tanaman varietas baru, melestarikan tanaman langka dan terancam punah maupun tanaman yang sulit diperbanyak, serta untuk menghasilkan metabolit sekunder dan tanaman transgenik. Kelebihan utama dari teknologi kultur jaringan yaitu dapat menghasilkan bahan tanam dengan kualitas tinggi dan seragam. Kegiatan ini juga dapat dilakukan sepanjang tahun dalam kondisi bebas penyakit dimana pun tidak tergantung pada musim maupun cuaca (Jain, 2016).

Kultur jaringan tanaman mengacu pada proses dimana bagian-bagian jaringan tanaman dimasukkan ke dalam media yang mengandung nutrisi yang diperlukan tanaman untuk tumbuh dan berkembang. Berbagai bahan seperti zat pengatur tumbuh dan agar juga digunakan untuk memfasilitasi proses ini. Bagian jaringan yang sering digunakan dalam kultur jaringan yakni daun, batang dan biji serta setiap bagian dari tanaman dapat digunakan. Eksplan yang telah ditumbuhkan pada media dapat membentuk kalus yang tersusun dari sel-sel parenkim berdinding sel tipis yang berkembang dari hasil poliferasi sel-sel jaringan indukan. Perbanyakan tanaman dengan teknik kultur jaringan dilakukan berdasarkan teori

totipotensi sel. Teori ini menyatakan bahwa setiap tanaman hidup mempunyai informasi genetik dan perangkat fisiologis yang lengkap untuk dapat tumbuh dan berkembang menjadi tanaman yang utuh jika kondisinya sesuai (Baday, 2018).

Dalam melakukan kultur jaringan ada beberapa faktor yang mempengaruhi tingkat keberhasilan diantaranya yaitu, eksplan, media yang digunakan, dan lingkungan. Eksplan yang akan digunakan harus memenuhi beberapa syarat seperti, ukuran eksplan yang paling baik digunakan yaitu 0,5 sampai 1 cm, kemudian umur eksplan, dan genotipe eksplan. Untuk faktor media ini dipengaruhi oleh kandungan yang terdapat didalamnya, sementara untuk faktor lingkungan dipengaruhi oleh cahaya, suhu, pH, kelembaban, dan wadah yang digunakan sebagai media pertumbuhan eksplan (Apriliyana dan Baiq, 2021).

Medium merupakan salah satu hal penting dalam kultur jaringan. Medium yang digunakan harus memenuhi kebutuhan eksplan agar tetap hidup secara optimal. Media ini menjadi faktor penting dalam penentuan keberhasilan perbanyakan tanaman secara *in vitro*. Maka dari itu, dalam pembuatan media diperlukan takaran yang pas dan sesuai untuk memaksimalkan hasilnya. Berbagai komposisi medium standar telah diformulasikan untuk mengoptimalkan pertumbuhan dan perkembangan tanaman salah satunya yaitu medium Murashige dan Skoog (MS). Medium Murashige dan Skoog secara umum mengandung makronutrien dan mikronutrien berupa garam organik dalam kadar dan perbandingan tertentu, sumber karbohidrat, air, asam amino, vitamin, dan zat pengatur tumbuh. Media pertumbuhan juga dibedakan menjadi dua jenis, yaitu media padat dan media cair (Apriliyana dan Baiq, 2021).

Tahap akhir dari rangkaian kultur jaringan yaitu aklimatisasi, planlet yang dihasilkan dari proses *in vitro* harus ditumbuhkan dalam lingkungan yang alami. Kondisi lingkungan mempengaruhi pertumbuhan tanaman. Kondisi alami (aklimatisasi) memiliki kondisi yang lebih ekstrim dari kondisi sebelum dilakukan aklimatisasi. Dalam aklimatisasi diperlukan adanya modifikasi kondisi lingkungan terutama yang berkaitan dengan kelembaban, suhu, dan intensitas cahaya. Selain itu, media yang digunakan akan mempengaruhi pertumbuhan akar dari tanaman itu sendiri. Media sebagai pengantar atau penyedia unsur hara sehingga tanaman dapat bertahan hidup (Apriliyana dan Baiq, 2021).

II.2.1 Kultur Jaringan Kalus

Kalus merupakan massa sel yang tidak terspesialisasi, tidak terorganisir dan dapat dibagi. Sebuah kalus diproduksi ketika eksplan dikulturkan dalam media yang sesuai. Kultur kalus meliputi pertumbuhan kalus (sel yang berdiferensiasi dan tidak berdiferensiasi), yang kemudian diikuti dengan prosedur yang menginduksi diferensiasi organ. Kultur sering dipertahankan pada media gel, yang terdiri dari agar-agar dan campuran nutrisi makro maupun mikro. Berbagai jenis campuran garam basal seringkali digunakan misalnya media Murashige dan Skoog (MS) serta penambahan vitamin untuk meningkatkan pertumbuhan tanaman (Baday, 2018).

Kalus merupakan sel-sel yang muncul bergerombol pada salah satu atau seluruh irisan eksplan. Kalus yang muncul dari daerah bekas pelukaan akan berwarna putih, lama kelamaan berubah menjadi kalus yang berwarna hijau. Tahapan pembentukan kalus pada eksplan yaitu kalus yang muncul pada bekas potongan pada eksplan awalnya bersifat remah, selanjutnya ketika sel terus berproliferasi maka lama-kelamaan kalus menjadi kompak dan berwarna putih.

Kalus yang berwarna putih merupakan jaringan embrionik yang belum mengandung kloroplas, tetapi memiliki kandungan butir pati yang tinggi. Dengan penambahan zat pengatur tumbuh (ZPT) terutama sitokinin dan stimulus cahaya proplastid yang terdapat dalam jaringan parenkim tersebut berdiferensiasi menjadi plastid yang mengandung klorofil, sehingga kalus berubah menjadi berwarna hijau. Rasio sitokinin dan auksin menentukan morfogenesis yang terjadi pada kultur kalus (Faramayuda, dkk., 2016).

Pembentukan kalus embriogenik dalam hal ini morfogenesis eksplan pada kultur *in vitro* sangat tergantung dari rasio auksin dan sitokinin yang diberikan pada media perlakuan. Pembentukan kalus embriogenik merupakan tahapan yang harus diperhatikan dalam pembentukan embriogenesis somatik tidak langsung. Semakin banyak kalus embriogenik yang didapatkan maka semakin besar peluang untuk mendapatkan embrio somatik. Hal ini disebabkan oleh kalus embriogenik yang hanya dapat berkembang menjadi embrio somatik (Ibrahim dan Sri, 2017).

Dalam pertumbuhan kalus, terdiri atas 5 fase, diantaranya; 1) fase lag, yaitu fase persiapan pembelahan sel, 2) fase eksponensial yaitu fase di mana laju pembelahan sel tertinggi, 3) fase linier, yaitu fase dari pembelahan sel mulai melambat tetapi laju dari perkembangan sel meningkat, 4) fase perlambatan, di mana laju pembelahan sel dan pemanjangan sel menurun, 5) fase stasioner, di mana jumlah dan ukuran sel konstan atau stabil (Purnamaningsih dan Misky, 2011).

II.2.2 Zat Pengatur Tumbuh

Dalam teknik kultur jaringan terdapat beberapa faktor penentu salah satunya yakni media pertumbuhan. Media pertumbuhan adalah komposisi unsur hara makro, unsur hara mikro, sumber besi, sumber karbon, vitamin, dan zat pengatur

tumbuh (ZPT). Salah satu reaksi kimia yang cukup memegang peranan penting adalah hormon dan ZPT. Di dalam kultur jaringan, kehadiran ZPT sangat nyata pengaruhnya. Zat pengatur tumbuh berfungsi merangsang pertumbuhan tanaman, misalnya pertumbuhan akar, tunas, perkecambahan dan sebagainya (Riono, 2019).

Zat pengatur tumbuh yang biasa digunakan dalam kultur jaringan dapat berasal dari golongan auksin maupun sitokinin. Golongan Auksin terdiri atas IAA (*Indole Acetic Acid*), 2,4-D (*2,4 DichlorophenoxyAcetic Acid*), IBA (*Indole Butyric Acid*) dan NAA (*Naphtalen Acetic Acid*), sedangkan dari golongan sitokinin terdiri atas Kinetin, Zeatin dan BA. Auksin umumnya berfungsi terhadap pemanjangan sel, pembentukan kalus dan akar adventif serta menghambat pembentukan tunas aksilar. Fungsi sitokinin adalah pembelahan sel, pembesaran sel, menghambat penuaan bunga dan buah, dan deferensiasi akar dan tunas (Budi, 2020).

Salah satu ZPT golongan auksin yang sering digunakan untuk menginduksi kalus adalah Asam 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4-D). Jika dibandingkan dengan jenis auksin lainnya, 2,4-D secara efektif dapat merangsang pembentukan kalus karena aktivitas yang kuat untuk memacu proses diferensiasi sel, organogenesis dan menjaga pertumbuhan kalus (Setiawati, dkk., 2019). Zat pengatur tumbuh yang tergolong dalam kelompok sitokinin yakni kinetin (*6-fufury amino purine*). Kinetin berfungsi untuk mengatur pembelahan sel dan morfogenesis. Dalam pertumbuhan jaringan tanaman, sitokinin bersama-sama dengan auksin memberikan pengaruh interaksi terhadap deferensiasi jaringan (Riono, 2019).

Dalam menginduksi kalus penambahan auksin sering dikombinasikan dengan sitokinin. Penambahan auksin atau sitokinin ke dalam media kultur dapat meningkatkan konsentrasi ZPT endogen di dalam sel, sehingga menjadi faktor

pemicu dalam proses pertumbuhan dan perkembangan jaringan. Kombinasi antara auksin dan sitokinin dapat menunjukkan hasil morfologi dan tekstur kalus yang berbeda setelah dua minggu masa tanam. Pemberian kombinasi zat pengatur tumbuh (ZPT) asam 2,4-Diklorofenoksiasetat (2,4- D) dan kinetin pada media MS berhasil menginduksi pembentukan kalus dari eksplan (Setiawati, dkk., 2019).

Pemberian zat pengatur tumbuh pula dapat mempengaruhi produksi metabolit sekunder, hal ini disebabkan zat pengatur tumbuh yang ditambahkan dapat menyebabkan perubahan fisiologi dan biokimia tumbuhan melalui pengaturan kerja enzim. ZPT akan menginduksi sintesis enzim yang ekspresinya tergantung sintesis RNA dan protein. Peningkatan jumlah enzim yang terlibat dalam metabolit sekunder juga akan meningkatkan senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan (Faramayuda, dkk., 2016).

II.2.3 Sterilisasi

Sterilisasi merupakan suatu usaha yang dilakukan untuk mencegah terjadinya kontaminasi baik yang disebabkan oleh jamur, bakteri, maupun virus. Pada kultur jaringan, biasanya dilakukan sterilisasi peralatan kultur jaringan, media kultur, dan bahan tanam yang digunakan (Wulandari, dkk., 2021). Berbagai bahan kimia seperti etanol, air brom (BW), hidrogen peroksida (H_2O_2), merkuri klorida ($HgCl_2$), natrium hipoklorit ($NaOCl$), kalsium hipoklorit ($CaOCl$), perak nitrat ($AgNO_3$), fungisida, serta agen anti infeksi seringkali digunakan dalam proses sterilisasi permukaan bahan tanam untuk menunjang keberhasilan dalam memperbanyak tanaman melalui kultur jaringan (Withana, dkk., 2022).

Kontaminasi yang disebabkan oleh bakteri dan jamur merupakan masalah yang sering menyerang kultur jaringan tanaman. Kontaminasi dapat diartikan

sabagai kondisi lingkungan kultur yang terganggu akibat adanya kontaminan yang masuk baik pada media maupun eksplan (Heriansyah dan Elfi, 2020). Sumber kontaminasi dapat berasal dari peralatan yang terbuat dari kaca maupun plastik, media kultur, peralatan yang digunakan untuk memindahkan eksplan ke media, bahan tanam yang dipakai, serta ruang penanaman dan pertumbuhan eksplan. Persiapan dan pemeliharaan sistem kultur jaringan memerlukan sterilisasi media kultur, wadah kultur, dan sterilisasi permukaan benih atau jaringan tanaman yang dikultur, serta sterilisasi semua peralatan yang digunakan untuk kegiatan kultur jaringan agar dapat terhindar dari adanya kontaminasi (Wulandari, dkk., 2021).

Sterilisasi ruangan dilakukan dengan cara mengaplikasikan sterilan pada ruang laboratorium khususnya ruang tanam dan ruang inkubasi pertumbuhan. Untuk sterilisasi alat dilakukan dengan panas-basah menggunakan autoklaf atau panas-kering dengan menggunakan oven. Alat-alat yang perlu disterilkan adalah alat-alat yang digunakan sebagai tempat medium tumbuh dan alat-alat menanam. Sterilisasi eksplan berprinsip mematikan mikroorganisme tanpa mematikan jaringan eksplan tersebut. Sterilisasi eksplan dapat dilakukan dengan beberapa cara diantaranya dengan menggunakan etanol sebagai bahan perendam, Perendaman sikloheksana, pencucian dengan sodium hipoklorit, penyimpanan semalam dalam lemari pendingin, serta dapat dilakukan dengan perendaman natrium klorat dan pencucian dengan kalsium hipoklorit karbonat (Apriliyana dan Baiq, 2021).

II.2.3.1 Nanopartikel

Pada saat ini, kita sudah berada di era setiap aspek kehidupan memiliki sentuhan nano, baik itu kosmetik yang kita gunakan, tekstil yang kita pakai, peralatan yang kita gunakan, makanan yang kita makan, gadget yang kita gunakan,

atau lingkungan tempat kita tinggal. Nanoteknologi melibatkan studi dan manipulasi bahan pada skala panjang di bawah 100 nm. Visioner yang pertama kali meramalkan era nano adalah Richard Feynman. Pada bulan Desember 1959, dia mengatakan bahwa "*There's Plenty of Room at the Bottom*" pada pertemuan tahunan *American Physical Society* di Caltech. Perkataan dari Richard Feynman kemudian terbukti dengan adanya nanoteknologi yang membombardir semua lapisan masyarakat, dan setiap disiplin ilmu, baik itu biologi, kimia, fisika, teknik maupun kedokteran (Kim, dkk., 2017).

Nanoteknologi saat ini memanfaatkan kemajuan dalam bidang kimia, fisika, ilmu material dan bioteknologi untuk menciptakan material baru yang memiliki sifat unik karena strukturnya ditentukan pada skala nanometer. Salah satu contoh dari nanoteknologi yakni pemanfaatan nanopartikel dalam berbagai sektor kehidupan (Kim, dkk., 2017). Nanopartikel didefinisikan sebagai partikel kecil alami atau rekayasa dengan ukuran antara 1 hingga 100 nm, jika dibandingkan dengan rekan massal mereka. Nanopartikel ini menunjukkan sifat fisik dan kimia yang berbeda secara signifikan. Nanopartikel memiliki sifat unik termasuk bentuk, ukuran, luas permukaan besar, kristalinitas, fungsionalisasi permukaan, porositas, potensi zeta, hidrofobisitas, atau hidrofilisitas (Chugh, dkk., 2021).

Salah satu aplikasi terpenting dari nanoteknologi adalah dalam bidang ilmu tanaman yang memberikan efek menguntungkan bagi tanaman dan tanah dengan berfungsi sebagai pupuk untuk meningkatkan pertumbuhan dan produktivitas tanaman, antimikroba untuk manajemen penyakit dan biosensor untuk memantau kualitas tanah dan kesehatan tanaman. Dalam kultur jaringan tanaman, ada banyak penelitian yang menunjukkan hasil positif dari pemanfaatan nanoteknologi. Salah

satunya yakni nanopartikel yang digunakan untuk meningkatkan perkecambahan biji, meningkatkan pertumbuhan dan hasil tanaman, meningkatkan produksi senyawa bioaktif, serta mengurangi kontaminasi pada tanaman (Kim, dkk., 2017).

Nanopartikel tertentu menunjukkan sifat antimikroba tergantung pada karakteristik mereka seperti ukuran, distribusi, dan bentuk. Oleh karena itu, nanopartikel telah menjadi alternatif yang layak untuk senyawa berbahaya untuk mengurangi pertumbuhan mikroba dalam kultur jaringan. Rute aksi antimikroba yang paling menonjol telah diidentifikasi sebagai perlekatan nanopartikel ke sel mikroba dan spesies oksigen reaktif, serta penetrasinya di dalam sel. Dalam proses kultur jaringan tanaman, Nanopartikel dapat dimanfaatkan sebagai nutrisi, desinfektan, atau keduanya (Withana, dkk., 2022).

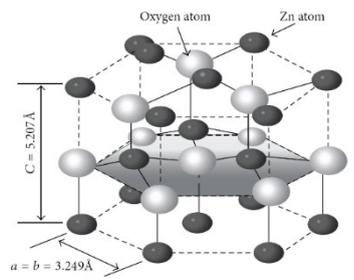
Nanopartikel yang banyak digunakan dalam bidang pertanian yakni Ag, ZnO, CuO, TiO₂, and Al₂O₃ (Ahmed, dkk., 2020). Diantara nanopartikel yang lain, seng oksida (ZnO-NPs) memberikan potensi yang paling besar untuk ilmu tanaman yang memberikan aspek menjanjikan untuk pertumbuhan dan hasil tanaman yang lebih baik. Hal ini menunjukkan solusi penting untuk populasi dunia yang eksplosif (Thounaojam, dkk., 2021).

II.2.3.1.1 Zinc Oxida (ZnO)

Seng oksida adalah senyawa anorganik dengan rumus molekul ZnO. ZnO biasanya berbentuk bubuk putih. Serbuk ZnO banyak digunakan sebagai aditif dalam berbagai bahan dan produk termasuk keramik, kaca, semen, karet, pelumas, cat, salep, perekat, plastik, pigmen, makanan, baterai, ferit, dan penghambat api. Di kerak bumi, ZnO hadir sebagai mineral yang terbatas, tetapi sebagian besar ZnO yang digunakan untuk tujuan komersial diproduksi secara sintetis. ZnO sering

disebut semikonduktor II-VI dalam ilmu material karena seng (Zn) dan oksigen (O) termasuk dalam golongan ke-2 dan ke-6 dalam tabel periodik (Sabir, dkk., 2014).

Studi struktural Nanopartikel ZnO telah dianalisis dengan difraksi sinar-X (XRD). Nanopartikel ZnO yang disintesis ditemukan memiliki struktur wurtzite. Ukuran kristal rata-rata ditentukan oleh difraksi sinar-X (XRD) ditemukan sebagai 29,66 dan 32,68 nm. Seng (Zn) dan oksigen (O) atau uap campuran oksigen diangkut dan bereaksi satu sama lain menghasilkan pembentukan struktur nano ZnO. Ada banyak cara untuk menghasilkan Zn dan uap oksigen. Penguraian ZnO merupakan cara yang lebih mudah, langsung, dan sederhana. Namun, ini terbatas pada suhu yang sangat tinggi seperti 1400 °C (Haque, dkk., 2020).



Gambar 2. Struktur Tetrahedral ZnO-NPs
Sumber : Sabir, dkk., 2014

Semikonduktor ZnO memiliki beberapa sifat unik seperti transparansi yang baik, mobilitas elektron yang tinggi, celah pita lebar, dan pendaran suhu ruangan yang kuat. Sifat unik tersebut memotivasi para peneliti untuk mengembangkan banyak teknik yang lebih sederhana dan murah untuk menghasilkan struktur nano dari bahan yang penting secara teknologi. Beberapa nanopartikel oksida logam diproduksi dengan kemungkinan aplikasi di masa depan. Di antara mereka seng oksida (ZnO) dianggap salah satu nanopartikel yang baik dieksploitasi. Celah pita lebar dan energi ikat eksitonik yang besar telah membuat seng oksida (ZnO) penting baik untuk aplikasi ilmiah maupun industri (Sabir, dkk., 2014).

Zinc Oxida (ZnO-NPs) merupakan salah satu alternatif dalam mengurangi kontaminasi pada kultur jaringan. ZnO-NPs yang dibiosintesis untuk tujuan antibakteri memiliki beberapa mode aksi. Pertama, mereka mengganggu integritas dan membran potensial bakteri. Kemudian, ZnO-NPs membentuk spesies oksigen reaktif (ROS) dan menginduksi spesies reaktif nitrogen untuk menghambat beberapa enzim spesifik dan akhirnya menyebabkan kematian sel. ZnO-NPs juga dapat menghasilkan hidrogen peroksida, menembus dan menyebabkan cedera pada membran sel dan selanjutnya mencegah perkembangan sel. Hal ini sebagai akibat dari afinitas antara ZnO dan sel bakteri. ZnO-NPs dianggap sebagai reagen antibakteri potensial yang ideal untuk menggantikan beberapa antibiotik karena toksisitas selektif serta penghambatan efektifnya terhadap beberapa bakteri seperti dehidrogenase (Aquisman, dkk., 2020).

II.2.3.2 Fungisida

Salah satu faktor penghambat dalam budidaya tanaman adalah penyakit yang disebabkan oleh jamur. Kontaminasi yang disebabkan oleh jamur akan menyebabkan eksplan tanaman menjadi lebih kering dan akan muncul hifa jamur pada tanaman yang terserang. Kontaminasi jamur bisa dicirikan dengan garis-garis seperti benang yang berwarna putih sampai keabu-abuan. Oleh karena itu, dibutuhkan suatu pengendalian untuk mengurangi kontaminasi terutama pada tanaman yang disebabkan oleh jamur (Rahmadi, dkk., 2020).

Pengendalian kimia menggunakan fungisida merupakan salah satu cara yang sampai saat ini masih banyak dilakukan. Beberapa faktor yang menyebabkan fungisida masih dipakai secara luas yakni belum tersedianya varietas tahan

penyakit, permintaan konsumen akan produk pertanian dengan kualitas tinggi, intensitas penyakit yang tinggi pada beberapa komoditas pertanian unggulan, dan ketertarikan masyarakat terhadap varietas introduksi yang umumnya rentan terhadap penyakit (Rianti, dkk., 2020).

Fungisida yang populer digunakan di Indonesia antara lain Manzate-200 (mankozeb), Benlate (benomil), Benlate T-20 (benomil+tiram), Daconil (klorotalonil), dan Dithane M-45 (mankozeb). Dithane M-45 mengandung bahan aktif Mencozeb yang berspektrum luas yang dapat menghambat enzim-enzim patogen pada tanaman. Fungisida yang mengandung bahan aktif mancozeb merupakan salah satu fungisida kontak yang banyak digunakan untuk mengendalikan jamur yang muncul di permukaan tanaman, berupa tepung berwarna kuning kehijau-hijauan yang disuspensikan kedalam air. fungisida ini untuk tanaman tidak menimbulkan fitotoksik bila konsentrasi yang digunakan tidak berlebihan, tidak menggumpal dan cepat larut dalam air dan efektif untuk campuran fungisida dalam pembibitan (Rianti, dkk., 2020).

Senyawa Mankozeb merupakan fungisida yang sering digunakan pada sterilisasi teknik kultur *in vitro*, karena senyawa mankozeb dalam merk dagang Dithane-M45 dapat mencegah infeksi jamur dengan menghambat perkecambahan spora yang menempel dipermukaan tanaman. Fungisida yang berbahan aktif mankozeb yang termasuk kedalam golongan fungisida ditiokarbamat bekerja sebagai agen pengkhelat unsur yang dibutuhkan oleh jamur, sehingga terjadinya proses penghambatan pada pertumbuhan jamur, dengan mekanisme kerja yang biasa disebut dengan *multisites action* atau bekerja pada banyak tempat (nonspesifik), sehingga fungisida yang memiliki kandungan senyawa Mankozeb ini

mampu menekan pertumbuhan kontaminasi dan tingkat kematian pada jaringan (Rianti, dkk., 2020).

II.2.3.3 Natrium Hipoklorit (NaOCl)

Salah satu faktor yang mempengaruhi keberhasilan kultur *in vitro* yaitu ada tidaknya kontaminasi mikroorganisme pada media maupun eksplan. Kontaminasi yang terdapat pada eksplan dapat dihilangkan dengan cara melakukan sterilisasi eksplan. Salah satu bahan kimia yang umum digunakan untuk sterilisasi eksplan yaitu Natrium Hipoklorit (NaOCl). Natrium Hipoklorit merupakan bahan kimia berupa larutan berwarna putih agak kekuningan, berbau khas dan sedikit menyengat yang dapat berfungsi sebagai desinfektan karena dapat melepaskan ion klorin yang mampu membunuh mikroorganisme. NaOCl termasuk golongan halogen yang teroksidasi. Larutan ini merupakan desinfektan yang mampu membunuh bakteri, virus, jamur, parasit, dan beberapa spora (Lidiyanti, dkk., 2020).

Natrium hipoklorit (NaOCl) merupakan desinfektan tingkat tinggi yang mekanisme kerjanya adalah membunuh mikroorganisme dengan mengoksidasi ikatan peptida pada membran sel dan mendenaturasi protein. Natrium hipoklorit merusak integritas dinding dan sitoplasma sel mikroorganisme dengan merusak protein, karbohidrat, serta lipid struktural dari bakteri yang kemudian mengganggu aktivitas protein selular karena memiliki potensi mengoksidasi yang tinggi. Hal ini disebabkan karena NaOCl bersifat elektronegatif, sehingga dapat mengoksidasi ikatan peptida dan mendenaturasi protein dari enzim sel bakteri. Enzim sulfhidril merupakan enzim yang terganggu aktivitasnya. Akibatnya terjadi penurunan pembentukan adenosin trifosfat sebagai energi utama sel. Hal ini yang menyebabkan sintesis DNA tertekan dan terjadi kerusakan DNA mikroorganisme (Utami, dkk., 2016).