

# 16325-59008-1-CE\_Surya.doc

*by*

---

**Submission date:** 29-Apr-2021 10:22PM (UTC+0700)

**Submission ID:** 1573446057

**File name:** 16325-59008-1-CE\_Surya.doc (557K)

**Word count:** 4342

**Character count:** 26619

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10

# PERBANDINGAN METODE STERILISASI UNTUK PERBANYAKAN *Rubus rosifolius* SECARA *IN VITRO*

## Comparison of Sterilization Methods for In Vitro Propagation of *Rubus rosifolius*

Muhammad Imam Surya\*, Lily Ismaini

Pusat Penelitian Konservasi Tumbuhan dan Kebun Raya - LIPI, Jl Ir. H. Juanda No.13 Bogor 16122

\*Corresponding author: muhammad.imam.surya@lipi.go.id

### Abstrak

11 *Rubus rosifolius* adalah salah satu jenis rasberi liar yang memiliki potensi cukup tinggi  
12 untuk dikembangkan sebagai tanaman buah. Selain itu, metode perbanyakan tanaman  
13 merupakan salah satu faktor yang berpengaruh dalam pembudidayaan. Lebih lanjut,  
14 informasi terkait upaya perbanyakan *R. rosifolius* secara *in vitro*, masih sangat  
15 terbatas. Percobaan ini ditujukan untuk mengetahui metode sterilisasi  
16 yang tepat pada eksplan *R. rosifolius*. Sebanyak 17 metode sterilisasi telah diujicobakan  
17 di Laboratorium Kultur Jaringan BKT Kebun Raya Cibodas-LIPI. Adapun bahan  
18 sterilisasi yang digunakan, yaitu detergen, tween 80, bakterisida, fungisida,  
19 *clorox*/pemutih (NaClO), alkohol 70%, larutan *Plant Preservative Mixture* (PPM),  
20 vitamin C/asam askorbat, dan *povidone iodine*/antiseptik. Hasil percobaan  
21 menunjukkan bahwa metode sembilan merupakan metode sterilisasi yang cukup  
22 optimum untuk sterilisasi eksplan *R. rosifolius*. Hal tersebut karena metode sembilan  
23 mampu menghambat munculnya mikroorganisme endofitik hingga 8 hari dan tidak  
24 menyebabkan warna eksplan menjadi cokelat/*browning*. Tahapan sterilisasi pada  
25 metode sembilan meliputi pencucian dengan detergen, perendaman dengan bakterisida  
26 + fungisida selama ±30 menit, perendaman dengan *clorox* 10% + tween 80 selama ±15  
27 menit, pencucian dengan larutan PPM selama ±15 menit.

28 **Kata kunci:** Eksplan; *In vitro*; Metode; *Rubus rosifolius*; Sterilisasi;

### Abstract

31 *Rubus rosifolius* is one of the species from wild raspberries, which is has high potential to de-  
32 velop as a fruit crops. In the other hand, the technique of plant propagation became an im-  
33 portant factor for cultivation. Moreover, the information related to the *in vitro* propagation of  
34 *R. rosifolius* is very limited. This experiment was aimed to determine the best method to sterilize  
35 an explants of *R. rosifolius*. About 17 methods of sterilization have been tried in the laborator-  
36 ium of tissue culture at Cibodas Botanical Garden-Indonesian Institute of Sciences. The combi-  
37 nation of detergent, tween 80, bactericide, fungicide, sodium hypochlorite (NaClO), alcohol  
38 70%, plant preservative mixture (PPM), ascorbic acid, and povidone iodine were used  
39 during the experiment. The results show that the method of sterilization number nine could  
40 be inhibit the emergence of endophytic organisms for eight days and keep an explant in green  
41 with a little brownish compared by the others methods. The method of sterilization number nine  
42 was consist of several steps i.e. wash by detergent, soak in bactericide + fungicide for ±30  
43 minutes, soak in sodium hypochlorite 10% + tween 80 for ±15 minutes, wash by PPM solution  
44 for ±15 minutes.

45 **Keywords:** Explants; *In vitro*; Methods; *Rubus rosifolius*; Sterilizations;

### PENDAHULUAN

48 *Rubus rosifolius* merupakan salah satu kelompok *wild raspberry* atau rasberi liar yang  
49 tumbuh di hutan pegunungan Indonesia (Surya, 2009). *R. rosifolius* termasuk ke dalam suku  
50 *Rosaceae*, sama seperti stroberi, apel, *pear*, *blackberry* maupun mawar. *R. rosifolius*  
51 merupakan tanaman buah yang memiliki potensi besar untuk dikembangkan dan

Field Code Changed

1 dibudidayakan di Indonesia (Normasiwi & Surya, 2016). Lebih lanjut, pengembangan *R.*  
2 *rosifolius* dapat ditujukan ke arah buah segar, bahan baku makanan, minuman maupun  
3 industri serta berbagai jenis produk turunan lainnya. Namun, upaya pengembangan tersebut  
4 masih terkendala pada teknik pembudidayaan maupun perbanyakan bibit. Upaya perbanyakan  
5 bibit secara *in vitro* menjadi salah satu alternatif dalam pengembangan bibit *Rubus*. Kultur  
6 jaringan atau teknik perbanyakan *in vitro* merupakan salah satu teknik perbanyakan yang  
7 telah banyak digunakan baik untuk tanaman budi daya (Nofrianinda, Yulianti, & Agustina,  
8 2018; Conger, 2018), hias (Dinarti, Sayekti, & Alitalia, 2010; Kulus & Woźny, 2020),  
9 perkebunan (Mariska & Suci, 2011; Harsanti, Dwimahyani, & Tarmizi, 2017; Kadir, Dahlia,  
10 & Darmawan, 2018) maupun hutan (Libby & Ahuja, 2013; Olivier, 2016; Akbar, Faridah,  
11 Indrioko, & Herawan, 2017). Kultur jaringan adalah cara perbanyakan dengan memanfaatkan  
12 bagian tanaman, seperti bagian tunas, daun, akar, sel, atau organ jaringan lainnya yang  
13 ditanam dalam botol dengan kondisi yang aseptik (Kumar & Loh, 2012). Perbanyakan  
14 tanaman melalui kultur jaringan memberikan peluang yang besar untuk menghasilkan bibit  
15 tanaman sepanjang tahun dalam waktu relatif singkat, lebih ekonomis, dan berpotensi untuk  
16 dikomersialisasikan, seragam serta sifatnya yang identik dengan induknya (Hussain, Ahmed,  
17 Nazir, & Ullah, 2012).

18 Dalam perbanyakan kultur jaringan, terdapat beberapa faktor yang memengaruhi  
19 keberhasilan dari teknik perbanyakan tersebut, di antaranya yaitu faktor lingkungan, stabilitas  
20 genetik, seleksi, dan sterilisasi terhadap bahan eksplan, cara mentransfer tanaman hasil teknik  
21 kultur jaringan, sifat totipotensi dari eksplan, serta nilai ekonomis kegiatan tersebut (Hendaryono  
22 & Wijayani, 1994). Lebih lanjut, dalam pelaksanaan kultur jaringan tanaman, salah  
23 satu gangguan yang sering terjadi disebabkan oleh kondisi dari bahan eksplan yang  
24 digunakan. Pada umumnya, tumbuhan yang berasal dari lapang mengandung debu, kotoran,  
25 hama, penyakit, dan berbagai kontaminan baik pada permukaan maupun bagian dalam  
26 jaringan. Oleh karena itu, mencegah dan menghindari kontaminasi merupakan hal mutlak  
27 yang perlu dilakukan dalam kegiatan kultur jaringan. Hal tersebut dapat menjadi sangat  
28 menentukan untuk proses keberhasilan dalam perbanyakan tanaman dengan kultur jaringan.  
29 Untuk mencegah dan menghindari terjadinya kontaminasi, maka perlu dilakukan proses  
30 sterilisasi. Kegiatan sterilisasi tidak hanya dilakukan pada bahan eksplan, tetapi juga terhadap  
31 bahan dan peralatan, serta ruangan yang digunakan. Proses sterilisasi bahan eksplan  
32 merupakan salah satu kegiatan penting dalam kultur jaringan. Kegiatan sterilisasi eksplan  
33 bertujuan untuk mengeliminasi mikroorganisme yang mungkin terbawa saat pengambilan  
34 eksplan, yang dapat menimbulkan kontaminasi sehingga menghambat pertumbuhan eksplan  
35 menjadi tanaman utuh. Sterilisasi bahan tanaman (eksplan) merupakan langkah awal yang  
36 cukup penting dan dapat menentukan keberhasilan penanaman secara *in vitro*. Eksplan yang  
37 akan ditanam pada media tumbuh harus bebas dari mikroorganisme kontaminan. Tahap  
38 sterilisasi sering menjadi kendala utama keberhasilan perbanyakan secara *in vitro*. Terlebih  
39 iklim tropis seperti Indonesia yang memungkinkan kontaminan seperti cendawan dan bakteri  
40 terus tumbuh sepanjang tahun (Balitbiogen, 2003). Kondisi tumbuhan yang terserang penyakit  
41 atau terkontaminasi mikroba tidak mudah untuk digunakan dalam kegiatan pengkulturan.  
42 Selain itu faktor morfologi dari bahan eksplan yang digunakan seperti banyaknya bulu atau  
43 duri pada eksplan, tingkat kekerasan eksplan, kandungan air, tipe, usia maupun ukuran  
44 eksplan juga dapat menjadi hambatan dalam proses sterilisasi eksplan.

45 Metode sterilisasi dalam teknik kultur jaringan sangat bervariasi serta tergantung pada  
46 jenis tanaman, eksplan yang digunakan dan lingkungan tumbuhnya. Penggunaan eksplan  
47 tangkai anak daun dalam penelitian ini didasarkan pada hasil dari Lenz, Magnusson, dan Dai  
48 (2016) serta Lozinschii (2017) yang menyatakan bahwa perbanyakan secara *in vitro* pada  
49 spesies *Rubus* lebih efektif menggunakan eksplan yang berasal dari daun. Dengan  
50 diketahuinya bahan dan metode sterilisasi eksplan yang tepat, maka hal ini akan

Formatted: Not Highlight

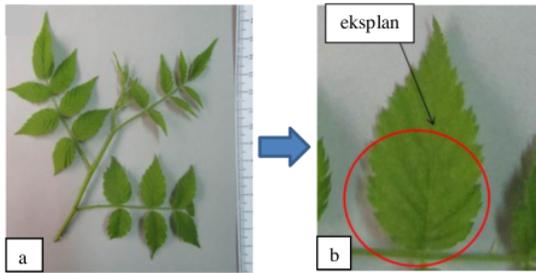
Field Code Changed

Formatted: Not Highlight

1 mempermudah proses perbanyak bibit dan pengembangan tanaman *R. rosifolius*. Penelitian  
2 ini bertujuan untuk mencari bahan dan metode sterilisasi eksplan daun *R. rosifolius* yang tepat  
3 dalam perbanyak tanaman secara *in vitro*.

#### 4 MATERIAL DAN METODE

6 Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium kultur Jaringan Balai Konservasi  
7 Tumbuhan Kebun Raya Cibodas, Cianjur - Jawa Barat. Alat yang digunakan dalam penelitian  
8 meliputi *Laminar Air Flow Cabinet* (L AFC), autoklaf, oven, pisau, pinset, *scalpel*, gunting  
9 stek, timbangan digital, botol kaca, cawan petri, erlenmeyer, bunsen, kompor, gelas ukur.  
10 Bahan yang digunakan sebagai eksplan dalam penelitian yaitu tangkai anak daun *R. rosifolius*  
11 (Gambar 1) yang berasal dari tanaman koleksi Kebun Raya Cibodas, media Murashige &  
12 Skoog (MS), detergen, tween 80, bakterisida, fungisida, *clorox* (NaHClO)/pemutih, alkohol  
13 70%, larutan *Plant Preservative Mixture* (PPM), vitamin C, *povidone-iodine*/antiseptik.  
14 Proses sterilisasi alat dilakukan dengan metode sterilisasi basah menggunakan autoklaf yang  
15 dilanjutkan dengan pengeringan di oven. Sterilisasi bahan tanam atau eksplan dibagi atas 17  
16 metode sterilisasi (Tabel 1). Setiap tahapan dalam proses sterilisasi terdiri atas proses  
17 pencucian, pembilasan atau perendaman. Lebih lanjut, setiap metode sterilisasi minimal di  
18 ulang sebanyak tiga kali. Setelah proses sterilisasi, eksplan ditanam ke dalam botol kultur  
19 yang berisi media MS. Botol kultur disimpan pada ruang kultur dengan suhu  $\pm 20$  °C dan lama  
20 peyinaran 16:8 (*light:dark*) jam.



22  
23  
24 **Gambar 1.** Pucuk daun *Rubus rosifolius* (a) dan tangkai anak daun yang digunakan sebagai  
25 eksplan (b)

**Tabel 1.** Tujuh belas metode sterilisasi eksplan daun *Rubus rosifolius*

Tahapan	Metode 1	Metode 2	Metode 3	Metode 4	Metode 5	Metode 6	Metode 7	Metode 8	Metode 9
1	Pencucian dengan detergen	Pencucian dengan detergen	Pencucian dengan detergen	Pencucian dengan detergen	Pencucian dengan detergen	Pencucian dengan detergen	Pencucian dengan detergen	Pencucian dengan detergen	Pencucian dengan detergen
2	Tween 80 ±1 menit	Tween 80 ±5 menit	Tween 80 ±5 menit	Bakterisida + fungisida ±30 menit	Bakterisida + fungisida ±30 menit	Bakterisida + fungisida ±30 menit	Bakterisida + fungisida ±30 menit	Bakterisida + fungisida ±30 menit	Bakterisida + fungisida ±30 menit
3	Bakterisida ±1 jam	Bakterisida ±2 jam	Bakterisida & fungisida ± 2 Jam	Vitamin C ±5 menit	Clorox 10% + tween 80 ±10 menit	Clorox 10% + tween 80 ±10 menit	Clorox 5% + tween 80 ±30 menit	Clorox 10% + tween 80 ±10 menit	Clorox 10% + tween 80 ±15 menit
4	Fungisida ±16 jam	Fungisida ±1 jam	Clorox 10% ±2 menit	Larutan PPM ±15 menit	Vitamin C ±5 menit	Clorox 5% + tween 80 ±10 menit	Larutan PPM ±15 menit	Clorox 5% + tween 80 ±10 menit	Larutan PPM ± 15 menit
5	Clorox 20% ±15 menit	Clorox 20% ±1 menit	Alkohol 70% ±1 menit	Clorox 20% ±1 menit	Larutan PPM ±15 menit	Ditanam	Vitamin C ±15 menit	Larutan PPM ±15 menit	Ditanam
6	Alkohol 70% ±1 menit	Vitamin C ±15 menit	Ditanam	Larutan PPM ±15 menit	Ditanam	-	Ditanam	Ditanam	-
7	Ditanam	Larutan PPM ±15 menit	-	Ditanam	-	-	-	-	-
8	-	Alkohol 70% ±1 menit	-	-	-	-	-	-	-
9	-	Ditanam	-	-	-	-	-	-	-

2

3

4

5



1 **HASIL**

2 Berdasarkan hasil percobaan yang dilakukan dengan menggunakan 17 metode  
3 sterilisasi, diketahui bahwa waktu munculnya kontaminasi terlama ditunjukkan oleh metode  
4 sembilan selama delapan hari setelah tanam dan diikuti oleh metode delapan selama tujuh hari  
5 setelah tanam. Sedangkan waktu kontaminasi tercepat ditunjukkan oleh metode satu dan  
6 metode tiga, yaitu selama tiga hari setelah tanam. Dari 17 metode sterilisasi tersebut diketahui  
7 rata-rata waktu kontaminasi berkisar antara 4–6 hari setelah tanam (Tabel 2).

8 **Tabel 2.** Rekapitulasi hasil perbandingan 17 metode sterilisasi

No	Metode sterilisasi	Lama waktu kontaminasi	Warna eksplan
1	Metode 1	3 hari setelah tanam	Cokelat
2	Metode 2	4 hari setelah tanam	Cokelat kehijauan
3	Metode 3	3 hari setelah tanam	Hijau kecokelatan
4	Metode 4	4 hari setelah tanam	Hijau
5	Metode 5	4 hari setelah tanam	Hijau kecokelatan
6	Metode 6	6 hari setelah tanam	Hijau kecokelatan
7	Metode 7	6 hari setelah tanam	Hijau kecokelatan
8	Metode 8	7 hari setelah tanam	Hijau kecokelatan
9	Metode 9	8 hari setelah tanam	Hijau kecokelatan
10	Metode 10	5 hari setelah tanam	Hijau kecokelatan
11	Metode 11	4 hari setelah tanam	Hijau
12	Metode 12	5 hari setelah tanam	Hijau
13	Metode 13	5 hari setelah tanam	Coklat kehijauan
14	Metode 14	5 hari setelah tanam	Hijau kecokelatan
15	Metode 15	5 hari setelah tanam	Hijau kecokelatan
16	Metode 16	5 hari setelah tanam	Cokelat kehijauan
17	Metode 17	6 hari setelah tanam	Cokelat kehijauan

9 Kontaminasi (Gambar 2) yang terjadi pada eksplan tersebut dikelompokkan ke dalam  
10 dua jenis yaitu kontaminasi yang disebabkan oleh jamur atau kontaminasi yang disebabkan  
11 oleh bakteri. Untuk mencegah dan menanggulangi hal tersebut, dalam penelitian ini telah  
12 digunakan beberapa bahan untuk mensterilkan eksplan di antaranya, detergen, tween 80,  
13 bakterisida, fungisida, pemutih, alkohol 70%, larutan PPM, vitamin C, dan *povidone-iodine*.  
14 ~~B Lebih lanjut~~, berdasarkan dari warna eksplan yang dihasilkan pasca sterilisasi, terlihat  
15 bahwa dari 17 metode tersebut dapat ~~kita~~ dikelompokkan menjadi empat kategori yaitu hijau,  
16 hijau kecokelatan, cokelat kehijauan, dan cokelat. Dari 17 metode tersebut, terdapat tiga  
17 metode yang tetap menghasilkan eksplan dengan warna hijau yaitu metode 4, 11, dan 12. Hal  
18 tersebut menunjukkan bahwa bahan dan waktu yang digunakan dalam proses sterilisasi sangat  
19 berpengaruh terhadap kualitas jaringan eksplan *R. rosifolius*. Lebih lanjut, Gambar 3 menun-  
20 jukkan salah satu kategori warna eksplan pasca proses sterilisasi.



23 **Gambar 2.** Kontaminasi yang terjadi pada eksplan daun *Rubus rosifolius*  
24

1



2  
3 **Gambar 3.** Hasil sterilisasi eksplan daun *Rubus rosifolius* dengan hasil akhir berwarna hijau  
4 kekeklatan

5  
6 **PEMBAHASAN**

7 Detergen merupakan salah satu bahan berupa tepung atau cairan yang umumnya  
8 digunakan untuk pembersih pakaian. Umumnya detergen yang digunakan untuk proses  
9 sterilisasi dalam kultur jaringan berbentuk tepung. Secara umum detergen terdiri atas  
10 surfaktan, *filler*, aditif, dan *builder*. Adapun bahan aktif yang umum digunakan dalam  
11 detergen yaitu sodium alkil *benzene* sulfonat sebesar 20%. Fungsi utama penggunaan  
12 detergen dalam sterilisasi, yaitu untuk melepaskan kotoran-kotoran yang melekat atau  
13 menempel pada eksplan. Selain itu, detergen juga mampu untuk membunuh bakteri dan jamur  
14 yang ada di luar jaringan, yang digunakan dalam proses sterilisasi.

15 Tween 80 adalah ester asam lemak polioksietilen sorbitan, dengan nama kimia  
16 polioksietilen 20 sorbitan 5 nonooleat yang memiliki rumus molekul, yaitu  $C_{64}H_{124}O_{26}$ .  
17 Karakteristik tween 80, pada suhu 25 °C berwujud cair, berwarna kekuningan, dan  
18 berminyak, memiliki aroma yang khas, dan berasa pahit, larut dalam air dan etanol, tidak larut  
19 dalam minyak mineral. Kegunaan tween 80 antara lain sebagai zat pembasah, emulgator, dan  
20 peningkat kelarutan (Rowe, Sheskey, & Quinn, 2009). Selain itu tween 80 juga berfungsi se-  
21 bagai peningkat penetrasi (Akhtar et al., 2011). Dalam proses kultur jaringan, tween 80  
22 seringkali dicampurkan dengan deterjen atau digunakan untuk merendam jenis-jenis eksplan  
23 sebelum dilakukan proses sterilisasi.

24 Bakterisida adalah jenis pestisida yang dipergunakan untuk membunuh bakteri. Selain  
25 itu, penggunaan bakterisida ditujukan untuk menghambat perkembangan penyakit pada tana-  
26 man. Bahan aktif yang umumnya digunakan dalam bakterisida di antaranya streptomisin sul-  
27 fat 20% dan *foranthracnose thiram* 50%. Lebih lanjut, fungisida merupakan pestisida yang  
28 secara spesifik membunuh atau menghambat pertumbuhan dan perkembangan fungi. Secara  
29 umum fungisida dikelompokkan ke dalam dua golongan, yaitu fungisida selektif (fungisida  
30 yang membunuh jenis-jenis jamur tertentu) dan fungisida non-selektif. Selain itu, fungisida  
31 dapat juga dikelompokkan menjadi fungisida kontak dan sistemik. Berdasarkan bahan aktif  
32 yang digunakan dalam fungisida umumnya-kelompokberasal dari kelompok mankozeb 80%,  
33 propineb 70% atau benomil 50% memiliki cakupan penggunaan yang cukup luas terhadap  
34 jamur/cendawan pada kelas *Basidiomycetes*, *Ascomycetes*, dan *Deuteromycetes* (George &  
35 Fox, 2014). Dalam proses sterilisasi, bakterisida, dan fungisida sangat diperlukan, khususnya  
36 untuk beberapa eksplan yang berasal dari lapangan seperti daun maupun pucuk. Sedangkan  
37 untuk penanaman yang berasal dari biji seperti anggrek maupun *Azalea*, umumnya tidak me-  
38 rlukan proses sterilisasi dengan bakterisida maupun fungisida. Hal ini karena proses steri-  
39 lisasi dilakukan dengan cara membakar bagian permukaan luar buahnya.

40 *Clorox*/sodium hipoklorit (NaClO) merupakan 5 salah satu cairan yang sering digunakan  
41 dalam sterilisasi eksplan. Hal ini karena NaClO dapat membunuh berbagai macam tipe  
42 bakteri, jamur, dan virus (Yildiz, Özcan, Kahramanogullari, & Tuna, 2012; Al-amodi, 2016).  
43 Lebih lanjut, Hesami, Daneshvar, dan Lotfi-Jalalabadi (2017) melaporkan bahwa NaClO

Formatted: Not Highlight

1 mampu mengurangi persentase kontaminasi eksplan tanaman *Ficus religiosa*. Kesesuaian  
2 antara waktu perendaman eksplan dan konsentrasi NaClO perlu diperhatikan karena sifatnya  
3 yang fitotoksitas. Konsentrasi NaClO yang terlalu tinggi dapat menyebabkan permukaan  
4 eksplan terbakar dan mengalami *browning* saat penanaman (Afridi et al., 2015). Selain itu,  
5 Jafari, Daneshvar, dan Lotfi-Jalalabadi (2016) melaporkan bahwa eksplan dengan waktu  
6 perendaman dalam NaClO yang lama pada konsentrasi yang rendah menghasilkan tingkat steri-  
7 lisasi yang lebih baik.

8 Alkohol merupakan salah satu senyawa kimia yang memiliki gugus -OH. Pada  
9 umumnya senyawa alkohol yang digunakan dalam proses sterilisasi dalam bentuk etanol  
10 (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH). Dalam kultur jaringan, etanol dengan konsentrasi 70% dan 90% sering  
11 digunakan sebagai salah satu antiseptik dalam proses sterilisasi. Alkohol 70% mampu  
12 mengurangi tingkat kontaminasi yang disebabkan oleh jamur maupun bakteri (Lukmana &  
13 Rahmawati, 2018). Selain digunakan untuk sterilisasi eksplan, alkohol juga digunakan sebagai  
14 salah satu bahan untuk sterilisasi alat dan lingkungan kerja pada kegiatan kultur jaringan.  
15 Lebih lanjut, Wulandari dan Nasution (2014) melaporkan pada saat penanaman alat yang  
16 digunakan disterilisasi dengan mencelupkannya ke dalam alkohol 70% dan membakarnya  
17 dengan bunsen. Selain itu, meja kerja disemprot terlebih dahulu dengan alkohol 70%,  
18 dibersihkan dengan tisu dan kemudian *blower* dinyalakan untuk meniupkan udara steril secara  
19 kontinu melewati tempat kerja. Sterilisasi tangan pekerja juga dilakukan dengan  
20 menyemprotkan alkohol 70% untuk menghindari kontaminasi yang berasal dari pekerja.

21 Larutan *Plant Preservative Mixture* (PPM) merupakan salah satu jenis larutan yang  
22 digunakan dalam proses sterilisasi eksplan. Larutan PPM dapat berfungsi sebagai antibakteri  
23 dan antimikroba. Dalam proses penggunaannya, larutan PPM relatif tahan terhadap panas,  
24 sehingga cukup efektif untuk mencegah atau mengurangi kontaminasi mikroba dalam kultur  
25 jaringan. Pada dosis optimal, sangat efektif menghambat kontaminasi yang disebabkan oleh  
26 udara, air maupun kontak manusia dan tidak merusak proses perkecambahannya biji secara *in*  
27 *vitro*, proliferasi kalus, maupun regenerasi. Lebih lanjut, dalam beberapa kasus juga  
28 dilaporkan bahwa PPM digunakan untuk mengurangi kontaminasi endogen (Yam & Arditti,  
29 2017).

30 Vitamin C atau asam askorbat merupakan salah satu bahan yang digunakan dalam  
31 proses sterilisasi suatu eksplan. Babaei, Ashikin, Abdullah, Saleh, dan Abdullah (2013)  
32 melaporkan bahwa pra-perlakuan dengan vitamin C 10 g/100 mL dapat mengurangi  
33 kontaminasi dan pencokelatan secara efektif. Dalam percobaan ini, penggunaan vitamin C  
34 pada metode 4 dan metode 12 terlihat dapat mengurangi pencokelatan, namun tidak terlihat  
35 secara signifikan pada metode 2, metode 5, dan metode 14 yang masih menunjukkan adanya  
36 pencokelatan pada eksplan pasca proses sterilisasi.

37 *Povidone-iodine* adalah salah satu antiseptik yang umum digunakan sebagai disinfektan  
38 pada kulit manusia dengan merek dagang betadine. *Povidone-iodine* merupakan bahan  
39 organik dengan berbahan aktif polivinil pirolidon yang merupakan kompleks *iodine* yang larut  
40 dalam air. *Povidone-iodine* berfungsi sebagai bakterisida yang juga membunuh spora, jamur,  
41 virus, dan sporozoa. *Povidone-iodine* diabsorpsi secara sistemik sebagai iodine, dengan jumlah  
42 yang tergantung konsentrasi, waktu pemberian, dan tipe jaringan. Hasni, Barus, Sitepu, dan  
43 Br.Hutabarat (2014) melaporkan efektivitas penggunaan *povidone-iodine* dengan konsentrasi  
44 10% selama 5 menit dalam proses sterilisasi eksplan kentang.

45 Bakteri atau jamur endofitik merupakan organisme mikro yang berada di dalam  
46 eksplan, sehingga sulit untuk diatasi dengan metode sterilisasi permukaan. Pada beberapa  
47 kasus, telah dilaporkan bahwa terdapat mikroorganisme endofitik pada marga *Rubus* seperti  
48 *Hypoxylon submonticulosum* dan spesies *Phomopsis* yang diisolasi dari daun (Shamoun &  
49 Sieber, 2000; Burgess, Ibrahim, Sørensen, & Sumarah, 2017) serta beberapa jenis bakteri  
50 yang di isolasi dari akar (Contreras, Loeza, Villegas, Farias, & Santoyo, 2016). Lebih lanjut,

Formatted: Not Highlight  
Formatted: Not Highlight  
Formatted: Not Highlight

Formatted: Not Highlight  
Formatted: Not Highlight  
Formatted: Not Highlight

Formatted: Not Highlight  
Formatted: Not Highlight  
Formatted: Not Highlight

Formatted: Not Highlight

Formatted: Not Highlight  
Formatted: Not Highlight  
Formatted: Not Highlight

1 saat eksplan baru dikultur, umumnya koloni bakteri sering tidak muncul. Hal ini disebabkan  
2 mikroorganisme yang hidupnya memang secara endofit di dalam jaringan tanaman. Namun  
3 bakteri tersebut tetap ada dalam eksplan dan akan muncul setelah proses subkultur berkali-  
4 kali. Selain itu, telah dilaporkan juga juga dilaporkan, bahwa beberapa jenis bakteri endofitik  
5 dalam eksplan telah terbukti tidak merugikan pertumbuhan kultur, tetapi justru memacu  
6 pertumbuhan tanaman yang dikulturkan (Yusnita, 2003). Berdasarkan hasil penelitian ini,  
7 maka dapat direkomendasikan bahwa tahapan sterilisasi untuk *R. rosifolius* dapat  
8 menggunakan metode sembilan dengan kombinasi dari detergen, bakterisida, fungisida,  
9 *clorox*, tween 80, dan larutan PPM. Namun, hasil tersebut masih dapat dimodifikasi lebih  
10 lanjut, khususnya dari waktu perendaman atau pengaplikasian agar dapat menghasilkan  
11 eksplan yang tetap berwarna hijau.

## 12 KESIMPULAN

14 Bahan dan tahapan dalam proses sterilisasi daun *R. rosifolius* sangat berpengaruh  
15 terhadap kualitas eksplan yang akan dikultur. Tahapan sterilisasi pada metode sembilan yang  
16 meliputi pencucian dengan detergen, perendaman dengan bakterisida + fungisida selama ±30  
17 menit, perendaman dengan *clorox* 10% + tween 80 selama ±15 menit, pencucian dengan  
18 larutan PPM selama ±15 menit, kemudian ditanam dalam botol kultur, tercatat mampu  
19 menghambat munculnya mikroorganisme endofitik hingga delapan hari dan tidak  
20 menyebabkan warna eksplan menjadi cokelat/*browning*. Sedangkan untuk metode 9, 11, dan  
21 12 merupakan metode sterilisasi yang dapat mempertahankan warna dari eksplan anak daun  
22 *R. rosifolius*. Lebih lanjut, penentuan konsentrasi dan lama waktu penerapan perlakuan dapat  
23 memengaruhi kualitas akhir dari eksplan.

## 24 UCAPAN TERIMA KASIH

26 Penulis mengucapkan terima kasih kepada Fitria Astarini, selaku mahasiswi Politeknik  
27 Negeri Lampung yang telah membantu proses kegiatan di Laboratorium BKT Kebun Raya  
28 Cibodas-LIPI. Selain itu, penulis juga mengucapkan terima kasih kepada BKT Kebun Raya  
29 Cibodas-LIPI yang telah membantu proses pembiayaan kegiatan ini.

## 31 DAFTAR PUSTAKA

- 32 Afridi, M. I., Ali, N., Shinwari, K. I., Hassan, M. A., Butt, A. A., Shah, A., ... Muhammad, A.  
33 (2015). Optimization of aseptic conditions for micropropagation of Olive (*Olea euro-*  
34 *paea* L.) Cultivar Uslu. *Journal of Bio-Molecular Sciences (JBMS)*, 3(1), 35-43.
- 35 Akbar, M. A., Faridah, E., Indrioko, S., & Herawan, T. (2017). Induksi tunas, multiplikasi,  
36 dan perakaran *Gyrinops versteegii* (Gilg.) Domke secara *in vitro*. *Jurnal Pemuliaan*  
37 *Tanaman Hutan*, 11(1), 1-13. doi: 10.20886/jph.2017.11.1.155-158.
- 38 Akhtar, N., Rehman, M. U., Khan, H. M. S., Rasool, F., Saeed, T., & Murtaza, G. (2011).  
39 Penetration enhancing effect of polysorbate 20 and 80 on the *in vitro* percutaneous ab-  
40 sorption of L-ascorbic acid. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 10(3), 281-  
41 288. doi: 10.4314/tjpr.v10i3.1.
- 42 Al-amodi, M. O. (2016). Fungi associated with seeds of ashford variety of groundnut grown  
43 in Yemen and its disinfection *in vitro* using sodium hypochlorite. *Journal of Global Bio-*  
44 *sciences*, 5(1), 3414-3422.
- 45 Babaei, N., Ashikin, N., Abdullah, P., Saleh, G., & Abdullah, T. L. (2013). Control of con-  
46 tamination and explant browning in *Curculigo latifolia* *in vitro* cultures. *Journal of Me-*  
47 *dicinal Plants Research*, 7(8), 448-454. doi: 10.5897/JMPR12.859.
- 48 Balitbiogen. (2003). *Perbanyakan bibit jati melalui kultur jaringan*. Bogor: Balai Penelitian  
49 Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian.
- 50 Burgess, K. M. N., Ibrahim, A., Sørensen, D., & Sumarah, M. W. (2017). Trienylfuranol A

Formatted: Not Highlight

Field Code Changed

Formatted: Not Highlight

1 and trienylfuranone A-B: Metabolites isolated from an endophytic fungus, *Hypoxyton*  
2 *submonticulosum*, in the raspberry *Rubus idaeus*. *Journal of Antibiotics*, 70(6), 721-725.  
3 doi: 10.1038/ja.2017.18.

4 Conger, B. V. (2018). *Cloning agricultural plants via in vitro techniques*. New York: CRC  
5 Press.

6 Contreras, M., Loeza, P. D., Villegas, J., Farias, R., & Santoyo, G. (2016). A glimpse of the  
7 endophytic bacterial diversity in roots of blackberry plants (*Rubus fruticosus*). *Genetics*  
8 *and Molecular Research*, 15(3), 1-10. doi: 10.4238/gmr.15038542.

9 Dinarti, D., Sayekti, U., & Alitalia, Y. (2010). Kultur jaringan kantong semar (*Nepenthes mi-*  
10 *rabilis*). *Jurnal Hortikultura Indonesia*, 1(2), 59-65. doi:  
11 <https://doi.org/10.29244/jhi.1.2.59-65>

12 George, R. A., & Fox, R. T. (2014). *Diseases of temperate horticulture*. CABI. United King-  
13 dom.

14 Harsanti, L., Dwimahyani, I., & Tarmizi, T. (2017). Perbaikan produksi kapas (*Gossypium*  
15 *hirsutum*) varietas niab 999 dengan teknik mutasi radiasi. *Jurnal Ilmiah Aplikasi Isotop*  
16 *dan Radiasi*, 13(1), 59. doi: 10.17146/jair.2017.13.1.3962.

17 Hasni, V. U., Barus, A., Sitepu, F. E. T., & Br.Hutabarat, R. (2014). Respons pemberian  
18 coumarin terhadap produksi mikro tuber planlet kentang (*Solanum tuberosum* L.) varie-  
19 tas granola. *Jurnal Agroekoteknologi Universitas Sumatera Utara*, 2(4), 1552-1562. doi:  
20 10.32734/jaet.v2i4.8459.

21 Hendaryono, D. P., & Wijayani, A. (1994). *Teknik kultur jaringan, pengenalan dan petunjuk*  
22 *perbanyakan tanaman secara vegetatif-modern*. Yogyakarta: Kanisius.

23 Hesami, M., Daneshvar, M. H., & Lotfi-Jalalabadi, A. (2017). Effect of sodium hypochlorite  
24 on control of in vitro contamination and seed germination of *ficus religiosa*. *Iranian*  
25 *Journal of Plant Physiology*, 7(4), 2157-2162. doi: 10.22034/ijpp.2017.537980.

26 Hussain, A., Ahmed, I., Nazir, H., & Ullah, I. (2012). Plant tissue culture: Current status and  
27 opportunities. In A. Leva (Eds.), *Recent Advances in Plant in Vitro Culture* (pp. 1-28).  
28 London, United Kingdom: IntechOpen.

29 Jafari, M., Daneshvar, M., & Lotfi-Jalalabadi, A. (2016). Control of in vitro contamination of  
30 *Passiflora Caerulea* by using of sodium hypochlorite. *Indo-American Journal of Agri-*  
31 *cultural and Veterinary Sciences*, 4(2), 8-15.

32 Kadir, A., Dahlia., & Darmawan. (2018). Karakteristik produk dan kualitas minyak nilam  
33 hasil kultur *in vitro* pada budidaya tanaman sela kakao dan kelapa. *Jurnal Ilmiah Budi-*  
34 *daya*, 53(9), 1689-1699.

35 Kulus, D., & Woźny, A. (2020). Influence of light conditions on the morphogenetic and bio-  
36 chemical response of selected ornamental plant species under in vitro conditions: A  
37 mini-review. *Biotechnologia*, 101(1), 75-83. doi: 10.5114/bta.2020.92930.

38 Kumar, P. P., & Loh, C. S. (2012). Plant tissue culture for biotechnology. In A. Altman, & P.  
39 M. Hasegawa (Eds.), *Plant biotechnology and agriculture* (pp. 131-138). Netherlands:  
40 Elsevier Inc.

41 Lenz, R. R., Magnusson, V. A., & Dai, W. (2016). Plant regeneration of "Amethyst" purple  
42 raspberry (*Rubus occidentalis* x *R. idaeus* 'Amethyst') from in vitro leaf tissues. *Acta*  
43 *Horticulturae*, 1133, 491-496. doi: 10.17660/ActaHortic.2016.1133.76.

44 Libby, W. J., & Ahuja, M. R. (2013). Micropropagation and clonal options in forestry. In M.  
45 R. Ahuja (Eds.), *Micropropagation of woody plants* (pp. 425-442). Dordrecht, Nether-  
46 lands: Springer.

47 Lozinschii, M. (2017). In vitro morphogenesis of *Rubus* species. *Journal of Botany*, 9(2), 23-  
48 29.

49 Lukmana, M., & Rahmawati, L. (2018). Sterilization effectiveness of rubber leaf explant (*He-*  
50 *vea brasiliensis*) in in vitro culture. *Bioprospek: Jurnal Ilmiah Biologi*, 13(1), 19-25. doi:

Formatted: Not Highlight

1 <https://doi.org/10.30872/bp/v13i2.418>

2 Mariska, I., & Suci, R. (2011). Pengadaan bibit tebu melalui kultur jaringan. *Jurnal Litbang*

3 *Pertanian*, 6(3413), 1-2. **Formatted: Not Highlight**

4 Nofrianinda, V., Yulianti, F., & Agustina, E. (2018). Pertumbuhan planlet stroberi (*Fragaria*

5 *ananassa* D) var. dorit pada beberapa variasi media modifikasi *in vitro* di Balai

6 Penelitian Jeruk dan Buah Subtropika (BALITJESTRO). *Biotropic: The Journal of*

7 *Tropical Biology*, 1(1), 32-41. doi: 10.29080/biotropic.2017.1.1.32-41. **Formatted: Not Highlight**

8 Normasiwi, S., & Surya, M. I. (2016). The potential fruit crop of Cibodas Botanical Garden.

9 *Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education*, 8(2), 206. doi:

10 10.15294/biosaintifika.v8i2.5235. **Formatted: Not Highlight**

11 Olivier, M. (2016). Micropropagation and production of forest trees. In Y. Park, J. M. Bonga,

12 & H. Moon (Eds.), *Vegetative propagation of forest trees* (pp. 32-55). Seoul, Korea:

13 NIFoS. **Formatted: Not Highlight**

14 Rowe, R. C., Sheskey, P., & Quinn, M. (2009). *Handbook of pharmaceutical excipients*. Lon-

15 don: Libros Digitales-Pharmaceutical Press. **Formatted: Not Highlight**

16 Shamoun, S. F., & Sieber, T. N. (2000). Colonisation of leaves and twigs of *Rubus parviflo-*

17 *rus* and *R. spectabilis* by endophytic fungi in a reforestation site in British Columbia.

18 *Mycological Research*, 104(7), 841-845. doi: 10.1017/S095375629900221X. **Formatted: Not Highlight**

19 Surya, M. I. (2009). Keanekaragaman dan potensi *Rubus* spp. koleksi Kebun Raya Cibodas.

20 *Warta Kebun Raya* 9(1), 19-25. **Formatted: Not Highlight**

21 Wulandari, A. S., & Nasution, S. (2014). Pengaruh bahan sterilan terhadap keberhasilan in-

22 siasi eksplan *Paulownia* (*Paulownia elongata* SY Hu) secara *in vitro*. *Jurnal Silvikultur*

23 *Tropika*, 5(1), 1-6. **Formatted: Not Highlight**

24 Yam, T. W., & Arditti, J. (2017). *Micropropagation of orchids*. New Jersey, United States:

25 John Wiley & Sons Ltd. **Formatted: Not Highlight**

26 Yildiz, M., Özcan, S. F., Kahramanogullari, C. T., & Tuna, E. (2012). The effect of sodium

27 hypochlorite solutions on the viability and *in vitro* regeneration capacity of the tissue.

28 *The Natural Products Journal*, 2(4), 328-331. doi: 10.2174/2210315511202040328. **Formatted: Not Highlight**

29 Yusnita. (2003). *Kultur jaringan tanaman: Cara memperbanyak tanaman secara efisien*. Ja-

30 karta: Agromedia Pustaka. **Formatted: Not Highlight**

ORIGINALITY REPORT

**20%**  
SIMILARITY INDEX

**20%**  
INTERNET SOURCES

**1%**  
PUBLICATIONS

**9%**  
STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

**1** [jultika.oulu.fi](http://jultika.oulu.fi) Internet Source **6%**

**2** [smujo.id](http://smujo.id) Internet Source **4%**

**3** [lppm.uns.ac.id](http://lppm.uns.ac.id) Internet Source **3%**

**4** [fr.scribd.com](http://fr.scribd.com) Internet Source **1%**

**5** [repository.uinjkt.ac.id](http://repository.uinjkt.ac.id) Internet Source **1%**

**6** [es.scribd.com](http://es.scribd.com) Internet Source **1%**

**7** [id.wikipedia.org](http://id.wikipedia.org) Internet Source **1%**

**8** [www.ccrjournal.com](http://www.ccrjournal.com) Internet Source **1%**

**9** [repository.unej.ac.id](http://repository.unej.ac.id) Internet Source **1%**

---

Exclude quotes Off

Exclude matches < 1%

Exclude bibliography On