

## Variasi Waktu Dan Sterilisasi Untuk Anggrek *Cattleya sp.* Sebelum Penanaman In-Vitro

Fauziah Harahap (1\*), Edmy Febriani Br Bangun (2), Cicik Suriani (3), Syahmi Edi (4), Ayu Putri Ningsih (5), Nusyirwan (6)

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Medan, Indonesia

\*Corresponding author: [fauziahharahap@unimed.ac.id](mailto:fauziahharahap@unimed.ac.id) (1\*), [cicik.pendbio@gmail.com](mailto:cicik.pendbio@gmail.com) (3), [syahmiedi@unimed.ac.id](mailto:syahmiedi@unimed.ac.id) (4), [ayuputriningsih@unimed.ac.id](mailto:ayuputriningsih@unimed.ac.id) (5), [nusyirwan.nusyirwan1@gmail.com](mailto:nusyirwan.nusyirwan1@gmail.com) (6)

### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk Untuk mendapatkan teknik sterilisasi yang terbaik untuk eksplan batang anggrek *Cattleya sp.* muda. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan YAHDI Perum Pelabuhan Jl. Lambung No. 8 Tanah 600 Medan Marelan. Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode *eksperimental laboratorium* dalam mencoba beberapa teknik sterilisasi. Untuk mengetahui teknik sterilisasi yang tepat, penelitian ini menggunakan eksplan lapang anggrek *Cattleya Sp.* dengan jenis pendekatan deskriptif kuantitatif. Data dianalisis dan ditabulasi menggunakan parameter penelitian hari terkontaminasi, persentase eksplan yang terkontaminasi, persentase eksplan browning, persentase eksplan yang membengkak, persentase eksplan yang membentuk bakal tunas dan persentase eksplan hidup. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat 2 teknik sterilisasi yang optimal dalam sterilisasi eksplan lapang Anggrek *Cattleya Sp.* yaitu teknik sterilisasi 2 dan 4. Teknik sterilisasi 2 menggunakan zat sterilan deterjen, akuades steril, Tween-20, benomil 50%, agrimicin, NaOCl 15% & 10% dan alcohol 70% kemudian teknik sterilisasi 4 dengan zat sterilan Clorox 1,05%, HgCl 0,02% dan akuades steril merupakan teknik sterilisasi yang tersebut. Hal ini ditunjukkan dengan rendahnya tingkat kontaminasi eksplan dan tampaknya spot-spot hijau pada eksplan dimana eksplan akan mengalami pertumbuhan tunas. Faktor-faktor yang menyebabkan kontaminasi pada eksplan Anggrek *Cattleya Sp.* adalah kurangnya kehati-hatian praktikan pada saat melakukan sterilisasi eksplan lapang, kontaminasi endogenus yang tinggi dan penggunaan zat steril yang kurang tepat.

**Kata kunci** : Anggrek *Cattleya Sp.*, sterilisasi, faktor kontaminasi

### ABSTRACT

This study aims to find the best sterilization technique for explants of *Cattleya sp.* young. This research was conducted at the YAHDI Tissue Culture Laboratory, Perum Pelabuhan, Jl. Hull No. 8 Land 600 Medan Marelan. The research design used in this study was a laboratory experimental method in trying out several sterilization techniques. To determine the proper sterilization technique, this study used field explants of *Cattleya Sp.* with a type of quantitative descriptive approach. Data analyzed and tabulated using research on contaminated days, proportion of contaminated explants, proportion of browning explants, proportion of explants that swelled, proportion of explants that formed future tuna and proportion of live explants. The results of this study indicate that there are 2 optimal sterilization techniques in sterilizing *Cattleya Sp.* Orchid field explants. Sterilization techniques 2 and 4. Sterilization technique 2 uses sterile detergent, sterile distilled water, Tween-20, 50% benomyl, agrimicin, 15% & 10% NaOCl and 70% alcohol then sterilization technique 4 with 1.05% Clorox sterilant, HgCl 0.02% and sterile distilled water is the sterilization technique. This is indicated by the low level of explant contamination and the appearance of green spots on the explants where the explants will experience shoot growth. Factors causing contamination of *Cattleya Sp.* Orchid explants. are the lack of careful practice when sterilizing field explants, high endogenous contamination and the use of sterile substances that are not appropriate.

**Keywords**: *Cattleya Sp.* Orchid, sterilization, contamination factors

## I. PENDAHULUAN

### 1. Latar Belakang

Anggrek *Cattelya* merupakan salah satu jenis anggrek yang bervariasi dan meliputi sekitar 113 spesies, varietas dan forma yang tak terhitung jumlahnya serta ribuan hibrid baik alami maupun buatan termasuk salah satunya *Cattelya* (Kartohardiprodjo dan Gandhi, 2009). Habitat asli *Cattelya* berasal dari daerah Amerika Tengah Selatan, termasuk Venezuela, Brasil, Peru, Meksiko, Guyana dan Argentina dan *Cattelya* merupakan tanaman epifit dan memiliki *pseudobulb* tebal yang dapat menyimpan banyak air dan cadangan makanan (Parnata, 2005). Usaha yang dapat dilakukan untuk melestarikan anggrek *Cattelya* salah satunya adalah dengan cara perbanyak tanaman secara *in vitro*. Dengan menggunakan teknik kultur *in vitro* kita bisa melakukan berbagai upaya pelestarian dan pengembangan anggrek. Kultur *in vitro* telah terbukti sangat berguna bagi kelompok tanaman tertentu yang sulit untuk diperbanyak dengan teknik konvensional (Fathurrahman, 2013). Teknik kultur jaringan tanaman memiliki prospek yang lebih baik daripada metode perbanyak tanaman secara vegetatif konvensional karena dengan kultur jaringan dapat menghasilkan tanaman baru dalam jumlah yang banyak tanpa dipengaruhi waktu atau musim (Harahap, 2011). Kegagalan pada teknik kultur jaringan sering disebabkan oleh adanya kontaminasi pada eksplan dan media kultur. Kontaminasi merupakan faktor dominan yang mempengaruhi keberhasilan dalam teknik kultur jaringan terutama pada eksplan (Fitriani *et al.*, 2019). Menurut Mariska dan Sukmadjaja (2003), kontaminasi merupakan gangguan yang terjadi pada kultur jaringan berupa mikroorganisme seperti jamur, bakteri bahkan virus. Untuk pencegahan terjadinya gangguan dalam kultur jaringan maka dilakukan sterilisasi yang tepat dan sesuai pada eksplan yang digunakan. Menurut Harahap *et al.*, (2015), salah satu keberhasilan kultur jaringan adalah dengan cara sterilisasi eksplan sebelum ditanam. Sterilisasi merupakan langkah penting untuk menghindari kontaminasi sebelum melakukan penanaman. Beberapa bahan kimia dapat digunakan sebagai sterilisasi, seperti merkuri klorida (HgCl<sub>2</sub>), natrium hipoklorit (NaOCl) dan lain-lain. Ini bahan kimia dapat membunuh mikroorganisme eksternal tetapi tidak dapat membunuh mikroorganisme internal di jaringan tanaman. Beberapa laboratorium menggunakan antibiotik untuk membunuh kontaminan endogen. Metode sterilisasi eksplan dalam kultur jaringan sangat bervariasi serta tergantung pada jenis tanaman yang digunakan sebagai eksplan. Namun tidak semua mikroorganisme dapat disterilkan dengan 1 (satu) metode saja. Hal ini menjadi dasar mencari metode sterilisasi yang terbaik untuk batang anggrek *Cattelya*. Kegiatan sterilisasi bertujuan untuk mengeleminasi patogen yang terbawa saat pengambilan eksplan dari lapangan yang menimbulkan kontaminasi serta menghambat perbanyak secara *in vitro*. Oleh karena itu, dalam penelitian ini perlu dilakukannya sterilisasi tanaman *Cattelya sp.* serta alat-alat dan bahan yang digunakan untuk penanaman anggrek *Cattelya sp.* secara *in vitro*. Setelah melakukan sterilisasi, kemudian melakukan penanaman eksplan pada medium kultur secara *in vitro*.

### 2. Perumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah bagaimana variasi waktu dan sterilisasi untuk anggrek *Cattelya sp.* sebelum penanaman *in vitro*

### 3. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hasil penelitian dari variasi waktu dan sterilisasi untuk anggrek *Cattelya sp.* sebelum penanaman *in vitro*.

### 4. Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah untuk mendapatkan manfaat dari penelitian mengenai variasi waktu dan sterilisasi untuk anggrek *Cattelya sp.* sebelum penanaman *in vitro* dan aplikasi dalam dunia akademis dan bagi aplikasinya bagi peneliti lainnya.

## II. METODE

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli 2022 – November 2022 di Laboratorium Kultur Jaringan YAHDHI Perum Pelabuhan Jl. Lambung No. 8 Tanah 600 Medan Marelan. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksplan batang anggrek *Cattelya sp.* yang masih muda, media MS (Murashige skoog), agar-agar, Zat Pengatur Tumbuh Indole Asetic Acid (IAA), Benzyl Amino Purin (BAP), alkohol 70%, gula, aquades, sabun, clorox, spritus, twenn 20. Alat-alat yang digunakan dalam penelitian terdiri dari botol kultur, beaker glass, lampu bunsen, pinset, spatula, scalpel, cawan petri, autoklaf, pipet volume, hand sprayer, aluminium foil, Laminaf Air Flow (LAFC), batang pengaduk, gelas ukur, pH meter, pemanas, timbangan analitik, lemari pendingin, tissue, kertas milimeter, label, rak kultur, masker, jas laboratorium dan alat-alat tulis. Perlakuan yang dilakukan berupa perbedaan teknik sterilisasi dengan media tanam yang sama setiap perlakuan yaitu media MS dengan campuran ZPT BAP + IAA. Media yang digunakan yaitu MS + BAP 1 ppm + IAA 0,2 ppm. Ada 6 teknik sterilisasi yang akan dilakukan masing-masing dari teknik sterilisasi tersebut dibuat sebanyak 10 botol dan masing-masing ditanam 1 potongan eksplan. Seluruh perlakuan teknik sterilisasi 1 sampai dengan teknik sterilisasi 6 dilakukan secara prosedural mulai dari diluar LAFC misal teknik 1 dengan pencucian deterjen 2 g/L sampai bersih serta dilanjutkan dengan prosedur di dalam LAFC dengan perendaman benomil 50% dan agrimicin selama 1 jam dan seterusnya sampai dengan selesai begitu juga dengan teknik lainnya. Teknik sterilisasi yang digunakan pada penelitian ini dari teknik sterilisasi 1-3 diperoleh dari penelitian Hamdani et al., (2020) dan teknik sterilisasi 4-6 diperoleh dari penelitian Harahap et al., 2015. Teknik sterilisasi yang digunakan dapat dilihat pada tabel 1.

**Tabel 2.1. Bahan sterilisasi yang digunakan pada eksplan *Cattelya sp.***

Teknik	Perawatan	Nama Sterilisasi dan Durasi	Perawatan (menit)
	Di Luar LAFC	Deterjen 2 g/L (Dicuci)	Sampai bersih
		Benomil 50% (3 g/L) (Direndam)	1 jam
1	Di dalam LAFC	Agrimicin (3 g/L) (Direndam) Tween-20 (2 tetes) (Direndam) NaOCL 10% (Direndam)	1 jam 20 menit 20 menit
	Di luar LAFC	Air mengalir (Dicuci)	Sampai bersih
		Deterjen (2 g/L) (Direndam)	5 menit
		Akuades steril (Dibilas)	Sampai bersih
		Tween-20 (3 tetes) (Direndam)	10 menit
		Akuades steril (Dibilas)	Sampai bersih
2		Benomil 50% (2 g/L) (Direndam)	1 jam
		Agrimicin (2 g/L) (Direndam)	1 jam
		Akuades steril (Dibilas)	Sampai bersih
	Di dalam LAFC	NaOCl 15% (Direndam)	10 menit
		NaOCl 10% (Direndam) Alkohol 70% (Direndam) Akuades steril (Dibilas)	15 menit 1 menit Sampai bersih
	Di luar LAFC	Alkohol 70% (Dicelupkan)	

Harahap Fauziyah, Febriani Br Bangun E, Suryani Cicik, Edi Syahmi, Putri Ningsih A, Nusyirwan : Variasi Waktu Dan Sterilisasi Untuk Anggrek *Cattelya sp.* Sebelum Penanaman In-Vitro

		Tisu + Akuades steril (Dilap)	
3	Di dalam LAFC	Alkohol 70% (Direndam) Akuades steril (Direndam) NaOCl 20% (Direndam)	10 menit 5 menit 7 menit
		Akuades steril (Direndam) NaOCl 10% (Direndam) Akuades steril (Direndam) NaOCl 5% (Direndam) Akuades steril (Direndam)	5 menit 7 menit 5 menit 7 menit 5 menit
	Di luar LAFC	1,05% Clorox	7 menit
	Di dalam LAFC	0,02% HgCl	10 detik
4		Akuades steril (eksplan dicuci 3 kali) Eksplan dipotong, ukuran 1x1 cm, ditanam	10 menit
	Di luar LAFC	30% Alkohol	5 menit
5	Di dalam LAFC	0.26% NaOCl 0.21% NaOCl	3 menit 3 menit
		0,16% NaOCl	2 menit
		10% Alkohol (Eksplan dipotong, ukuran 1x1 cm) Akuades steril (eksplan dicuci 3 kali) dan ditanam	1 menit

### III. HASIL PENELITIAN

#### Hasil

**Tabel 3. 1.** Hasil sterilisasi dengan persentase eksplan terkontaminasi

Eksplan Terkontaminasi Minggu Setelah Tanam (MST)									
Teknik	Botol Awal	Terkontaminasi Hari (ke-)	1 MST	2 MST	3 MST	4 MST	5 MST	6 MST	Total (%)
1	10	38	4	4	0	0	0	0	80%
2	10	14	1	1	0	0	0	0	20%
3	10	20	5	3	0	0	0	0	80%
4	10	41	1	0	0	3	0	0	30%
5	10	3	9	0	0	0	0	0	90%
6	10	37	0	3	0	4	0	0	70%

Berdasarkan Tabel 3.1. dapat dilihat bahwa pada 6 teknik sterilisasi ini, persen tertinggi eksplan yang terkontaminasi yaitu pada teknik sterilisasi V yaitu 90% dari 10 botol yang

terjadi di hari 3 eksplan sudah terkontaminasi sebanyak 90%. Selanjutnya, diikuti oleh teknik sterilisasi I dan III berjumlah 80% dari masing- masing 10 botol dimana pada teknik sterilisasi I pada pengamatan 1-5 MST dan teknik sterilisasi III pada pengamatan 1-3 MST. Pada teknik sterilisasi VI juga termasuk eksplan terkontaminasi tertinggi yaitu berjumlah 70% pada pengamatan 1-5 MST. Untuk persen terendah eksplan yang terkontaminasi yaitu pada teknik sterilisasi II yaitu 20% pada pengamatan 2 MST dan diikuti oleh teknik sterilisasi IV yaitu 40% dari 10 botol pada pengamatan 1-6 MST.

**Tabel 3.2.** Hasil sterilisasi dengan persentase eksplan browning

Eksplan Browning Minggu Setelah Tanam (MST)								
Teknik	Botol Awal	1	2	3	4	5	6	Total (%)
1	10	6	0	1	0	0	0	70%
2	10	2	1	0	0	0	0	30%
3	10	5	0	0	0	0	0	5%
4	10	0	0	0	0	0	0	0%
5	10	2	0	0	0	0	0	20%
6	10	0	0	0	1	0	0	10%

Selanjutnya pada tabel 3.2 untuk persen eksplan browning dapat dilihat pada 6 teknik sterilisasi ini, persen tertinggi eksplan yang mengalami browning yaitu pada teknik sterilisasi I yaitu 70% dan diikuti oleh teknik sterilisasi III yaitu 50%. Untuk persen terendah eksplan yang mengalami browning yaitu pada teknik sterilisasi VI yaitu 10%. Selanjutnya diikuti oleh teknik sterilisasi V yaitu 20% dan teknik sterilisasi II yaitu 30%.

**Tabel 3.3.** Hasil sterilisasi dengan persentase eksplan membengkak

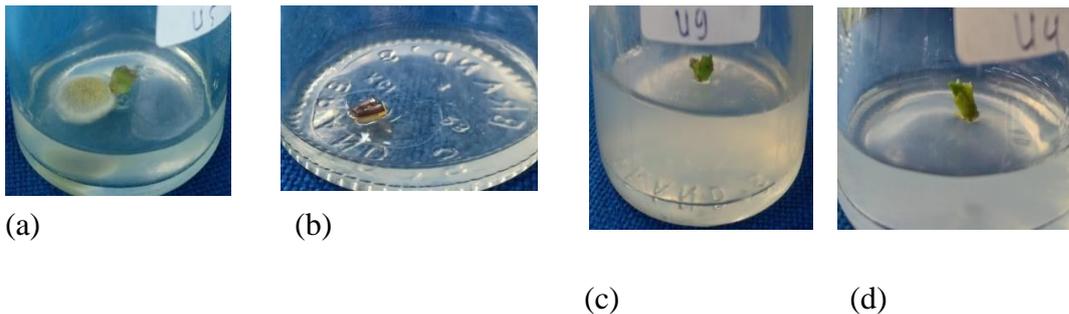
Eksplan Membengkak Minggu Setelah Tanam (MST)								
Teknik	Botol Awal	1	2	3	4	5	6	Total (%)
1	10	0	0	0	0	0	0	0%
2	10	0	5	0	0	0	0	50%
3	10	0	0	0	0	0	0	0%
4	10	6	2	1	0	0	0	90%
5	10	0	0	0	0	0	0	0%
6	10	1	2	10	0	0	0	40%

Pada tabel 3.3 diatas, dapat dilihat bahwa ntuk persen eksplan membengkak dapat dilihat persen tertinggi pada 6 teknik sterilisasi ini yaitu pada teknik ke 4 yaitu 90% dan diikuti oleh teknik sterilisasi 2 berjumlah 50% kemudian pada teknik sterilisasi 6 yaitu 40%

**Tabel 3.4.** Hasil sterilisasi dengan persentase eksplan hidup

Eksplan Hidup								
Minggu Setelah Tanam (MST)								
Teknik	Botol Awal	1	2	3	4	5	6	Total (%)
1	10	0	0	0	0	0	0	0%
2	10	0	0	0	0	0	5	50%
3	10	0	0	0	0	0	1	10%
4	10	0	0	0	0	0	6	60%
5	10	0	0	0	0	0	0	0%
6	10	0	0	0	0	0	3	30%

Selanjutnya, pada tabel 3.4 diatas dapat dilihat bahwa persen eksplan hidup dapat dilihat persen tertinggi eksplan hidup pada 6 teknik sterilisasi ini yaitu pada teknik ke 4 yaitu 60% dan diikuti oleh teknik sterilisasi II 50%. Selanjutnya, persen terendah eksplan hidup yaitu pada teknik sterilisasi III yaitu 10% dan diikuti oleh teknik sterilisasi VI yaitu 30%.



Gambar 2. a. Eksplan terkontaminasi jamur dan bakteri, b. Eksplan browning, c. Eksplan membengkak, d. Eksplan muncul bakal tunas

#### IV. KESIMPULAN

Berdasarkan dari hasil penelitian yang sudah dilakukan maka kesimpulan dari penelitian ini adalah : Teknik sterilisasi yang dapat digunakan pada penelitian ini adalah dengan menggunakan teknik sterilisasi 2 dengan menggunakan zat sterilan deterjen, akuades steril, Tween-20, benomil 50%, agrimicin, NaOCl 15% & 10% dan alcohol 70% serta kehati-hatian saat melakukan sterilisasi pada eksplan lapang anggrek *Cattleya sp.* dan teknik sterilisasi 4, yaitu menggunakan Clorox 1,05%, HgCl 0,02% dan aquades steril. Karena dengan menggunakan teknik sterilisasi ini tingkat kontaminan dapat ditekan. Penggunaan teknik sterilisasi ini dapat berhasil optimal apabila pemotongan eksplan dibuat dengan ukuran tidak terlalu kecil. Selain itu, penggunaan konsentrasi yang tepat dapat mendukung keberhasilan sterilisasi.

Harahap Fauziyah, Febriani Br Bangun E, Suryani Cicik, Edi Syahmi, Putri Ningsih A, Nusyirwan : Variasi Waktu Dan Sterilisasi Untuk Anggrek *Cattelya sp.* Sebelum Penanaman In-Vitro

## DAFTAR PUSTAKA

- Adawiyah, A., Supriyatna, A., Amalia, N. N., Muhsin, M. E., Annisa, R., & Solihah, S. F. (2021). Optimasi Sterilisasi Eksplan Umbi dan Bulbil Porang (*Amorphopalus muelleri* Blume.) pada Kultur In Vitro. *AGROSCRIPT: Journal of Applied Agricultural Sciences*, 3(2), 121-131.
- Bangun, I. H., Hanum, H., & Sabrina, T. (2020, February). Exploration and effectiveness test of the potassium solvent bacteria originating from limestone mountain of Bahorok Langkat. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 454, No. 1, p. 012143). IOP Publishing.
- Fathurrahman, F. (2013). Pemberian Beberapa Jenis Auksin Terhadap Pertumbuhan Akar Eksplan Anggrek Secara In Vitro. *Dinamika Pertanian*, 28(2), 97-102.
- Hamdani, S., Nugraha, D., Berliani, T., & Baroroh, U. (2020). Teknik Sterilisasi Eksplan Tunas Kentang Granola Kembang (*Solanum Tuberosum L.*) untuk Kultur in Vitro. *J. Kartika Kimia*. 3, (2), 60-69
- Harahap, F. (2011). *Kultur Jaringan Tanaman*. UNIMED.
- Harahap, F., & Nusyirwan. (2012). Induksi Pertumbuhan Nanas (*Ananas Comosus L*) In Vitro Asal Pangaribuan Dengan Pemberian Zat Pengatur Tumbuh Kinetin. In *Prosiding Seminar Nasional dalam rangka Semirata BKS-PTN Wilayah Barat bidang MIPA tahun 2012* (pp. 100-107).
- Harahap, F., Suriani C., Poerwanto R. & Siallagan J. (2015). Sterilization of Pineapple Explant From Sipahutar North Sumatera, Indonesia (*Ananas comosus L*) And In Vitro Growth Induction. *Asian Journal of Microbiology, Biotechnology & Enviromental Sciences*. 17 (2) : 469-478.
- Parnata, A. S. (2005). *Panduan budi daya perawatan anggrek*. Agromedia Pustaka.
- Rahmadi, A., Wicaksana, N., Nurhadi, B., Suminar, E., Pakki, S. R. T., & Mubarok, S. (2020). Optimasi teknik sterilisasi dan induksi tunas tanaman durian (*Durio zibethinus Murr*) 'Kamajaya' lokal Cimahi Secara in vitro. *Kultivasi*, 19(1), 1083-1088.
- Setiani, N. A., Nurwinda, F., & Astriany, D. (2018). Pengaruh desinfektan dan lama perendaman pada sterilisasi eksplan daun sukun (*Artocarpus altilis* (Parkinson ex. FA Zorn) Fosberg). *Biotropika: Journal of Tropical Biology*, 6(3), 78-82.
- Silvina, Fetmi dan Muniarti., (2007). Pemberian Air Kelapa Muda Pada Media Murashige and Skoog (MS) Untuk Pertumbuhan Eksplan Nanas Secara In-Vitro, Riau, Universitas Riau.
- Sumarti Kartohadiprodjo, N., & Prabowo, G. (2009). *Anggrek*. PT Gramedia Pustaka Utama.
- Zulkarnain (2009) *Kultur Jaringan Tanaman: Solusi Perbanyak Tanaman Budi Daya*. Jakarta: BumiAksara.
- Zulkarnain. (2017). *Kultul Jaringan Tanaman*. UNIMED

Accepted Date	Revised Date	Decided Date	Accepted to Publish
30 Agustus 2023	05 September 2023	28 September 2023	Ya