

PENERAPAN BIOETIK DALAM STERILISASI ALAT DAN MEDIA DALAM KULTUR JARINGAN TERHADAP KEBERHASILAN INISIASI EKSPLAN

**Angely Agriani Siahaan¹, Nadia Rouli Sinaga², Jeki Sidabutar³, Nurbaity Situmorang⁴,
Khairiza Lubis⁵**

siahaanangeli28@gmail.com¹, sinaganadia212@gmail.com², jekisidabutar18@gmail.com³,
situmorang.n@gmail.com⁴, khairizalubis@unimed.ac.id⁵

Universitas Negeri Medan

ABSTRAK

Sterilisasi alat dan media merupakan tahap penting dalam kultur jaringan tanaman untuk mencegah kontaminasi yang dapat menghambat pertumbuhan eksplan. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efektivitas metode sterilisasi, mengidentifikasi faktor yang mempengaruhi keberhasilan sterilisasi, serta menganalisis dampaknya terhadap pertumbuhan eksplan. Studi dilakukan dengan metode deskriptif kualitatif melalui studi Pustaka dan observasi di laboratorium kultur jaringan PT. G10 Agro Tech. Hasil menunjukkan bahwa metode sterilisasi basah dengan autoclave pada suhu 121oC dan tekanan 15 psi selama 15-20 menit memberikan hasil optimal. Faktor utama yang mempengaruhi keberhasilan sterilisasi meliputi jenis metode yang digunakan, suhu dan tekanan yang diterapkan, serta kebersihan lingkungan laboratorium. Selain itu, penerapan bioetika dalam sterilisasi berkontribusi pada keberlanjutan proses kultur jaringan dengan memastikan keamanan, konservasi sumber daya, dan keterjaminan kualitas. Dengan demikian, penelitian ini merekomendasikan penerapan prosedur sterilisasi yang optimal guna meningkatkan efisiensi produksi kultur jaringan tanaman.

Kata Kunci: Bioetik, Sterilisasi, Kultur Jaringan, Eksplan, Autoclave.

ABSTRACT

Sterilization of tools and media is an important step in plant tissue culture to prevent contamination that can inhibit explant growth. This study aims to evaluate the effectiveness of sterilization methods, identify factors that influence the success of sterilization, and analyze their impact on explant growth. The study was conducted using a qualitative descriptive method through literature studies and observations in the tissue culture laboratory of PT. G10 Agro Tech. The results showed that the wet sterilization method with an autoclave at a temperature of 121oC and a pressure of 15 psi for 15-20 minutes gave optimal results. The main factors affecting the success of sterilization include the type of method used, the temperature and pressure applied, and the cleanliness of the laboratory environment. In addition, the application of bioethics in sterilization contributes to the sustainability of the tissue culture process by ensuring safety, resource conservation, and quality assurance. Thus, this study recommends the application of optimal sterilization procedures to improve the efficiency of plant tissue culture production. Keywords: Red potato; Moringa leaf extract, MS, Tissue culture

Keywords: Bioethics, Sterilization, Tissue culture, Explants, Autoclave.

PENDAHULUAN

Kultur jaringan tanaman merupakan teknik bioteknologi yang digunakan untuk memperbanyak tanaman dalam kondisi *in vitro*. Teknik ini memungkinkan produksi tanaman secara massal dengan sifat genetik yang seragam dan bebas dari penyakit. Salah satu faktor utama yang menentukan keberhasilan kultur jaringan adalah sterilisasi alat dan media yang digunakan. Kontaminasi oleh mikroorganisme seperti bakteri dan jamur dapat menyebabkan kegagalan pertumbuhan eksplan dan menghambat regenerasi tanaman. Oleh karena itu, diperlukan metode sterilisasi yang efektif untuk meminimalkan risiko kontaminasi dan meningkatkan keberhasilan kultur jaringan (Restiani et.al., 2024)

Dalam dunia pertanian, peran dan manfaat kultur jaringan tanaman sangatlah penting. Teknik kultur jaringan melibatkan penggunaan media kultur seperti agar atau gel agar yang mengandung nutrisi yang diperlukan oleh tanaman. Salah satu peran utama dari kultur jaringan tanaman adalah reproduksi vegetatif. Dengan menggunakan teknik ini, petani dapat menghasilkan banyak individu tanaman baru yang identik dengan induknya dalam waktu singkat. Selain itu, manfaat lain dari kultur jaringan tanaman adalah pemuliaan tanaman (Ashar et.al., 2023).

Zat pengatur tumbuh tanaman berperan penting dalam mengontrol proses biologi dalam jaringan tanaman. Perannya antara lain mengatur kecepatan pertumbuhan dari masing-masing jaringan dan mengintegrasikan bagian-bagian tersebut guna menghasilkan bentuk yang kita kenal sebagai tanaman. Dalam proses pembentukan organ seperti tunas atau akar ada interaksi antara zat pengatur tumbuh eksogen yang ditambahkan ke dalam media dengan zat pengatur tumbuh endogen yang diproduksi oleh jaringan tanaman. Penggunaan zat pengatur tumbuh di dalam kultur jaringan tergantung pada tujuan atau arah pertumbuhan tanaman yang diinginkan. Zat pengatur tumbuh Benzyl Adenin (BA) paling banyak digunakan untuk memacu peggandaan tunas karena mempunyai aktivitas yang kuat (Lestari, 2011).

Jaringan tanaman atau kultur sel membutuhkan berbagai kombinasi nutrisi, mineral, zat pertumbuhan tanaman, vitamin dan gula sebagai sumber karbon. Namun, media kultur ini juga sesuai untuk pertumbuhan bakteri dan jamur secara cepat. Kontaminasi oleh bakteri dan jamur merupakan masalah yang sering menyerang kultur jaringan tanaman. 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. Untuk mencegah terjadinya kontaminasi perlu dilakukan sterilisasi peralatan. Sterilisasi berguna untuk membunuh dan membersihkan semua bentuk mikrobia hidup di peralatan dan bahan tanam yang digunakan (Wulandari et.al., 2022).

METODE

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu deskriptif kualitatif. Metode deskriptif kualitatif yaitu menganalisis, menggambarkan, dan meringkas berbagai kondisi, situasi dari berbagai data yang dikumpulkan berupa hasil observasi, keusioner, stud Pustaka atau analisis teks untuk mengeksplorasi informasi. Penelitian ini akan menjelaskan dan menganalisis berbagai aspek bioetika dalam sterilisasi alat dan media dalam inisiasi eksplan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Efektivitas Ssterilisasi dan Fakator yang Mempengaruhi Keberhasilan Sterlisasi

Sterilisasi alat dan media di dalam kultur jaringan merupakan hal yang krusial karena sterilisasi merupakan penentu dari keberhasilan inisiasi eksplan. Jika sterilisasi tidak dilakukan dengan baik maka media tempat pertumbuhan eksplan akan terkontaminasi oleh

bakteri dan jamur. Adapun yang dapat menjadi sumber kontaminasi, yaitu berasal dari peralatan yang terbuat dari kaca maupun plastik, media kultur, peralatan yang digunakan dalam memindahkan eksplan ke media baru, bahan tanam yang digunakan, serta ruang penanaman dan pertumbuhan eksplan (ruang kultur) (Wulandari et.al., 2021).

Adapun metode sterilisasi alat dan media yang digunakan dalam PT. G10 Agro Tech, yaitu dengan menggunakan metode sterilisasi basah dimana metode ini menggunakan autoclave dalam mensterilisasikan alat dan media. Dalam melakukan pensterilisasian alat dan media, adapun langkah-langkah yang kami lakukan sebagai berikut:

1. Mengisi autoclave dengan air biasa sampai dengan pada batas garis
2. Masukkan seluruh media dan susun dengan rapi di dalam autoclave. Media harus disusun secara tegak, tidak boleh miring ataupun jatuh (terbaring) dan sisakan bagian tengahnya agar memasukkan peralatan yang telah dibungkus rapi dengan kertas dan plastik dan diikat
3. Tutuplah autoclave dengan tutup autoclave dan ketatkan baut yang ada disetiap penutup autoclave
4. Hidupkan api atau kompor lalu biarkan selama 15 menit
5. Setelah 15 menit buka bagian yang untuk mengeluarkan uap yang ada di dalam autoclave dan tunggu sampai uap keluar semua lalu autoclave baru bisa dibuka
6. Semprotkan tempat yang akan menjadi tempat diltekkannya media dan alat dengan alcohol 70% lalu dilap dengan tissue
7. Setelah semua media dan alat telah di keluarkan dari autoclave bawa media dan alat tersebut kembali ke dalam laboratorium lalu semprotkan dengan alcohol 70% dan disimpan dalam rak kultur
8. Media dapat dipakai setelah 3 hari

Berikut gambar autoclave yang digunakan, penyusunan media di dalam autoclave dan ruang penyimpanan



a. Gambar autoclave



b. Penyusunan media di dalam autoclave



c. Ruang penyimpanan

Dalam sterilisasi alat dan media yang lebih efektif digunakan adalah metode sterilisasi basah atau dengan menggunakan autoclave dibandingkan dengan metode sterilisasi kering. Beberapa suhu atau tekanan standar yang digunakan adalah $115^{\circ}\text{C}/10$ psi, $121^{\circ}\text{C}/15$ psi, dan $132^{\circ}\text{C}/27$ psi. (psi = pon per inci persegi). Akan tetapi, pada umumnya suhu dan tekanan yang digunakan adalah $121^{\circ}\text{C}/15$ psi. Sedangkan untuk sterilisasi kering metode sterilisasi kering biasanya digunakan pada peralatan laboratorium yang tidak dapat basah dan peralatan yang tidak akan meleleh, terbakar ataupun berubah bentuk jika terkena suhu tinggi. Sterilisasi kering membutuhkan waktu pemaparan yang lebih lama dan muatan yang sedikit dibandingkan dengan autoclave (Wulandari et.al., 2021).

Faktor-faktor yang mempengaruhi keberhasilan dalam sterilisasi alat dan media dalam PT. G10 Agro Tech adalah waktu dan suhu yang sesuai dengan aturannya dimana waktu yang diperlukan dalam sterilisasi dengan metode sterilisasi basah yaitu 15 menit dengan suhu $121^{\circ}\text{C}/15$ psi.

2. Pengaruh Sterilisasi terhadap Kualitas Pertumbuhan Eksplan

Sterilisasi merupakan proses yang bertujuan untuk mematikan mikroorganisme sampai tidak memungkinkan menjadi sumber kontaminan selama tahap-tahap kultur jaringan. Sterilisasi menjadi hal paling utama yang harus dilakukan dalam melakukan teknik kultur jaringan. Sterilisasi meliputi ruangan, alat, bahan, dan medium yang digunakan dalam melakukan kultur jaringan.

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, dan sodium azida (Tarigan et.al., 2024).

Sterilisasi di dalam laboratorium kultur G10 Agro Tech sudah dilakukan sesuai dengan aspek bioetika pada metode sterilisasi peralatan menggunakan dua metode yaitu: Metode sterilisasi basah (Steam Sterilization Method) metode ini digunakan terutama untuk sterilisasi media, cairan dan peralatan laboratorium. Suhu dan tekanan standar yang dibutuhkan pada proses sterilisasi menggunakan autoklaf dilakukan pada suhu tinggi untuk periode waktu yang singkat lebih banyak disukai dibandingkan dengan suhu yang lebih rendah untuk waktu yang lebih lama. Beberapa suhu atau tekanan standar yang digunakan adalah $115^{\circ}\text{C}/10$ psi, $121^{\circ}\text{C}/15$ psi, dan $132^{\circ}\text{C}/27$ psi . (psi = pon per inci persegi). Akan tetapi, pada umumnya suhu dan tekanan yang digunakan adalah $121^{\circ}\text{C}/15$ psi. Pada

Laboratorium G10 Agro Tech sudah mengikuti standar penggunaan autoklaf yaitu dengan suhu 121° dan tekanan 15 psi. Pada laboratorium G10 Agro tech juga terdapat metode sterilisasi menggunakan api, sterilisasi ini biasanya dilakukan di dalam Laminar Air Flow (LAF) untuk peralatan yang terbuat dari logam dengan menggunakan api bunsen. Peralatan tersebut seperti pinset, gunting dan skalpel.

Untuk sterilisasi media laboratorium G10 menggunakan autoklaf dilakukan pada tekanan 15 psi dan suhu 121°C. Untuk cairan dengan volume 100 ml atau lebih sedikit dibutuhkan waktu autoklaf selama 15-20 menit, sedangkan untuk volume cairan yang lebih besar (2-4 liter), dibutuhkan waktu 30-40 menit dimulai ketika mencapai suhu dan tekanan yang ditentukan.

3. Prosedur Alat dan Media

Adapun sterilisasi alat terdiri dari empat metode sterilisasi alat, yaitu:

- a. Metode Sterilisasi Basah (Metode Sterilisasi Uap): Metode sterilisasi basah dilakukan dengan menggunakan alat yang disebut autoklaf, yang berfungsi untuk mengoperasikan uap air pada tekanan tinggi). Proses ini terutama digunakan untuk sterilisasi berbagai jenis media, cairan, dan peralatan laboratorium.
- b. Metode Sterilisasi Kering (Metode Sterilisasi dengan Pengeringan): Dalam metode sterilisasi kering, oven pengering laboratorium merupakan peralatan utama yang digunakan. Metode sterilisasi kering ini umumnya digunakan untuk peralatan laboratorium yang tidak boleh basah atau yang tidak akan meleleh, terbakar, atau berubah bentuk pada suhu tinggi.
- c. Sterilisasi Menggunakan Api: Sterilisasi menggunakan api umumnya dilakukan di dalam Laminar Air Flow (LAF), yang digunakan untuk mensterilkan peralatan laboratorium yang terbuat dari logam, seperti pinset dan skalpel. Proses sterilisasi dimulai dengan mencelupkan peralatan tersebut ke dalam etanol dengan konsentrasi 70%.
- d. Sterilisasi Menggunakan Glass Bead Sterilizier: Peralatan logam selain dapat disterilisasi menggunakan api juga dapat disterilisasi dengan menggunakan glass bead sterilizer. Alat sterilisasi ini memiliki panas 275 C – 350 C sehingga mampu membunuh spora jamur dan bakteri yang menempel pada permukaan peralatan yang kita gunakan.

Di PT. G10 Agro Tech menggunakan sterilisasi alat dengan Metode Sterilisasi Basah (Metode Sterilisasi Uap), yang dimana alat-alat seperti botol kultur, pinset, cawan petri yang sudah kering dibungkus menggunakan kertas lalu di sterilkan di autoklaf selama 20 menit.

Ada dua metode utama yang digunakan untuk sterilisasi media kultur, yaitu dengan menggunakan autoklaf dan membran filtrasi di bawah tekanan positif. Sterilisasi menggunakan autoklaf dilakukan pada tekanan 15 psi dan suhu 121°C. Untuk cairan dengan volume sekitar 100 ml atau lebih sedikit, dibutuhkan waktu sekitar 15-20 menit. Sedangkan untuk cairan dengan volume lebih besar (2-4 liter), waktu yang dibutuhkan adalah 30-40 menit. Membran filter yang digunakan harus memiliki porositas tidak lebih dari 0,2 mikron (µm). Membran filter biasanya terbuat dari selulosa asetat atau selulosa nitrat, dan tersedia dalam bentuk unit plastik sekali pakai yang sudah disterilkan. Selama proses sterilisasi, membran filter akan menghalangi partikel, mikroorganisme, dan virus yang berukuran lebih besar dari diameter porinya.

SIMPULAN

Metode sterilisasi memiliki tingkat efektivitas yang berbeda dalam mencegah kontaminasi mikroba pada alat dan media kultur jaringan. Sterilisasi basah menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 15 psi selama 15-20 menit terbukti paling efektif di PT. G10 Agro Tech. Keberhasilan sterilisasi dipengaruhi oleh jenis metode, suhu, tekanan, serta kebersihan lingkungan laboratorium dan alat yang digunakan. Sterilisasi yang tepat

berkontribusi pada pertumbuhan eksplan yang optimal dengan mengurangi risiko kontaminasi mikroba. Oleh karena itu, prosedur sterilisasi yang optimal harus mempertimbangkan efektivitas metode, efisiensi waktu dan biaya, serta penerapan prinsip bioetika agar produksi kultur jaringan lebih berkualitas dan berkelanjutan.

Saran

SOP sterilisasi di PT. G10 Agro Tech perlu diperketat dan didokumentasikan secara sistematis untuk memastikan efektivitas sterilisasi alat dan media. Autoklaf harus tetap menjadi metode utama, namun sterilisasi dengan filter membran dapat dipertimbangkan untuk bahan yang sensitif terhadap panas. Pelatihan bagi tenaga laboratorium mengenai prosedur sterilisasi dan prinsip bioetika perlu ditingkatkan agar proses sterilisasi lebih optimal dan bertanggung jawab. Selain itu, penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengevaluasi metode sterilisasi yang lebih ramah lingkungan dan meningkatkan efisiensi produksi kultur jaringan. Pengawasan berkala terhadap lingkungan laboratorium, alat, dan bahan juga perlu dilakukan untuk mengurangi risiko kontaminasi dan meningkatkan keberhasilan inisiasi eksplan.

DAFTAR PUSTAKA

- Ashar, J. R., Farhanah, A., Hamzah, P., Ismayanti, R., Tuhuteru, S., Yusuf, R., Yulianti, R., & Marrdaleni. (2023). Pengantar Kultur Jaringan. In N. Rismawati (Ed.), *WIDINA MEDIA UTAMA (Pertama)*. WIDINA MEDIA UTAMA. http://scioteca.caf.com/bitstream/handle/123456789/1091/RED2017-Eng-8ene.pdf?sequence=12&isAllowed=y%0Ahttp://dx.doi.org/10.1016/j.regsciurbeco.2008.06.005%0Ahttps://www.researchgate.net/publication/305320484_SISTEM_PEMBETUNGAN_TE RPUSAT_STRATEGI_MELESTARI
- Cahyono, E. H., & Riani Ningsih. (2023). Pengembangan Metode Teknik Sterilisasi Eksplan Guna Meningkatkan Keberhasilan Kultur Jaringan Tanaman Stevia (*Stevia Rebaudiana* Bertoni). *Jurnal Pengembangan Potensi Laboratorium*, 2(2), 60–68. <https://doi.org/10.25047/plp.v2i2.3685>
- Lengcong, E. F., Mantiri, H., & Pinaria, A. G. (2023). Pertumbuhan Plantlet Kentang (*Solanum tuberosum* L.) pada Media MS yang Disubstitusi dengan Air Kelapa. *Jurnal Agroekoteknologi Terapan*, 4(2), 361–369. <https://doi.org/10.35791/jat.v4i2.50675>
- Lestari, E. G. (2011). Peranan Zat Pengatur Tumbuh dalam Perbanyak Tanaman melalui Kultur Jaringan. *Jurnal AgroBiogen*, 7(1), 63. <https://doi.org/10.21082/jbio.v7n1.2011.p63-68>
- Maninggolang, A., Mandang, J., & Tilaar, W. (2024). Penerapan Prinsip-Prinsip Bioetik dalam Pembuatan Media Kultur Jaringan di Salah Satu Instansi Pertanian Kota Medan. *Jurnal Pendidikan Biologi*, 14(1), 1134–1140. <https://e-journal.my.id/biogenerasi>
- Mardiana, Y., Dwi Putriani, L., & Setyo Utomo, P. (2024). Pengaruh Pemilihan Eksplan Dan Varietas Terhadap Induksi Kalus Tanaman Tebu (*Saccharum Officinarum* L.). *Jurnal Ilmiah Agrineca*, 24(1), 79–88. <https://doi.org/10.36728/afp.v24i1.3106>
- Pangestika, D., Samanhudi, & Triharyanto, E. (2015). Kajian pemberian IAA dan paclobutrazol terhadap pertumbuhan eksplan bawang putih. *Jurnal Kewirausahaan Bisnis*, 17(9), 34–47.
- Restiani, R., Kaban, S. M. P., Sekar, A. A., Matheos, J. H., & Galgani, G. (2024). Kultur jaringan tumbuhan dasar sebagai upaya peningkatan pengetahuan dan keterampilan siswa. *Jurnal Pembelajaran Pemberdayaan Masyarakat (JP2M)*, 5(2), 339–348. <https://doi.org/10.33474/jp2m.v5i2.21800>
- Sudrajad, H., Suharto, D., & Rahmawati Wijaya, N. (2016). Inisiasi Kalus Sanrego (*Lunasia Amara Blanco*.) dalam Kultur Jaringan. *Proceeding Biology Education Conference*, 13(1), 619–623. https://simdos.unud.ac.id/uploads/file_pendidikan_1_dir/ddeec13c19c352d21ccca286966a08ec.pdf
- Tarigan, B. L., ButarButar, Y., Simanjuntak, R., Pulungan, A. S., & Situmorang, N. (2024). PENERAPAN ASPEK BIOETIKA KULTUR JARINGAN TANAMAN ANGGREK *DENDROBIUM* SP TERHADAP PERMASALAHAN KONTAMINASI MIKROORGANISME DI LABORATORIUM KULTUR JARINGAN UPT.

PENGEMBANGAN BENIH HORTIKULTURA. *Jurnal Pendidikan Biologi*, 9(2), 1155–1160.
Wulandari, S., Nisa, Y. S., Taryono, T., Indarti, S., & Sayekti, R. S. (2022). Sterilisasi Peralatan dan Media Kultur Jaringan. *Agrotechnology Innovation (Agrinova)*, 4(2), 16.
<https://doi.org/10.22146/a.77010>