



**AGROPROSS**

National Conference  
Proceedings of Agriculture

**Proceedings:  
Penguatan Potensi Sumberdaya Lokal Guna Pertanian  
Masa Depan Berkelanjutan**

Tempat : Politeknik Negeri Jember  
Tanggal : 5-7 Juli 2023

**Publisher :**  
**Agropross, National Conference Proceedings of Agriculture**  
E-ISSN : 2964-0172  
DOI : 10.25047/agropross.2023.484

## **Optimalisasi Metode Sterilisasi Eksplan Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq) Secara in Vitro**

### *Optimization of Oil Palm (*Elaeis guineensis* Jacq) Sterilization Method in Vitro*

*Author(s):* Risky Pramana Ismail<sup>(1)\*</sup>, Rahmawati<sup>(1)</sup>, Anni Nuraisyah<sup>(1)</sup>, Setyo Andi Nugroho<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Jurusan Produksi Pertanian, Politeknik Negeri Jember

\* Corresponding author: [riskypramana249@gmail.com](mailto:riskypramana249@gmail.com)

#### **ABSTRAK**

Komoditas tanaman kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq) merupakan salah satu jenis tanaman penghasil minyak nabati terbesar selain biji kedelai, biji bunga matahari dan minyak kelapa. Dikarenakan prospeknya yang baik, maka para petani ingin meningkatkan produktivitas tanaman kelapa sawit. Akan tetapi penyediaan bibit unggul dan berkualitas yang menjadi permasalahan. Salah satu alternatif yang baik untuk mengatasi permasalahan tersebut yaitu dibutuhkan perbanyakan secara vegetatif. Selanjutnya teknik kultur jaringan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas teknik sterilisasi terhadap eksplan daun kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq) secara in vitro yang dilaksanakan pada bulan Februari – Maret 2023 di Laboratorium Kultur Jaringan Politeknik Negeri Jember. Rancangan percobaan yang digunakan untuk penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) Non Faktorial terdiri dari 4 perlakuan. Setiap perlakuan terdiri dari 10 ulangan, Setiap ulangan terdiri dari 1 unit botol yang berisi 1 eksplan. Adapun perlakuan yang digunakan yaitu perlakuan A (Alkohol 70%; HgCl<sub>2</sub> 0,1%, Asam askorbat 2 g/l; NaOCl 2% + fungisida 0,1 g/l), perlakuan B (NaOCl 10%; Alkohol 80%; HgCl<sub>2</sub> 0,1%) perlakuan C (HgCl<sub>2</sub> 0,03%; NaOCl 2%; Alkohol 50%) dan perlakuan D (Alkohol 70%; bayclin 10%; bayclin 20%). Dari hasil penelitian yang dilakukan menunjukkan bahwa perlakuan D (Alkohol 70%; bayclin 10%; bayclin 20%) menunjukkan hasil terbaik untuk metode sterilisasi eksplan kelapa sawit.

#### **Kata Kunci:**

Eksplan;  
Kelapa sawit;  
Sterilisasi;  
In vitro

#### **Keywords:**

*Explants;*  
*Oil palm;*  
*Sterilization;*  
*In vitro*

#### **ABSTRACT**

*Oil palm commodity (*Elaeis guineensis* Jacq) is one of the largest vegetable oil producing plants besides soybean seeds, sunflower seeds and coconut oil. Due to the good prospects, the farmers want to increase the productivity of oil palm plantations. However, the provision of superior and quality seeds is a problem. One good alternative to overcome this problem is the need for vegetative propagation through tissue culture techniques. This study aims to determine the effectiveness of the sterilization technique on leaf explants of the oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq) in vitro which was carried out from February to March 2023 at the Tissue Culture Laboratory of the Jember State Polytechnic. The experimental design used for this study was a Non-Factorial Completely Randomized Design (CRD) consisting of 4 treatments. Each treatment consisted of 10 replications, each replication consisting of 1 bottle containing 1 explant. The treatments used were treatment A (70% alcohol; 0.1% HgCl<sub>2</sub>, 2 g/l ascorbic acid; 2% NaOCl + 0.1 g/l fungicide), B treatment (10% NaOCl; 80% alcohol; HgCl<sub>2</sub> 0.1%) treatment C HgCl<sub>2</sub> 0.03%; NaOCl 2%; Alcohol 50%) and treatment D (70% alcohol; bayclin 10%; bayclin 20%). From the results of research conducted that treatment D (70% alcohol; bayclin 10%; bayclin 20%) showed the best results to sterilization method of oil palm explants.*



## PENDAHULUAN

Komoditas perkebunan kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq) merupakan komoditas yang memiliki sifat multifungsi dengan julukannya yaitu sebagai *the three of life* sebagai tanaman yang bernilai ekonomis tinggi, pemberian julukan ini didasari dari keseluruhan bagian tanaman kelapa sawit yang dapat dimanfaatkan sebagai penunjang perekonomian. Perkembangan pada sektor perkebunan kelapa sawit menjadi salah satu tombak dari sumber pendapatan perekonomian negara, selain dari hasil tambang, energi terbarukan hingga sebagai penyedia lapangan pekerjaan dengan melibatkan sekitar 16 juta penyerapan tenaga kerja. Indonesia sebagai satu-satunya negara dengan jumlah eksportir minyak sawit terbesar didunia, dengan luas perkebunan yang dimiliki lebih dari 10 juta hektar dan tersebar di berbagai wilayah Indonesia (Rahma dkk., 2020).

Sektor perkebunan kelapa sawit menawarkan teknologi didalam memenuhi pengadaan bibit yang unggul sehingga digunakanlah teknik perbanyakan kultur jaringan yang memiliki sifat yang seragam dan menghasilkan produktivitas perhektar yang mencapai 25-30% lebih tinggi (Kushairi dkk., 2010). Penggunaan dan pengembangan teknik kultur in vitro memiliki berbagai permasalahan khusus pada teknik perbanyakan vegetatif. Disamping permasalahan itu, keuntungan lainnya dapat memberikan kelebihan didalam kualitas dari bibit yang dihasilkan.

Perbanyakan tanaman secara vegetatif dalam hal ini teknik kultur in vitro memberikan peluang sangat besar dalam menghasilkan bahan tanam sepanjang tahun dalam waktu yang relatif singkat, lebih ekonomis, serta sifat yang identik dengan induknya dan berpotensi untuk dikomersialkan (Surya dkk., 2021). Berkaitan dengan kegiatan secara komersial pada teknik pemuliaan secara in vitro pada tanaman kelapa sawit masih

ditemukan berbagai kendala berupa tingkat kegagalan pada tingkat sterilisasi eksplan yang relatif besar. Pada penelitian terdahulu terdapat permasalahan kontaminasi yang cukup sering terjadi berkisar 3-15 % dari awal kegiatan sampai akhir pada teknik kultur in vitro, hal ini dapat disebabkan dari bahan tanam (eksplan) yang mengandung kotoran, debu yang terbawa dari luar, sehingga kemungkinan ini dapat terjadi pada permukaan jaringan dari bahan tanam (Handayani dkk., 2021). Selain keterlibatan mikroba sebagai indikator kontaminasi yang tampak, terdapat juga adanya penginfeksi tersembunyi (*latent infection*) sehingga dapat memperlambat pertumbuhan seperti nekrosis jaringan (rusaknya sel pada bagian tanaman), hingga penurunan proliferasi (fase sel saat mengalami pengulangan siklus) tunas dan akar (Dennis dkk., 2011).

Pada tahap sterilisasi, bahan sterilan yang biasa digunakan sebagai sterilisasi pada berbagai jenis eksplan antara lain: *natrium hipoklorit* (NaClO), *sodium hipoklorit* (clorox), *merkuri khlorit* (Sublimat), detergent dan alkohol 70%. Penelitian Yuyun dkk., (2019) mengatakan bahwa penggunaan bahan sterilan dengan HgCl<sub>2</sub> 0,1% (10 menit) dan pemoangan didalam *asam ascorbat* 2g/l menekan paling banyak kontaminan daun nilam secara in vitro.

Penelitian lebih lanjut yang dikembangkan oleh Kundartiari dkk., (2021) menunjukkan dari penggunaan metode sterilisasi *natrium hipoklorit* 2% dan *fungisida* 0,1g dapat menekan kontaminan sebesar 68,8%. Oleh karena itu optimalisasi metode sterilisasi pada eksplan kelapa sawit perlu dilakukan. Tujuan dari penelitian ini adalah mendapatkan metode sterilisasi yang optimal pada eksplan kelapa sawit, sebagai langkah awal untuk menentukan keberhasilan kultur in vitro kelapa sawit.

## BAHAN DAN METODE

Pelaksanaan penelitian Pengaruh Penggunaan Bahan Sterilan Terhadap Eksplan Daun Kelapa Sawit dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Politeknik Negeri Jember, tanggal 21 Februari 2022 sampai 21 Maret 2022. Alat yang digunakan untuk menunjang penelitian antara lain, LAFC (Laminar Air Flow Cabinet), botol kultur, cawan petri, kompor gas, pH meter, pipet ukur, beaker glass, autoklaf, erlenmeyer, hot plate stirrer, oven, timbangan analitik, timbangan digital, sendok, panci, rak kultur, gelas, dissecting set, hand sprayer, lampu bunsen, kain lap, korek api dan spatula. Adapun bahan yang digunakan antara lain Alkohol 70%, *Natrium hipoklorit* (NaOCl) 5,25%, *Natrium hipoklorit* (NaOCl) 2 %, fungisida 0,1 g/l, *Mercuri klorida* (HgCl<sub>2</sub>) 0,1 %, Alkohol 70 %, *Sodium hipoklorit* 10 %, media dasar MS (*Murashige and Skoog*), agar-agar sebagai pematat, dan daun komoditas kelapa sawit.

Rancangan percobaan yang digunakan untuk penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) Non Faktorial terdiri dari 4 perlakuan, yaitu : Perlakuan A. Perendaman Alkohol 70% selama 10 menit + HgCl<sub>2</sub> + *Asam askorbat* (C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>6</sub>) 0,1 % + 2g/l 10 menit + NaOCl + fungisida 2 % + 0,1 g/l 5 menit, Perlakuan B. NaOCl (*Natrium Hipoklorit*) 10% 10 menit + Alkohol 80% 5 menit + *Mercury Clorida* (HgCl<sub>2</sub>) 0,1 % 7 menit, Perlakuan C. *Mercury Clorida* (HgCl<sub>2</sub>) 0,3% 7 menit + NaOCl (*Natrium Hipoklorit*) 2% 10 menit + Alkohol 50% 10 menit dan Perlakuan D. Alkohol 70% 3 detik + Bayclin 10% 10 menit + Bayclin 20% 10 menit.

Perlakuan A. eksplan dipotong dengan ukuran 1 cm x 1 cm direndam dengan air aquades steril terlebih dahulu selama kurang lebih 20 detik yang selanjutnya akan direndam dengan alkohol 70 % selama 10 menit. Dibilas dengan air aquades steril, kemudian

direndam lagi dengan larutan HgCl<sub>2</sub> 0,1% + *Asam askorbat* (C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>6</sub>) 2g/l selama 10 menit. Selanjutnya dibilas kembali menggunakan air aquades steril, kemudian lakukan perendaman terakhir dengan larutan NaOCl + Fungisida 2% + 0,1 g/l selama 5 menit. Terakhir bilas eksplan daun menggunakan aquades steril 3-4 kali pembilasan.

Perlakuan B. eksplan direndam terlebih dahulu dengan air aquades steril terlebih dahulu selama kurang lebih 20 detik, selanjutnya direndam kembali dengan larutan NaOCl (*Natrium hipoklorit*) konsentrasi 10% selama 10 menit. Setelahnya dibilas dengan air aquades steril, lakukan kembali perendaman kedua dengan Alkohol konsentrasi 80% selama 5 menit. Bilas kembali menggunakan air aquades steril, perendaman terakhir dengan larutan *Mercury clorida* (HgCl<sub>2</sub>) konsentrasi 0,1% selama 7 menit, terakhir bilas eksplan daun menggunakan aquades steril 3-4 kali pembilasan.

Perlakuan C. eksplan direndam dengan air aquades steril terlebih dahulu selama kurang lebih 20 detik, selanjutnya eksplan direndam dengan larutan *Mercury clorida* (HgCl<sub>2</sub>) konsentrasi 0,03% selama 7 menit. Kemudian bilas dengan aquades steril, lakukan kembali perendaman dengan larutan NaOCl konsentrasi 2% selama 10 menit. Bilas kembali menggunakan air aquades steril, lakukan perendaman terakhir dengan Alkohol konsentrasi 50% selama 10 menit. Kemudian bilas eksplan dengan aquades steril 3-4 kali pembilasan.

Perlakuan D. Eksplan direndam dengan Alkohol 70% selama ± 3 detik. Selanjutnya bilas menggunakan air aquades steril sebanyak 3x, dengan tiap-tiap pengulangan pembilasan selama 1 menit. Rendam kembali dengan bayclin konsentrasi 10% selama 10 menit, dilanjutkan dengan perendaman bayclin konsentrasi 20% selama 10 menit. Terakhir

lakukan pembilasan menggunakan air aquades steril sebanyak tiga kali, dengan masing-masing pengulangan pembilasan selama 1 menit.

Parameter yang digunakan yaitu Persentase eksplan terkontaminasi jamur (%), Persentase eksplan terkontaminasi bakteri (%), Persentase eksplan *browning* (%), Persentase eksplan hidup (%) dengan lama pengamatan 30 HSK (hari setelah kultur).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Kemampuan bahan sterilan didalam menekan kontaminasi pada eksplan daun kelapa sawit menunjukkan hasil yang bervariasi. Hasil ini terjadi akibat dari penggunaan berbagai kombinasi perlakuan yang digunakan dari jenis bahan sterilan dengan berbagai konsentrasi. Berikut hasil perhitungan rekapitulasi pengamatan selama 30 hari setelah kultur:

Tabel 1. Hasil Rekapitulasi uji F di pengamatan selama 30 HSK

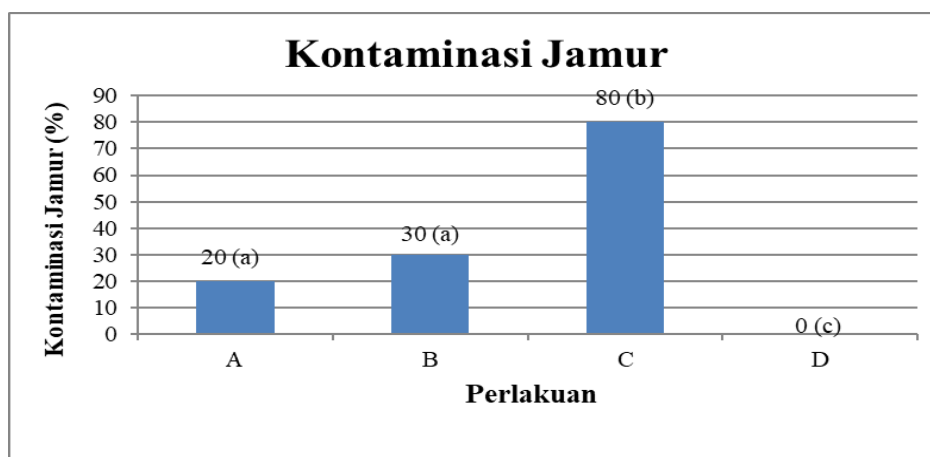
| No | Parameter         | F Hitung | F Tabel |      | Notasi | KK   |
|----|-------------------|----------|---------|------|--------|------|
|    |                   |          | 1%      | 5%   |        |      |
| 1  | Kontaminasi Jamur | 7.87     | 4.38    | 2.87 | **     | 29.9 |
| 2  | Eksplan Hidup     | 7.87     | 4.38    | 2.87 | **     | 25.9 |

Keterangan : \*\* menunjukkan berbeda sangat nyata

### Persentase Kontaminasi Jamur

Kontaminasi yang paling sering dilaporkan dalam kegiatan kultur in vitro ialah kemunculan jamur, browning, dan bakteri (Ray dkk., 2016). kontaminasi dari kemunculan jamur yang paling sering muncul yaitu jenis *Aspergillus niger* (gambar 2). Persentase kontaminasi jamur

diamati selama 30 HSK, dengan kemunculan yang didominasi oleh jamur berwarna putih keabu-abuan, hijau kekuningan hingga kehitaman dengan jenis jamur *Fusarium oxysporum* (gambar 2). Jamur yang mendominasi ini diprediksi akibat adanya sentuhan antara daun dengan udara yang memiliki spora jamur.



Gambar 1. Persentase kontaminasi jamur pada eksplan kelapa sawit umur 30 HSK

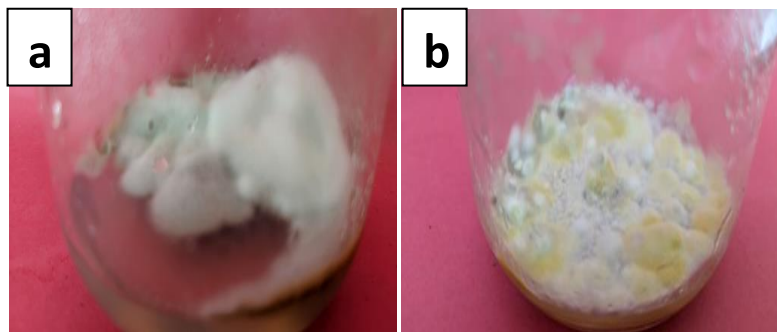
Berdasarkan gambar 1 dapat dilihat bahwa pada perlakuan C dengan nilai 80% dari 10 ulangan yang digunakan, menjadi perlakuan dengan persentase tertinggi selama 30 hari pengamatan kemunculan kontaminasi jamur. Sedangkan tingkat

kemunculan terkecil terdapat pada perlakuan D dengan nilai 0%, dengan teknik kombinasi sterilisasi yang digunakan yaitu Mercury clorida (HgCl<sub>2</sub>) 0,3% selama 7 menit, NaOCl (Natrium

hipoklorit) 2% selama 10 menit, dan Alkohol 50% selama 10 menit.

Data yang disajikan pada gambar 1 kontaminasi jamur menunjukkan perbedaan yang tampak jelas disetiap perlakuannya. Hal ini, menunjukkan bahwa kemunculan jamur pada perlakuan C tergolong berat jika dibandingkan dengan perlakuan D yang tergolong ringan. Hal ini dapat dilihat dari perlakuan C yaitu

dari waktu lama perendaman dan konsentrasi bahan sterilan yang digunakan yaitu Alkohol 50%, NaOCl atau NaOH 2% serta penggunaan HgCl<sub>2</sub> 0,3%, sedangkan pada perlakuan D menggunakan bahan sterilan dari merek dagang Bayclin 10 % dan 20% dengan kandungan NaOCl yang lebih rendah sebesar 5,25% ditambah dengan penggunaan alkohol 70%.

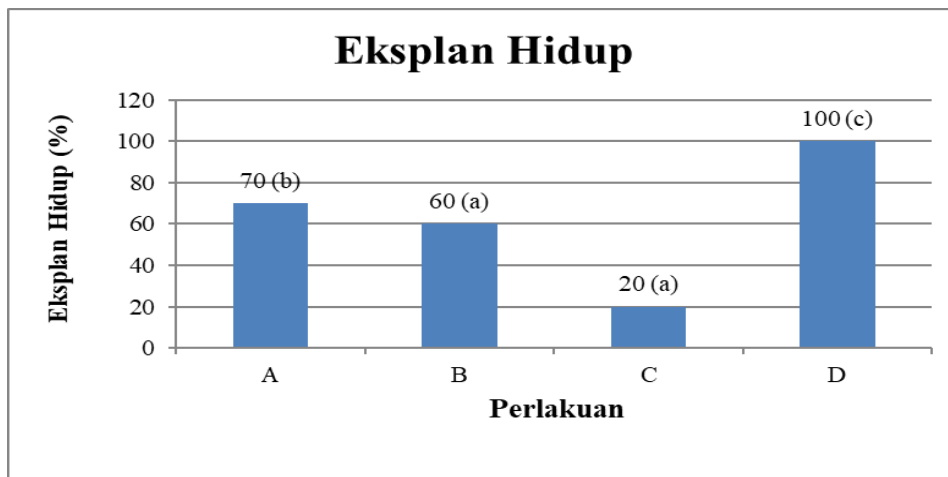


Gambar 2: Sumber kontaminan (a): *Fusarium oxysporum*; (b): *Aspergillus niger*

### Persentase Eksplan Hidup

Berdasarkan hasil analisis sidik ragam (ANOVA) perlakuan metode sterilisasi menggunakan NaOCl, HgCl<sub>2</sub>, dan Alkohol memberikan pengaruh yang

berbeda nyata pada perlakuan yang lain sehingga tidak ada kemunculan simbol atau nilai yang sama pada setiap perlakuannya, hal ini bisa dilihat dari gambar grafik sebagai berikut:



Gambar 3. Persentase eksplan hidup pada umur 30 HSK

Berdasarkan gambar 3 dapat dilihat bahwa pada perlakuan D dengan nilai 100% dari 10 ulangan yang digunakan, menjadi perlakuan dengan persentase tertinggi selama 30 hari pengamatan.

Sedangkan persentase eskplan hidup terendah terdapat pada perlakuan C dengan nilai 20%. Perbedaan nilai yang muncul serta tidak terdapatnya nilai atau simbol yang sama pada setiap perlakuannya



disebabkan dari hasil perbandingan nilai rerata dengan nilai BNT 0,37 (Beda Nyata Terkecil), dari uji lanjut ini bisa dijelaskan bahwa pada perlakuan D yang menggunakan teknik sterilisasi Alkohol 70% selama 3 detik, Bayclin 10% selama 10 menit, dan Bayclin 20% selama 10 menit tergolong ringan didalam sterilisasi daun muda kelapa sawit secara in vitro. Sedangkan pada perlakuan C menggunakan kombinasi *Mercury clorida* (HgCl<sub>2</sub>) 0,3% selama 7 menit, NaOCl (*Natrium hipoklorit*) 2% selama 10 menit, dan Alkohol 50% selama 10 menit tergolong dalam sterilisasi berat pada sterilisasi daun muda kelapa sawit secara in vitro.

Hal ini dapat dikaitkan dengan parameter kontaminasi kemunculan jamur bahwa penggunaan HgCl<sub>2</sub> pada teknik sterilisasi dengan waktu perendaman selama  $\pm$  7-10 menit terbukti memicu taraf kegagalan cukup tinggi pada eksplan. Penelitian lebih lanjut oleh Surya dkk., (2021) menghasilkan data bahwa penggunaan konsentrasi NaOCl yang tinggi dengan waktu perendaman yang lama menciptakan efek seperti luka bakar pada sisi bekas sayatan eksplan. Begitu juga dengan penggunaan Alkohol konsentrasi diatas 70% dengan lama perendaman diatas 7 menit dapat menyebabkan permukaan eksplan terbakar. Penelitian Ardiansyah dkk., (2014) mengatakan bahwa penggunaan bayclin konsentrasi 10% kurang efektif dalam menekan kontaminasi yang disebabkan oleh mikroorganisme.

Antimikroba, dari gugus hidroksil (-OH) yang terdapat pada alkohol bekerja mengikat protein mikroba sehingga rangkaian hidrogen dapat menghancurkan entitas dari kegunaan protein hingga membran sel. Sesuai dengan pernyataan Eziashi dkk., (2014) dalam penelitiannya mengatakan efektivitas antimikroba yang ditimbulkan oleh penggunaan alkohol konsentrasi rendah dibawah 50% kurang

efektif menekan tingkat kontaminasi jamur, akan tetapi keefektifannya naik pada konsentrasi 60% - 90%. Berdasarkan hasil penelitian Zulkifli dkk., (2017) mengatakan cara kerja disinfeksi natrium hipoklorit terdapat keahliannya dalam mengeluarkan keunggulannya yaitu dapat membentuk asam hipoklorit (HOCl) sehingga dapat melepaskan kandungan klorin yang terdapat pada lipoprotein dinding sel bakteri, selanjutnya akan dapat menciptakan sifat toksik yaitu N-chloro yang memiliki keunggulan mampu menghambat pergantian sel serta dapat menyebabkan kematian bakteri ataupun jamur.

## KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa teknik sterilisasi yang diujicobakan berpengaruh pada keberhasilan sterilisasi eksplan daun muda kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq) secara in vitro. Teknik sterilisasi yang efektif dalam menekan kemunculan kontaminan jamur dan bakteri adalah Perlakuan D dengan bahan sterilan (Alkohol 70%; bayclin 10%; bayclin 20%), pada sterilisasi eksplan daun muda kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq) secara in vitro.

## DAFTAR PUSTAKA

- Dian Rahma Pratiwi, Sri Wening, Nanang Supena, Retno Diah Setiowati, dan Yurna Yenni. "Kultur Jaringan Kelapa Sawit: Tantangan Dan Peluangnya." *Warta PPKS* 25: 1-10.
- Anis Shofiyani, Agus Mulyadi Purnawanto, Reza Zahara Abdul Aziz. 2010. "Pengaruh Sterilan Dan Waktu Perendaman Pada Eksplan Daun Kencur (*Kaemferia Galanga* L) Untuk Meningkatkan Keberhasilan Kultur Kalus". *AGRITECH*, Vol. XXII No.1.
- Muhammad Imam Surya, Lily Ismaini. 2021. "Perbandingan Metode Sterilisasi Untuk Perbanyak Rubus

- Rosifolius Secara in Vitro.” Al-Kauniah: Jurnal Biologi 14(1): 127–37. (January 26, 2023).
- Handayani, Muhammad Burhanuddin Irsyadi, Irfan Aris, Riffa Leshia Muhvi Nur Alawiyah, Nandini Ayuningtias, Fany Permatasari, Innaka Ageng Rineksane. 1. “Optimasi Sterilisasi Endosperma Kepel (*Stelethocarpus Burahol* [Bl] Hook F. & Th) Secara In Vitro.” Jurnal Pendidikan Biologi 6. JBE 6 (2) (2021) 113-121. 2021.
- Dennis J. Gray. 2011. *Plant Tissue Culture, Development, and Biotechnology*. 13th ed. ed. Robert N. United States: Taylor & Francis Group. (February 7, 2023).
- Yuyun Fitriani, Gede Wijana, Ida Ayu Putri Darmawati. 19. “Teknik Sterilisasi Dan Efektivitas 2,4-D Terhadap Pembentukan Kalus Eksplan Daun Nilam (*Pogostemon Cablin Benth*) In Vitro”. *J. Agric. Sci. and Biotechnol.* Vol. 8, No. 1. (February 2, 2023).
- Kundartiari Safitri, Tantri Swandari, dan Titin Setyorini. 1. “Optimasi Teknik Sterilsasi Dan Induksi Kalus Eksplan Daun *Gloxinia Speciosa* Secara InVitro Menggunakan BAP Dan 2,4-D.” *jurnal.fp.uns.ac.id*. Vol 5, No. 1 (January 26, 2023).