

Uji Efektivitas Sterilisasi dan Jenis Eksplan yang Berbeda pada *Citrullus lanatus* L. secara *In Vitro*

The Effectiveness of Sterilization and Different Types of Explants on Citrullus lanatus L. In Vitro

Laras Indah Lestari^{1*}, Irmawati¹, Zaidan P. Negara¹, Mery Hasmeda¹, Firdaus Sulaiman¹, Lidwina N. Sulistyaningsih¹, Marlina¹

Diterima 28 Juni 2025/ Disetujui 27 Agustus 2025

ABSTRACT

Watermelon plants require consistent environmental conditions throughout their growth period. Tissue culture serves as a solution in plant propagation techniques that can control the environmental conditions for watermelon growth. This study aims to determine the appropriate sterilization method and explant type for watermelon plant propagation using tissue culture techniques. The research was conducted from June to August 2022 at the Tissue Culture Laboratory of the Faculty of Agriculture, Sriwijaya University. This study used a Complete Randomized Factorial Design (CRFD) with two factors: six treatments of different sterilization agent sequences for explants, including Benomyl 0.2% for 3 minutes, detergent for 3 minutes, HgCl₂ 0.03% for 10 minutes, and 70% alcohol for 45 seconds, and four types of explants: radicle, hypocotyl, plumule, and cotyledon, with two replicates of five experimental units each. The results showed that sterilization factors and explant types had a significant effect on the percentage of contaminated explants and indicated a decrease in contamination in the treatment of 0.2% benomyl for 3 minutes, detergent for 3 minutes, 0.03% HgCl₂ for 10 minutes, and 70% alcohol for 45 seconds on cotyledon explants.

Keywords: browning, contamination, tissue culture, watermelon sprout

ABSTRAK

Tanaman semangka membutuhkan kondisi lingkungan yang konsisten selama masa pertumbuhan. Kultur jaringan menjadi solusi dalam teknik perbanyakan tanaman yang dapat mengendalikan kondisi lingkungan tumbuh semangka. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan sterilisasi dan jenis eksplan yang tepat dalam perbanyakan tanaman semangka dengan teknik kultur jaringan. Penelitian dilaksanakan pada Juni hingga Agustus 2022 di Laboratorium Kultur Jaringan Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap Faktorial (RALF) dengan dua faktor yaitu 6 taraf rangkaian bahan sterilisasi eksplan yang berbeda antara benomyl 0.2% 3 menit, detergen 3 menit, HgCl₂ 0.03% 10 menit, dan alkohol 70% 45 detik dan 4 jenis eksplan yaitu radikula, hipokotil, plumula, dan kotiledon dengan 2 ulangan masing-masing 5 unit percobaan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa faktor sterilisasi dan jenis eksplan berpengaruh sangat signifikan terhadap persentase eksplan terkontaminasi dan menunjukkan penurunan kontaminasi pada perlakuan sterilisasi benomyl 0.2% 3 menit, detergen 3 menit, HgCl₂ 0.03% 10 menit, dan alkohol 70% 45 detik pada eksplan kotiledon.

Kata kunci: browning, kontaminasi, kultur jaringan, kecambah semangka

¹Program Studi Agronomi, Fakultas Pertanian, Universitas Sriwijaya,
Jalan Palembang-Prabumulih km. 32, Indralaya, Ogan Ilir, Sumatera Selatan, Indonesia 30662
E-mail: larasindahlestari00@gmail.com (*penulis korespondensi)

PENDAHULUAN

Semangka (*Citrullus lanatus* L.) merupakan salah satu jenis buah dengan tingkat konsumsi terbesar di dunia (Awasthi *et al.*, 2022). Peningkatan konsumsi semangka dipengaruhi oleh tren gaya hidup sehat dengan mengonsumsi buah semangka secara langsung hingga pemanfaatannya di berbagai sektor seperti industri kosmetik, makanan dan minuman, hingga pemanfaatan limbah semangka (Maoto *et al.*, 2019; Ansori, 2022). Meskipun demikian, menurut data Badan Pusat Statistik menunjukkan penurunan hasil produksi semangka di Indonesia. Pada tahun 2021, jumlah produksi semangka mencapai 414.242 ton per tahun dan pada tahun 2022 menurun hingga 367.816 ton per tahun. Oleh karena itu, dengan pemanfaatan semangka yang semakin beragam diharapkan terus adanya peningkatan kuantitas hingga kualitas produksi semangka.

Salah satu faktor penting yang dapat meningkatkan kuantitas dan kualitas semangka adalah faktor lingkungan tumbuh (Walters *et al.*, 2021). Pertumbuhan tanaman semangka sangat membutuhkan lingkungan yang memiliki kelembaban cukup tinggi, suhu, curah hujan, dan lama penyinaran yang stabil dalam satu tahun (Nabwire *et al.*, 2022). Meskipun demikian, kondisi iklim yang tidak stabil menghambat pertumbuhan tanaman semangka. Perubahan kondisi lingkungan tumbuh mengakibatkan penurunan respon fisiologis dan morfologis tanaman semangka sehingga mempengaruhi hasil produksi semangka (Malambane *et al.*, 2021).

Salah satu metode perbanyakan yang efektif dalam mengendalikan kondisi lingkungan tumbuh adalah kultur jaringan (Chun *et al.*, 2020). Kultur jaringan memiliki keunggulan dengan pertumbuhan yang lebih cepat, tidak dipengaruhi iklim, mampu meningkatkan kualitas tanaman, mampu menjaga kualitas genetik tanaman, dan dapat menghasilkan semangka yang bebas hama dan penyakit (Chandran *et al.*, 2020; Abebaw *et al.*, 2021; Soumare *et al.*, 2021). Prinsip utama dari kultur jaringan adalah kondisi yang aseptik sehingga dapat menciptakan lingkungan tumbuh dan hasil yang baik melalui tahap sterilisasi baik pada lingkungan, media tumbuh, dan terutama pada eksplan (Singh *et al.*, 2023).

Proses sterilisasi eksplan merupakan tahap penting untuk menghilangkan kontaminasi yang menjadi penghambat pada pertumbuhan eksplan (Shofiyani dan Damajanti, 2017). Jenis bahan kimia dan pembersih yang dapat dijadikan bahan sterilisasi adalah fungisida benomyl, detergen, alkohol 70%, hingga merkuri klorida (HgCl_2) yang dapat digunakan dengan waktu dan konsentrasi tertentu dengan urutan yang berbeda dalam proses sterilisasi (Sivanesan *et al.*, 2021). Fungisida benomyl efektif dalam menurunkan tingkat kontaminasi, seperti pada penelitian Ahmadpoor *et al.* (2022), yang menggunakan eksplan *Melia azedarach* L dengan konsentrasi 2 g L^{-1} . Pada konsentrasi berbeda yaitu 0.2% pernah dilakukan pada rangkaian sterilisasi Pranuthi *et al.* (2023), terhadap

eksplan tangkai *Polianthes tuberosa* mampu menurunkan tingkat kontaminasi 46%. Selain benomyl, bahan sterilisasi lainnya seperti HgCl_2 , alkohol 70%, dan detergen juga dapat digunakan pada rangkaian sterilisasi.

Pada penelitian Dodake *et al.* (2021), sterilisasi eksplan daun dan tunas *Momordica dioica* Roxb. menggunakan satu jenis detergen pencuci 10 menit, fungisida 0.1% 10 menit, dan HgCl_2 0.1% 5 menit secara berurutan mampu mengurangi kontaminasi sebesar 88%. Urutan sterilisasi lainnya pada penelitian Pranata dan Herawati, (2019) yang menggunakan urutan bahan sterilisasi campuran dua jenis detergen selama 3 menit, alkohol 70% selama 45 detik, dan HgCl_2 0.03% selama 10 menit sebagai bahan sterilan pada eksplan pucuk *Artemisia annua* LINN memberikan hasil persentase kontaminasi 3.33%. Penggunaan bahan sterilisasi dengan konsentrasi sedikit dan waktu paparan yang singkat dapat membantu mengurangi tingkat toksik yang dapat berdampak pada tubuh manusia hingga eksplan, hal ini juga dapat disesuaikan dengan jenis eksplan yang digunakan (Kara *et al.*, 2019). Oleh karena itu, bahan sterilisasi seperti fungisida benomyl, detergen, alkohol 70%, hingga merkuri klorida (HgCl_2) dinilai mampu menunjukkan efektivitasnya terhadap eksplan semangka namun masih perlu diteliti dan diharapkan memberikan hasil yang bervariasi terhadap tingkat kontaminasi dan viabilitas eksplan terutama pada eksplan tanaman semangka.

Selain rangkaian sterilisasi, jenis eksplan juga menjadi faktor keberhasilan kultur jaringan. Eksplan yang digunakan pada kultur jaringan memiliki sel pertumbuhan yang masih aktif, kondisi sehat, dan berasal dari tanaman bersifat unggul. Jenis eksplan juga memberikan respon terhadap nutrisi dan juga bahan sterilisasi (Avivi dan Ubaidillah, 2022; Tarigan *et al.*, 2023), salah satunya dengan menggunakan eksplan kecambah. Pada penelitian Ulva *et al.* (2019), yang menggunakan eksplan hipokotil dan kotiledon tomat menunjukkan pertumbuhan dan ketahanan terhadap kontaminasi dengan baik. Hasil penelitian Arum *et al.* (2022), yang menggunakan eksplan plumula sorgum menunjukkan pertumbuhan kalus yang bebas kontaminasi.

Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini menjadi penting dilakukan pada eksplan kecambah dan kotiledon tanaman semangka yang sebelumnya belum pernah dilakukan. Bahan sterilisasi yang digunakan kali ini disesuaikan dengan kondisi eksplan yang masih sangat muda dengan konsentrasi yang kecil dan waktu yang singkat berdasarkan referensi sebelumnya. Penelitian ini diharapkan menemukan rangkaian prosedur sterilisasi dengan bahan fungisida benomyl 0.2%, detergen, alkohol 70%, dan HgCl_2 0.03% dengan urutan yang berbeda dan jenis eksplan yaitu radikula, hipokotil, plumula, dan juga bagian kotiledon secara *in vitro* yang diharapkan bebas kontaminasi, dan mampu memenuhi kebutuhan bibit unggul.

BAHAN DAN METODE

Tempat dan waktu penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Program Studi Agronomi, Fakultas Pertanian, Universitas Sriwijaya Palembang (2°59'23.4"S 104°43'53.4"E) pada bulan Juni hingga Agustus 2022.

Bahan dan alat penelitian

Bahan penelitian ini menggunakan kecambah semangka varietas Punggawa F1 berusia 14 hari yaitu bagian radikula, hipokotil, plumula, dan kotiledon. Bahan sterilisasi yang digunakan yaitu fungisida benomyl 0.2%, detergen dari jenis detergen pencuci piring (Mama lime®) 10 ml per 250 ml air, alkohol 70%, dan HgCl₂ 0.03% yang ditambahkan tween 20 sebanyak 2 tetes sebagai bahan pengemulsi larutan HgCl₂ (Prodromidis *et al.*, 2023). Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah autoklaf dan *Laminar Air Flow* (LAF). Bahan media tanam yang digunakan berupa media Murashige and Skoog (MS) 4.43 g, agar-agar 8 g, sukrosa 30 g, dan penggunaan zat pengatur tumbuh IAA (Indole Acetic Acid) dan BAP (Benzyl Amino Purin) masing-masing 1 ppm. Media kemudian dimasak hingga mendidih dan dimasukkan ke dalam gelas kultur dan selanjutnya di autoklaf selama 30 menit dengan tekanan 15 psi dan suhu 121 °C dan terakhir diletakkan di ruang inkubasi.

Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap Faktorial (RALF) dengan dua faktor perlakuan. Faktor pertama adalah perlakuan sterilisasi, yang terdiri atas enam taraf, yaitu rangkaian bahan sterilisasi eksplan yang berbeda, meliputi: benomyl 0,2% selama 3 menit, detergen selama 3 menit, HgCl₂ 0,03% selama 10 menit, dan alkohol 70% selama 45 detik (Tabel 1). Faktor kedua adalah jenis eksplan, yang terdiri atas empat taraf, yaitu radikula (E1), hipokotil (E2), plumula (E3), dan kotiledon (E4). Dengan kombinasi kedua faktor tersebut, diperoleh 24 kombinasi perlakuan. Setiap kombinasi perlakuan terdiri dari 5 unit botol kultur dan masing-masing dilakukan sebanyak dua ulangan, sehingga total unit percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebanyak 240 unit.

Persiapan Eksplan

Proses perkecambahan benih semangka dimulai dengan merendam benih dengan menggunakan air steril selama 2 hari. Tahap selanjutnya, benih dibilas menggunakan air steril dan dilakukan penyemaian di dalam botol kaca selama 14 hari hingga kecambah telah terbentuk radikula, hipokotil, dan plumula yang siap diinokulasi (Gambar 1). Bagian kotiledon semangka didapatkan dengan merendam benih semangka

selama 2 hari sebelum masa inokulasi atau hingga kulit benih pecah (Gambar 1). Benih yang dipilih dengan kriteria tenggelam saat masa perendaman, kemudian dipisahkan antara testa dan kotiledonnya.

Sterilisasi Eksplan

Semua jenis eksplan yang akan disterilisasi dibilas terlebih dahulu menggunakan air steril. Selanjutnya eksplan radikula, hipokotil, dan plumula dipotong ukuran ± 1 cm untuk mengurangi resiko kontaminasi dari mikroorganisme. Sterilisasi dilakukan sesuai dengan perlakuan urutan sterilisasi yang digunakan (Tabel 1). Setiap setelah tahap sterilisasi eksplan akan dibilas menggunakan air steril. Selanjutnya eksplan diinokulasi di dalam *laminar air flow* yang sebelumnya telah disterilisasi alkohol 70%. Selanjutnya akan diamati parameter penelitiannya di ruang inkubasi.

Analisis Data

Parameter yang diamati yaitu persentase eksplan terkontaminasi (%), persentase eksplan hidup (%), persentase eksplan mati (%), dan persentase media terkontaminasi (%). Data yang memenuhi asumsi *Analysis of Variance* (ANOVA) (p -value > 0.05) akan dianalisis menggunakan ANOVA dua arah (*Two - Way Analysis of Variance*) dan uji lanjut dengan Beda Nyata Jujur (BNJ) taraf 5%. Data yang tidak memenuhi asumsi anova (p -value ≤ 0.05) akan dianalisis dengan analisis non-parametrik dengan metode *Aligned Rank Transform* (ART) dengan uji lanjut menggunakan *pairwise comparisons* pada *estimated marginal means* (EMMeans) dari model ART penyesuaian Tukey dengan bantuan *software* Rstudio.

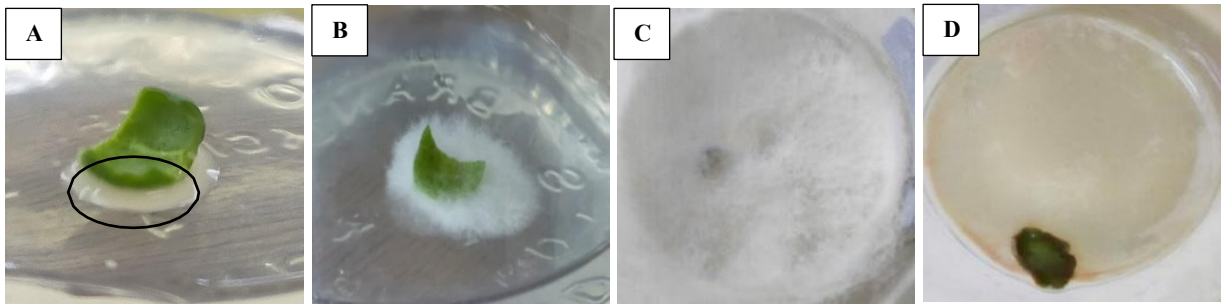
HASIL DAN PEMBAHASAN

Persentase Eksplan Terkontaminasi (%)

Sterilisasi eksplan menjadi bagian terpenting dalam tahap sterilisasi karena menjadi penentu pertumbuhan eksplan pada tahap selanjutnya. Pada persentase eksplan terkontaminasi, data tidak memenuhi asumsi anova (p -value = 2.767e-10). Hasil analisis ART menunjukkan interaksi antara perlakuan sterilisasi P4 yaitu benomyl 0.2% selama 3 menit, detergen selama 3 menit, HgCl₂ 0.03% selama 10 menit, dan alkohol 70% selama 45 detik dengan eksplan kotiledon (E4) menunjukkan rerata persentase eksplan terkontaminasi terendah yaitu 1.5% (Tabel 2), sedangkan rerata persentase eksplan terkontaminasi tertinggi sebesar 43% pada kombinasi faktor perlakuan P5 yaitu benomyl 0.2% selama 3 menit, detergen 3 menit, alkohol 70% 45 detik, dan HgCl₂ 0.03% selama 10 menit dengan eksplan plumula (E3) (Tabel 2). Interaksi antara faktor sterilisasi dan jenis eksplan berpengaruh sangat signifikan terhadap persentase eksplan terkontaminasi.



Gambar 1. Eksplan radikula, hipokotil, plumula, dan kotiledon semangka



Gambar 2. A) Eksplan plumula terkontaminasi bakteri, B) Eksplan plumula terkontaminasi cendawan, C) Media terkontaminasi cendawan, D) Media terkontaminasi bakteri

Hasil penelitian ini terdapat dua jenis kontaminasi yang ditemukan yaitu bakteri dan cendawan. Kontaminasi bakteri dicirikan lendir berwarna putih pada bagian bawah eksplan (Gambar 2A) dan kontaminasi cendawan ditemukan pertumbuhan hifa berwarna putih menyelimuti eksplan (Gambar 2B). Jenis kontaminasi pada penelitian ini memiliki kesamaan dengan hasil penelitian Fauzan dan Tajuddin, (2017) pada kultur tunas samping jati berupa bentuk kontaminasi cendawan membentuk hifa berwarna putih yang sama pada eksplan semangka. Jenis cendawan yang menjadi kontaminasi dari spesies *Aspergillus sp.* dan kontaminasi bakteri berasal dari bakteri gram negatif (Wulandari, 2022).

Pemberian fungisida benomyl 0.2% dengan waktu 3 menit pada awal tahap sterilisasi menjadi pilihan karena jenis fungisida ini mampu menurunkan kontaminasi seperti pada penelitian Inaya *et al.* (2024), yang menggunakan benomyl 0.2 % pada tahapan sterilisasi mampu menurunkan kontaminasi pada eksplan tulang daun duku. Benomyl berfungsi sebagai penghambat yang efektif dalam menekan pertumbuhan kontaminasi (Dotulong *et al.*, 2019).

Detergen difungsikan sebagai bahan pembersih yang berbahan surfaktan sehingga dapat digunakan sebagai urutan sterilisasi setelah fungisida benomyl yang memiliki residu yang berat. Pernyataan ini didukung oleh Surya dan Ismaini, (2021) yang menyatakan bahwa detergen sebagai surfaktan pembersih yang ampuh digunakan dalam pembersihan tahap awal pada eksplan.

Penggunaan HgCl_2 dalam konsentrasi 0.03% selama 10 menit menjadi pilihan yang aman pada sterilisasi eksplan kecambah semangka pada urutan setelah detergen. Konsentrasi HgCl_2 yang tinggi menyebabkan terjadinya kerusakan pada eksplan, apabila digunakan bersamaan dengan waktu yang lama (Hardarani dan Nisa, 2022). Selain itu, penggunaan HgCl_2 harus sangat diperhatikan karena bersifat toksik bagi tubuh sehingga konsentrasi 0.03% menjadi pilihan yang aman walaupun dalam rentang waktu yang cukup lama yaitu 10 menit dan menjadi lebih efektif (Sulistiyo *et al.*, 2018).

Penggunaan alkohol 70% dengan durasi 45 detik di akhir menjadi pilihan dalam urutan sterilisasi eksplan semangka terbaik. Alkohol bersifat sterilisasi permukaan sehingga mampu melapisi permukaan eksplan (Oktavia dan Pujiyanto, 2018). Pada perlakuan P5 (benomyl 0.2% selama 3 menit, detergen 3 menit, alkohol 70% 45 detik, dan HgCl_2 0.03% selama 10 menit yang hanya berbeda pada urutan HgCl_2 dan alkohol menunjukkan bahwa HgCl_2 menjadi bahan sterilisasi yang bersifat penetrasi yang baik dan tepat digunakan terlebih dahulu dibandingkan alkohol 70%.

HgCl_2 bekerja memecah protein dan kontak langsung dengan mikroorganisme sehingga mampu menghilangkan kontaminasi pada eksplan (Sandra, 2013 dalam Cahyono dan Riani Ningsih, 2023). Sedangkan alkohol 70% sangat efektif dalam sterilisasi permukaan sehingga saat alkohol 70% digunakan terlebih dahulu akan membuat mikroorganisme menjadi lebih resisten terhadap jenis sterilisasi lain. Hal ini

dapat terjadi karena koagulasi dinding sel mikroorganisme (Pratiwi *et al.*, 2021).

Jenis eksplan sangat mempengaruhi kesesuaian bahan sterilisasi baik secara urutan, waktu, dan konsentrasi bahan. Hal ini sejalan dengan pernyataan Lal *et al.* (2023), baik urutan, konsentrasi, dan waktu sterilisasi harus optimal pada setiap jenis eksplan untuk meningkatkan tingkat keberhasilan kultur jaringan agar tidak membatasi pertumbuhan eksplan. Eksplan kecambah semangka masih sangat rentan terhadap kerusakan akibat pengaruh bahan sterilisasi sehingga penggunaan bahan sterilisasi dengan konsentrasi yang kecil dalam waktu yang singkat menjadi pilihan yang tepat.

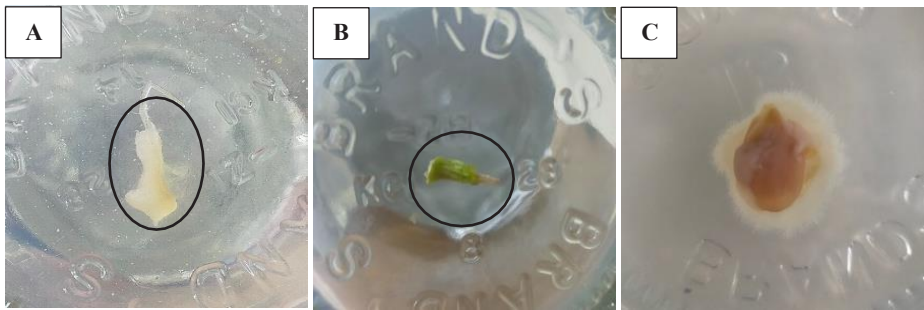
Pada setiap tahap sesi sterilisasi eksplan kecambah semangka dilakukan pembilasan menggunakan air steril dengan tujuan mengurangi tercampurnya kandungan bahan sterilisasi lainnya (Widyastuti *et al.*, 2021). Eksplan kotiledon menjadi eksplan dengan interaksi terbaik terhadap bahan sterilisasi. Eksplan kotiledon memiliki ketahanan yang lebih baik dibandingkan jenis eksplan kecambah lainnya karena memiliki selaput pelindung yang baik (Heriansyah dan Indrawanis, 2020). Hal ini menjadi satu kesatuan dalam keefektifan sterilisasi dan juga jenis eksplan.

Persentase Eksplan Hidup (%)

Eksplan yang hidup ditandai dengan perubahan bentuk dan ukuran atau kondisi yang masih baik (Gambar 3A). Pada persentase eksplan hidup, data tidak memenuhi asumsi

anova ($p\text{-value} = 0,000236$). Berdasarkan hasil analisis ART, interaksi antara faktor sterilisasi dan jenis eksplan menunjukkan pengaruh signifikan terhadap persentase eksplan hidup. Interaksi perlakuan sterilisasi P2 (detergen 3 menit, alkohol 70% 45 detik, dan HgCl_2 0.03% 10 menit) dengan eksplan radikula (E1) menjadi rerata tertinggi dibandingkan interaksi faktor lainnya yaitu 42.5% (Tabel 3), sedangkan interaksi dengan persentase eksplan hidup terendah ada pada perlakuan sterilisasi P2 (detergen 3 menit, alkohol 70% 45 detik, dan HgCl_2 0.03% 10 menit) dan eksplan plumula (E3) dengan rerata persentase 8.5% (Tabel 3).

Tahap sterilisasi yang sama dengan jenis eksplan yang berbeda mempengaruhi efektivitas tahap sterilisasi pada eksplan kecambah semangka. Eksplan radikula yang lebih kecil dibandingkan hipokotil, kotiledon, dan plumula memiliki tingkat hidup yang lebih tinggi karena efektivitas bahan sterilisasi lebih baik. Hasil penelitian Andriani dan Heriansyah, (2021) yang melakukan sterilisasi daun dan akar pada anggrek alam yang hasilnya bahwa sterilisasi akar lebih efektif dibandingkan dengan daun karena ukuran permukaan daun yang lebih lebar. Hal tersebut dapat dilakukan pemotongan eksplan dengan ukuran yang kecil untuk efektivitas sterilisasi. Pertumbuhan eksplan ditandai dengan pemanjangan eksplan radikula (Gambar 3A). Pertambahan ukuran eksplan dipengaruhi oleh respon eksplan yang baik terhadap nutrisi pada media yang mengandung zat pengatur tumbuh yang digunakan yaitu IAA dan BAP (Putri *et al.*, 2020).



Gambar 3. A) Eksplan radikula hidup, B) Eksplan hipokotil layu, C) Eksplan kotiledon *browning*

Tabel 1. Perlakuan sterilisasi pada kultur jaringan eksplan kecambah semangka

Perlakuan	Urutan sterilisasi			
	Sterilisasi 1	Sterilisasi 2	Sterilisasi 3	Sterilisasi 4
P1	Detergen 3 menit	HgCl_2 0.03% 10 menit+ <i>tween</i> 20	Alkohol 70% 45 detik	
P2	Detergen 3 menit	Alkohol 70% 45 detik	HgCl_2 0.03% 10 menit+ <i>tween</i> 20	
P3	Detergen 3 menit	HgCl_2 0.03% 10 menit+ <i>tween</i> 20		
P4	Benomyl 0.2% 3 menit	Detergen 3 menit	HgCl_2 0.03% 10 menit + <i>tween</i> 20	Alkohol 70% 45 detik
P5	Benomyl 0.2% 3 menit	Detergen 3 menit	Alkohol 70% 45 detik	HgCl_2 0.03% 10 menit+ <i>tween</i> 20
P6	Benomyl 0.2% 3 menit	Detergen 3 menit	HgCl_2 0.03% 10 menit + <i>tween</i> 20	

Tabel 2. Rerata persentase eksplan terkontaminasi terhadap interaksi perlakuan sterilisasi dan jenis eksplan semangka (%)

Sterilisasi	Jenis eksplan			
	E1	E2	E3	E4
P1	10.5	22.5	3.5	38.0
P2	30.5	24.0	13.5	40.0
P3	36.5	33.5	24.0	18.5
P4	16.5	26.0	41.0	1.5
P5	36.5	20.5	43.0	5.5
P6	30.5	34.5	13.5	24.0

Keterangan: hasil interaksi terbaik ditandai dengan angka rerata terkecil menunjukkan hasil yang signifikan menurut analisis *Aligned Rank Transform* (ART)

E1:radikula, E2:hipokotil, E3:plumula, E4:kotiledon

P1: detergen 3 menit→HgCl₂ 0.03% 10 menit→alkohol 70% 45 detik

P2: detergen 3 menit→ alkohol 70% 45 detik → HgCl₂ 0.03% 10 menit

P3: detergen 3 menit→HgCl₂ 0.03% 10 menit

P4: benomyl 0.2% 3 menit→detergen 3 menit→HgCl₂ 0.03% 10 menit→alkohol 70% 45 detik

P5: benomyl 0.2% 3 menit→detergen 3 menit→ alkohol 70% 45 detik → HgCl₂ 0.03% 10 menit

P6: benomyl 0.2% 3 menit→detergen 3 menit→HgCl₂ 0.03% 10 menit

Tabel 3. Rerata persentase eksplan hidup terhadap interaksi perlakuan sterilisasi dan jenis eksplan semangka (%)

Sterilisasi	Jenis eksplan			
	E1	E2	E3	E4
P1	23.5	34.8	24.2	18.0
P2	42.5	37.5	8.5	8.5
P3	26.5	21.5	38.5	8.5
P4	30.2	14.5	10.5	38.5
P5	13.0	23.5	35.5	27.5
P6	14.5	23.5	26.2	38.0

Keterangan: hasil interaksi terbaik ditandai dengan angka rerata terbesar menunjukkan hasil yang signifikan menurut analisis *Aligned Rank Transform* (ART)

E1:radikula, E2:hipokotil, E3:plumula, E4:kotiledon

P1: detergen 3 menit→HgCl₂ 0.03% 10 menit→alkohol 70% 45 detik

P2: detergen 3 menit→ alkohol 70% 45 detik → HgCl₂ 0.03% 10 menit

P3: detergen 3 menit→HgCl₂ 0.03% 10 menit

P4: benomyl 0.2% 3 menit→detergen 3 menit→HgCl₂ 0.03% 10 menit→alkohol 70% 45 detik

P5: benomyl 0.2% 3 menit→detergen 3 menit→ alkohol 70% 45 detik → HgCl₂ 0.03% 10 menit

P6: benomyl 0.2% 3 menit→detergen 3 menit→HgCl₂ 0.03% 10 menit

Persentase Eksplan Mati (%)

Eksplan mati pada penelitian ini memiliki ciri-ciri perubahan eksplan yang menjadi layu dan kering (Gambar 3B) serta eksplan yang berubah warna menjadi coklat (Gambar 3C) atau yang disebut dengan *browning*. Pada persentase eksplan mati, data tidak memenuhi asumsi anova ($p\text{-value} = 3.335\text{e-}08$). Interaksi urutan sterilisasi dan jenis eksplan menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan dalam mempengaruhi persentase eksplan mati. Hasil rerata menunjukkan interaksi antara perlakuan P3 yaitu detergen 3 menit dan HgCl₂ 0.03% selama 10 menit dengan eksplan radikula (E1) menunjukkan

interaksi terbaik yaitu 3.5% dengan tingkat eksplan mati terendah sedangkan dengan persentase eksplan mati tertinggi terjadi pada perlakuan P4 (benomyl 0.2% selama 3 menit, detergen selama 3 menit, HgCl₂ 0.03% selama 10 menit, dan alkohol 70% selama 45 detik) dan eksplan radikula (E1) dengan rerata persentase eksplan mati mencapai 44% (Tabel 4).

Pada penelitian ini, efektivitas bahan sterilisasi detergen dan HgCl₂ (P3) menunjukkan perlakuan terbaik dalam menurunkan persentase eksplan mati. Hal ini dapat terjadi karena rangkaian tahap sterilisasi yang lebih sedikit dibandingkan sterilisasi P4 (benomyl 0.2% selama 3 menit, detergen selama 3 menit, HgCl₂ 0.03% selama 10 menit, dan

alkohol 70% selama 45 detik). Banyaknya paparan eksplan terhadap bahan sterilisasi dapat menyebabkan kerusakan sel pada eksplan sehingga menyebabkan layu hingga *browning*, seperti pada penelitian Hamdani *et al.* (2020), pada eksplan tunas kentang dengan sterilisasi benomyl, alkohol, NaOCl yang berulang sebanyak 3 kali menyebabkan terjadinya kerusakan eksplan.

Eksplan layu juga dapat terjadi karena sel-sel yang mengalami plasmolisis akibat pengaruh kuat dari bahan sterilisasi yang melebihi ambang batas toleransi terhadap konsentrasi dan waktu bahan sterilan yang tidak sesuai dengan jenis eksplan yang digunakan (Hashim *et al.*, 2021). Sejalan dengan penelitian Natasha dan Restiani, (2019) pada eksplan ginseng jawa yang terjadi kerusakan sel hingga 50% akibat panjangnya proses sterilisasi. Jenis eksplan radikula yang lebih kecil menjadi lebih rentan terjadi plasmolisis karena ukuran lebih kecil.

Browning merupakan reaksi sel abnormal terhadap bagian eksplan yang kemudian bereaksi dengan membran sel untuk memicu pelepasan senyawa fenolik yang dapat terjadi dari pengaruh pemotongan eksplan (Permadi *et al.*, 2023). *Browning* dapat terjadi karena kondisi stres yang dapat terjadi pada lingkungan tumbuh eksplan seperti cahaya, suhu, hingga bahan sterilisasi (Noli *et al.*, 2024). Eksplan *browning* ini menyebabkan nekrosis pada eksplan dan menyebabkan gagal pertumbuhan.

Persentase Media Terkontaminasi (%)

Kontaminasi media yang ditemukan pada penelitian ini berupa hifa berwarna putih di permukaan media yang

disebabkan oleh cendawan (Gambar 2C) dan lendir putih pada permukaan media yang disebabkan oleh bakteri (Gambar 2D). Jenis bakteri gram negatif dan cendawan *Rhizopus sp* menjadi kontaminasi pada media pertumbuhan eksplan kecambah semangka (Sulichantini *et al.*, 2024). Pada persentase eksplan mati, data tidak memenuhi asumsi anova (*p-value* = 0.002645). Hasil analisis ART menunjukkan bahwa interaksi perlakuan sterilisasi dan jenis eksplan menunjukkan interaksi yang signifikan terhadap persentase media terkontaminasi. Paparan kontaminasi dari media akan memicu stres pada eksplan sehingga menghambat pertumbuhan eksplan. Kondisi media yang mengalami kontaminasi mempengaruhi eksplan karena menyebabkan kegagalan pertumbuhan.

Interaksi antara kedua faktor yaitu perlakuan P1 (detergen 3 menit, HgCl₂ 0.03% 10 menit, dan alkohol 70% 45 detik) dan eksplan hipokotil (E2) menjadi faktor interaksi terbaik pada persentase media terkontaminasi dengan rerata 3.5% sedangkan interaksi antara perlakuan P1 (detergen 3 menit, HgCl₂ 0.03% 10 menit, dan alkohol 70% 45 detik) dan eksplan plumula (E3) menjadi rerata tertinggi yaitu 42% (Tabel 5). Media yang mengalami kontaminasi dapat disebabkan oleh kurang optimal dalam sterilisasi media ataupun penutup media yang tidak sengaja bocor. Perubahan suhu media didalam ruang inkubasi yang lebih dingin dibandingkan sebelumnya juga mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme pada media yang lebih cepat (Septiani *et al.*, 2022). Pendapat lainnya juga ditemukan bahwa tempat penyimpanan media yang lembab juga mempengaruhi tingkat kontaminasi pada media (Yasmin *et al.*, 2018).

Tabel 4. Rerata persentase eksplan mati terhadap interaksi perlakuan sterilisasi dan jenis eksplan semangka (%)

Sterilisasi	Jenis eksplan			
	E1	E2	E3	E4
P1	25.5	37.5	16.5	14.0
P2	14.0	19.5	33.2	29.5
P3	3.5	23.8	33.5	41.5
P4	44.0	24.0	23.5	8.0
P5	31.0	24.0	23.5	22.0
P6	27.0	19.5	20.0	29.5

Keterangan: hasil interaksi terbaik ditandai dengan angka rerata terkecil menunjukkan hasil yang signifikan menurut analisis *Aligned Rank Transform* (ART)

E1:radikula, E2:hipokotil, E3:plumula, E4:kotiledon

P1: detergen 3 menit→HgCl₂ 0.03% 10 menit→alkohol 70% 45 detik

P2: detergen 3 menit→ alkohol 70% 45 detik → HgCl₂ 0.03% 10 menit

P3: detergen 3 menit→HgCl₂ 0.03% 10 menit

P4: benomyl 0.2% 3 menit→detergen 3 menit→HgCl₂ 0.03% 10 menit→alkohol 70% 45 detik

P5: benomyl 0.2% 3 menit→detergen 3 menit→ alkohol 70% 45 detik → HgCl₂ 0.03% 10 menit

P6: benomyl 0.2% 3 menit→detergen 3 menit→HgCl₂ 0.03% 10 menit

Tabel 5. Rerata persentase media terkontaminasi terhadap interaksi perlakuan sterilisasi dan jenis eksplan semangka (%)

Sterilisasi	Jenis eksplan			
	E1	E2	E3	E4
P1	35.5	3.5	42.0	15.0
P2	10.5	16.0	31.0	30.2
P3	30.0	30.2	5.5	34.0
P4	13.0	37.5	20.0	26.0
P5	22.0	33.5	16.5	39.5
P6	36.0	25.0	28.0	7.5

Keterangan: hasil interaksi terbaik ditandai dengan angka rerata terkecil menunjukkan hasil yang signifikan menurut analisis *Aligned Rank Transform* (ART)

E1:radikula, E2:hipokotil, E3:plumula, E4:kotiledon

P1: detergen 3 menit→HgCl₂ 0.03% 10 menit→alkohol 70% 45 detik

P2: detergen 3 menit→ alkohol 70% 45 detik → HgCl₂ 0.03% 10 menit

P3: detergen 3 menit→HgCl₂ 0.03% 10 menit

P4: benomyl 0.2% 3 menit→detergen 3 menit→HgCl₂ 0.03% 10 menit→alkohol 70% 45 detik

P5: benomyl 0.2% 3 menit→detergen 3 menit→ alkohol 70% 45 detik → HgCl₂ 0.03% 10 menit

P6: benomyl 0.2% 3 menit→detergen 3 menit→HgCl₂ 0.03% 10 menit

KESIMPULAN

Rangkaian perlakuan sterilisasi dan jenis eksplan menghasilkan interaksi terhadap persentase eksplan terkontaminasi, berpengaruh sangat signifikan terhadap persentase eksplan hidup dan persentase media terkontaminasi, serta tidak berpengaruh signifikan terhadap persentase eksplan mati.

Interaksi antara perlakuan sterilisasi P4 yaitu benomyl 0.2% selama 3 menit, detergen selama 3 menit, HgCl₂ 0.03% selama 10 menit, dan alkohol 70% selama 45 detik dengan eksplan kotiledon (E4) menunjukkan persentase eksplan terkontaminasi terendah yaitu 1.5%. Interaksi antara perlakuan sterilisasi P2 yaitu detergen selama 3 menit, alkohol 70% selama 45 detik, dan HgCl₂ 0.03% selama 10 menit dengan eksplan radikula (E1) menunjukkan persentase eksplan hidup tertinggi yaitu 42.5%. Interaksi antara perlakuan sterilisasi P3 yaitu detergen selama 3 menit dan HgCl₂ 0.03% selama 10 menit dengan eksplan radikula (E1) menunjukkan persentase eksplan mati terendah yaitu 3.5%. Interaksi antara perlakuan sterilisasi P1 yaitu detergen selama 3 menit, HgCl₂ 0.03% selama 10 menit, dan alkohol 70% selama 45 detik dengan eksplan hipokotil (E2) menunjukkan persentase media terkontaminasi terendah yaitu 3.5%.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penyelesaian penelitian pada artikel ini didanai oleh DIPA Badan Layanan Umum Universitas Sriwijaya Tahun 2022. SP DIPA-023.17.2.677515/2022, pada tanggal 13 Desember 2021 sesuai dengan Keputusan Rektor Nomor: 0109/UN9.3.1/SK/2022, pada tanggal 28 April 2022.

DAFTAR PUSTAKA

- Abebaw, Y. M., Tobiaw, D. C., Abate, B. A., Eshete, B. K., Seymour, S. K., dan Tesfaye, K. (2021). Plant tissue culture research and development in Ethiopia: A case study on current status, opportunities, and challenges. *Advances in Agriculture*. 2021: 1–12. [Doi: https://doi.org/10.1155/2021/9979549](https://doi.org/10.1155/2021/9979549)
- Ahmadpoor, F., Zare, N., Asghari, R., dan Sheikhzadeh, P. (2022). Sterilization protocols and the effect of plant growth regulators on callus induction and secondary metabolites production in in vitro cultures *Melia azedarach* L. *AMB Express*. 12(1): 3. [Doi: https://doi.org/10.1186/s13568-022-01343-8](https://doi.org/10.1186/s13568-022-01343-8)
- Andriani, D., dan Heriansyah, P. (2021). Identifikasi Jamur Kontaminan pada Berbagai Eksplan Kultur Jaringan Anggrek Alam (*Bromheadia finlaysoniana* (Lind.) Miq. *Agro Bali: J. Agric*. 4(2): 192–199. [Doi: https://doi.org/10.37637/ab.v4i2.723](https://doi.org/10.37637/ab.v4i2.723)
- Ansori, Y. Z. (2022). Pemanfaatan Limbah Kulit Semangka Inul Sebagai Bahan Dasar Pembuatan Selai dan Permen Jely. *Papanda J. of Community Service*. 1(1): 13–19. [Doi: https://doi.org/10.56916/pjcs.v1i1.51](https://doi.org/10.56916/pjcs.v1i1.51)
- Arum, L. S., Safitri, L. W., Murtiyaningsih, H., dan Hazmi, M. (2022). Efektifitas Madu Sebagai Substituen Media Induksi Kalus Sorgum (*Sorghum bicolor*) Secara *In Vitro*. *Paspalum. J. ilm. pertanian*. 10(1): 39–45. [Doi: https://doi.org/10.35138/paspalum.v10i1.377](https://doi.org/10.35138/paspalum.v10i1.377)

- Avivi, S., dan Ubaidillah, M. (2022). Pengaruh BAP, IAA, dan Jenis Eksplan terhadap Efisiensi Regenerasi Tomat Fortuna 23. *J. Agron. Indones.* 50(3): 307–314. [Doi: https://doi.org/10.24831/jai.v50i3.41988](https://doi.org/10.24831/jai.v50i3.41988)
- Awasthi, M. K., Kumar, V., Yadav, V., Sarsaiya, S., Awasthi, S. K., Sindhu, R., Binod, P., Kumar, V., Pandey, A., dan Zhang, Z. (2022). Current state of the art biotechnological strategies for conversion of watermelon wastes residues to biopolymers production: A review. *Chemosphere.* 290: 133310. [Doi: https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.133310](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.133310)
- Badan Pusat Statistik. (2024). *Produksi Tanaman Buah Di Indonesia*. <https://www.bps.go.id/id/statistics-table/2/NjIjMg==/produksi-tanaman-buah-buahan.html>
- Cahyono, E. H. dan Riani Ningsih. (2023). Pengembangan Metode Teknik Sterilisasi Eksplan Guna Meningkatkan Keberhasilan Kultur Jaringan Tanaman Stevia (*Stevia Rebaudiana Bertoni*). *J. Pengembangan Potensi Laboratorium.* 2(2): 60–68. [Doi: https://doi.org/10.25047/plp.v2i2.3685](https://doi.org/10.25047/plp.v2i2.3685)
- Chandran, H., Meena, M., Barupal, T., dan Sharma, K. (2020). Plant tissue culture as a perpetual source for production of industrially important bioactive compounds. *Biotechnology Reports.* 26. e00450. [Doi: https://doi.org/10.1016/j.btre.2020.e00450](https://doi.org/10.1016/j.btre.2020.e00450)
- Chun, S. C., Gopal, J., Iyyakannu, S., dan Muthu, M. (2020). An analytical retrospection of mass spectrometric tools established for plant tissue culture: Current endeavours and future perspectives. *TrAC Trends in Analytical Chemistry.* 126: 115843. [Doi: https://doi.org/10.1016/j.trac.2020.115843](https://doi.org/10.1016/j.trac.2020.115843)
- Dodake, S., Jadhav, A., Pawar, S., Shinde, P., dan Magar, N. (2021). Standardizing efficient in vitro surface sterilization protocol for explants of Kankoda (*Momordica dioica Roxb.*). [Doi: https://doi.org/10.20546/ijemas.2020.912.345](https://doi.org/10.20546/ijemas.2020.912.345)
- Dotulong, G., Umboh, S., dan Pelealu, J. (2019). Uji Toksisitas Beberapa Fungisida Nabati terhadap Penyakit Layu Fusarium (*Fusarium oxysporum*) pada Tanaman Kentang (*Solanum tuberosum* L.) secara *In Vitro* (Toxicity Test of several Biofungicides in controlling Fusarium wilt (*Fusarium oxysporum*) in Potato Plants (*Solanum tuberosum* L.) by *In Vitro*). *J. Bios Logos.* 9(2): 91–101. [Doi: https://doi.org/10.35799/jbl.9.2.2019.24416](https://doi.org/10.35799/jbl.9.2.2019.24416)
- Fauzan, Y. S. A., dan Tajuddin, T. (2017). Efektivitas merkuri klorida (HgCl₂) pada sterilisasi tunas samping jati (*Tectona grandis*) *in vitro*. *J. Bioteknologi dan Biosains Indonesia.* 4(2): 78–84. [Doi: https://doi.org/10.29122/jbbi.v4i2.2540](https://doi.org/10.29122/jbbi.v4i2.2540)
- Hamdani, S., Nugraha, D., Berliani, T., dan Baroroh, U. (2020). Teknik Sterilisasi Eksplan Tunas Kentang Granola Kembang (*Solanum Tuberosum* L.) untuk Kultur *in Vitro* Explant Sterilization Technique of Shoot Granola Kembang Potato (*Solanum tuberosum* L.) for *In Vitro* Culture. 2(3): 60–69. [Doi: https://doi.org/10.26874/jkk.v3i2.63](https://doi.org/10.26874/jkk.v3i2.63)
- Hardarani, N., dan Nisa, C. (2022). Efektivitas Formulasi Sterilan terhadap Jenis Eksplan pada Kultur Durian Lahung (*Durio dulcis*): Effectiveness of Sterilant Formulation on Type of Explant in Durian Lahung Tissue Culture. *Daun: J. Ilmiah Pertanian dan Kehutanan.* 9(2): 161–176. [Doi: https://doi.org/10.33084/daun.v9i2.4264](https://doi.org/10.33084/daun.v9i2.4264)
- Hashim, S. N., Ghazali, S. Z., Sidik, N. J., Chia-Chay, T., dan Saleh, A. (2021). Surface sterilization method for reducing contamination of *Clinacanthus nutans* nodal explants intended for *in-vitro* culture. *E3S Web of Conferences,* 306, 01004. [Doi: https://doi.org/10.1051/e3sconf/202130601004](https://doi.org/10.1051/e3sconf/202130601004)
- Heriansyah, P., dan Indrawanis, E. (2020). Uji tingkat kontaminasi eksplan anggrek *Bromheadia finlysoniana* L. Miq dalam kultur *in-vitro* dengan penambahan ekstrak tomat. *J. Agroqua: Media Informasi Agronomi dan Budidaya Perairan.* 18(2): 223–232. [Doi: https://doi.org/10.32663/ja.v18i2.1502](https://doi.org/10.32663/ja.v18i2.1502)
- Inaya, R., Irmawati, I., Susilawati, S., Helen, H., Herlin, W., dan Negara, Z. P. (2024). Efektivitas Beberapa Metode Sterilisasi terhadap Tingkat Kontaminasi Eksplan Tulang Daun Duku pada Kultur *In-Vitro*. 12(1): 667–678.
- Kara, M., Jannuzzi, A., dan Yön, S. (2019). In-vitro investigation of the cytotoxic and genotoxic effects of benzimidazole group pesticides benomyl and carbendazim. *J. Toxicol Cur Res.* 3(007). [Doi: https://doi.org/10.24966/TCR-3735/100007](https://doi.org/10.24966/TCR-3735/100007)
- Lal, M., Jamwal, M., Bakshi, P., Sharma, N., Sood, Y., Jasrotia, A., Sharma, A., Sharma, S., dan Sharma, R. (2023). Establishing surface sterilization protocol for clonal apple rootstock MM106. *J. Appl. and Nat. Sci* 15(4): 1654–1659. [Doi: https://doi.org/10.31018/jans.v15i4.5147](https://doi.org/10.31018/jans.v15i4.5147)

- Malambane, G., Batlang, U., Ramolekwa, K., Tsujimoto, H., dan Akashi, K. (2021). Growth chamber and field evaluation of physiological factors of two watermelon genotypes. *Plant Stress*. 2: 100017. [Doi: https://doi.org/10.1016/j.stress.2021.100017](https://doi.org/10.1016/j.stress.2021.100017)
- Maoto, M. M., Beswa, D., dan Jideani, A. I. (2019). Watermelon as a potential fruit snack. *Int. J. Food Prop.* 22(1): 355–370. [Doi: https://doi.org/10.1080/10942912.2019.1584212](https://doi.org/10.1080/10942912.2019.1584212)
- Nabwire, S., Wakholi, C., Faqeerzada, M. A., Arief, M. A. A., Kim, M. S., Baek, I., dan Cho, B.-K. (2022). Estimation of Cold Stress, Plant Age, and Number of Leaves in Watermelon Plants Using Image Analysis. *Frontiers in Plant Science*. 13. [Doi: https://doi.org/10.3389/fpls.2022.847225](https://doi.org/10.3389/fpls.2022.847225)
- Natasha, K., dan Restiani, R. (2019). Optimasi sterilisasi eksplan pada kultur *in vitro* ginseng jawa (*Talium paniculatum*). 30. [Doi: https://doi.org/10.26555/symbion.3512](https://doi.org/10.26555/symbion.3512)
- Noli, Z. A., Hanafi, M., dan Hany, I. P. (2024). Effect of Kinetin Concentration on Callus Induction of *Cryptocarya massoy* (Oken) Kosterm Under in Vitro Conditions. *J. Biologi Tropis*. 24(1b): 532–539. [Doi: https://doi.org/10.29303/jbt.v24i1b.8162](https://doi.org/10.29303/jbt.v24i1b.8162)
- Oktavia, N., dan Pujiyanto, S. (2018). Isolasi dan uji antagonisme bakteri endofit tapak dara (*Catharanthus Roseus*, L.) terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Berkala Bioteknologi*. 1(1).
- Permadi, N., Nurzaman, M., Alhasnawi, A. N., Doni, F., dan Julacha, E. (2023). Managing Lethal Browning and Microbial Contamination in *Musa* spp. Tissue Culture: Synthesis and Perspectives. *Horticulturae*. 9(4): 453. [Doi: https://doi.org/10.3390/horticulturae9040453](https://doi.org/10.3390/horticulturae9040453)
- Pranata, I. T., dan Herawati, M. M. (2019). Efektivitas sterilisasi kimiawi eksplan pucuk *Artemisia annua* LINN. dengan berbagai prosedur sterilisasi pada tahap inisiasi *in vitro*. *AGRIUM: J. Agric. Sci.* 22(2): 94–101.
- Pranuthi, P., Suseela, T., Kumar, R., Dorajee Rao, A., Suneetha, S., Umakrishna, K., dan Paratpara Rao, M. (2023). Standardization of different pre-treatments, surface sterilization and growth regulators for axenic culture development and culture initiation from inflorescence stalk of tuberose. *I2(I)*: 1616–1620.
- Pratiwi, D. R., Wening, S., Nazri, E., dan Yenni, Y. (2021). Penggunaan alkohol dan sodium hipoklorit sebagai sterilan tunggal untuk sterilisasi eksplan kelapa sawit. *J. Penelitian Kelapa Sawit*. 29(1): 1–10. [Doi: https://doi.org/10.22302/iopri.jur.jpks.v29i1.120](https://doi.org/10.22302/iopri.jur.jpks.v29i1.120)
- Prodromidis, P., Biliaderis, C. G., Katsanidis, E., dan Moschakis, T. (2023). Effect of Tween 20 on structure, phase-transition behavior and mechanical properties of monoglyceride oleogels. *Food Structure*. 38: 100345. [Doi: https://doi.org/10.1016/j.foostr.2023.100345](https://doi.org/10.1016/j.foostr.2023.100345)
- Putri, A., Haryjanto, L., Herawan, T., Fauzi, A., Izudin, E., Setiawan, A., Hartono, R., Priatna, D., Herdiantara, B., dan Wahno, I. (2020). Effect of methylisothiazolinone biocide in tissue culture sterilization of *Casuarina equisetifolia*. 522(1): 012008. [Doi: https://doi.org/10.1088/1755-1315/522/1/012008](https://doi.org/10.1088/1755-1315/522/1/012008)
- Septiani, A. H. I., Kusmiyati, F., dan Kristanto, B. A. (2022). Efektivitas Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica* L.) Sebagai Anti Kontaminan Dalam Pertumbuhan Kultur Jaringan Kentang (*Solanum tuberosum* L.) Varietas Tedjo MZ. *Agroteknika*. 5(1): 60–74. [Doi: https://doi.org/10.55043/agroteknika.v5i1.147](https://doi.org/10.55043/agroteknika.v5i1.147)
- Shofiyani, A., dan Damajanti, N. (2017). Pengembangan metode sterilisasi pada berbagai eksplan guna meningkatkan keberhasilan kultur kalus kencur (*Kaemferia galangal* L.). *Agrotech: J. Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Purwokerto*. 17(1): 55–64.
- Singh, Y., Kumar, U., Panigrahi, S., Balyan, P., Mehla, S., Sihag, P., Sagwal, V., Singh, K. P., White, J. C., dan Dhankher, O. P. (2023). Nanoparticles as novel elicitors in plant tissue culture applications: Current status and future outlook. *Plant Physiology and Biochemistry*. 108004. [Doi: https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2023.108004](https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2023.108004)
- Sivanesan, I., Muthu, M., Gopal, J., Tasneem, S., Kim, D.-H., dan Oh, J.-W. (2021). A fumigation-based surface sterilization approach for plant tissue culture. *Int. j. environ. res. public health*. 18(5): 2282. [Doi: https://doi.org/10.3390/ijerph18052282](https://doi.org/10.3390/ijerph18052282)
- Soumare, A., Diédhiou, A. G., Arora, N. K., Tawfeeq Al-Ani, L. K., Ngom, M., Fall, S., Hafidi, M., Ouhdouch, Y., Kouisni, L., dan Sy, M. O. (2021). Potential role and utilization of plant growth promoting microbes in plant tissue culture. *Frontiers in Microbiology*. 12: 649878. [Doi: https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.649878](https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.649878)
- Sulichantini, E. D., Nazari, A. P. D., dan Nuanyah, A. (2024). Identifikasi kontaminasi kultur jaringan pisang cavendish. *J. Agrotek Tropika*. 12(2): 400. [Doi: https://doi.org/10.23960/jat.v12i2.6721](https://doi.org/10.23960/jat.v12i2.6721)

- Sulistiyo, R. H., Luthfiyyah, Z., Susilo, B., Dalimartha, L. N., Wiguna, E. C., Yuliana, N., dan Prasetyo, E. N. (2018). Pengaruh teknik sterilisasi dan komposisi medium terhadap pertumbuhan tunas eksplan sirsak ratu. *Bioedukasi UNS*. 11(1): 1–5.
- Surya, M. I., dan Ismaini, L. (2021). Perbandingan metode sterilisasi untuk perbanyak *Rubus rosifolius* secara *in vitro*. *Al-Kauniyah: J. Biol.* 14(1): 127–137. [Doi: https://doi.org/10.15408/kauniyah.v14i1.16325](https://doi.org/10.15408/kauniyah.v14i1.16325)
- Tarigan, S. D. S., Astarini, I. A., dan Astiti, N. P. A. (2023). Inisiasi Kalus Bangle (*Zingiber purpureum* Roscoe) pada Beberapa Kombinasi 2.4-D dan Kinetin. *J. Hort. Ind.* 14(2): 93–99. [Doi: https://doi.org/10.29244/jhi.14.2.93-99](https://doi.org/10.29244/jhi.14.2.93-99)
- Ulva, M., Nurchayati, Y., Prihastanti, E., dan Setiari, N. (2019). Pertumbuhan Kalus Tomat (*Lycopersicon esculentum* Mill.) Varietas Permata F1 dari Jenis Eksplan dan Konsentrasi Sukrosa yang Berbeda secara *In Vitro*. *Life Science*. 8(2): 160–169.
- Walters, S. A., Abdelaziz, M., dan Bouharroud, R. (2021). Local melon and watermelon crop populations to moderate yield responses to climate change in North Africa. *Climate*. 9(8): 129. [Doi: https://doi.org/10.3390/cli9080129](https://doi.org/10.3390/cli9080129)
- Widyastuti, A., Putrika, A., Dwiranti, A., Salamah, A., Hemelda, N. M., dan Handayani, W. (2021). The Development of In Vitro Culture Sterilization Method of Gametophyte Explant *Lopholejeunea* sp. *HAYATI J Biosci.* 28(2): 110. [Doi: https://doi.org/10.4308/hjb.28.2.110](https://doi.org/10.4308/hjb.28.2.110)
- Wulandari, E. (2022). Identifikasi Bakteri Kontaminan Pada Kultur Jaringan Bambu Jenis *Fargesia scabrida*. *J. Integrated Lab.* 10(02): 99–107.
- Yasmin, Z. F., Aisyah, S. I., dan Sukma, D. (2018). Pembibitan (Kultur Jaringan hingga Pembesaran) Anggrek *Phalaenopsis* di Hasanudin Orchids, Jawa Timur. *Buletin Agrohorti.* 6(3): 430–439. [Doi:https://doi.org/10.29244/agrob.v6i3.21113](https://doi.org/10.29244/agrob.v6i3.21113)