

Pengaruh Perbandingan Sterilan Hidrogen Peroksida (H_2O_2) dan Nanobubbles ozon ($NBSO_3$) terhadap Eksplan Anggrek *Cattleya* sp.

The Effect of the Comparison of Hydrogen Peroxide (H_2O_2) And Ozone Nanobubbles ($NBSO_3$) Sterilizers *Cattleya* sp. Explant Culture

Ulfa Hdayah^{1 *}, Gatra Ervi Jayanti^{2 **}, Tintrim Rahayu³
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan alam, Universitas Islam Malang
Faculty of and Natural Science Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Sterilisasi merupakan tahap awal yang menjadi kunci keberhasilan kultur *in vitro*. Selain alat dan bahan, eksplan juga perlu di sterilisasi salah satu bahan sterilan yang dapat digunakan adalah hidrogen peroksida (H_2O_2). Dalam sterilisasi H_2O_2 melepaskan oksigen saat terurai, menciptakan lingkungan oksidatif yang merusak struktur sel, membantu menjaga kondisi aseptik didalam media kultur, meminimalkan resiko kontaminasi dan dukung pertumbuhan jaringan tanaman yang bersih. Selain H_2O_2 , *Nanobubbles* ozon ($NBSO_3$) juga dapat digunakan sebagai bahan sterilisasi karena dapat membunuh mikroorganisme dan menguraikan kontaminan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh dan perbandingan efektifitas H_2O_2 dan $NBSO_3$ dalam sterilisasi anggrek *Cattleya* sp. Metode penelitian ini adalah eksperimental dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan masing-masing 5 ulangan. Perlakuan pertama: kontrol akuades selama 5, 10, dan 15 menit. Perlakuan kedua: alkohol 96% selama 5, 10, dan 15 menit. Perlakuan ketiga: H_2O_2 1% selama 5, 10, dan 15 menit. Perlakuan keempat: $NBSO_3$ selama 5, 10 dan 15 menit. Perlakuan kelima: kombinasi $NBSO_3 + H_2O_2$ 1% selama 5, 10 dan 15 menit. Parameter yang diamati yaitu persentase eksplan hidup, waktu muncul kontaminasi dan jenis kontaminasi. Analisis data kualitatif secara deskriptif disajikan dalam bentuk tabel dan grafik. Analisis data yang digunakan adalah uji *Multivariate Analysis of Variance* (MANOVA). Uji MANOVA menunjukkan perlakuan berpengaruh signifikan terhadap eksplan hidup ($p = 0,011$), namun waktu perendaman ($p = 0,830$) dan interaksi keduanya ($p = 0,947$) tidak signifikan. Uji lanjut Tukey HSD menunjukkan tidak terdapat perbedaan signifikan antar kelompok perlakuan ($p > 0,05$). Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan $NBSO_3$ dan H_2O_2 1% dengan perendaman selama 10 menit merupakan kombinasi terbaik dari perlakuan dan lama perendaman karena menunjukkan kondisi eksplan yang masih steril dengan persentase hidup yang tinggi yaitu 90-95%.

Kata kunci: *sterilan, H_2O_2 , $NBSO_3$, Kultur, Anggrek*

ABSTRACT

*Sterilization is the initial stage that is the key to the success of in vitro culture. In addition to tools and materials, explants also need to be sterilized. One sterilant that can be used is hydrogen peroxide (H_2O_2). H_2O_2 is a chemical compound that can activate the antioxidant defense system to prevent damage to plant cells. In addition to H_2O_2 , ozone Nanobubbles ($NBSO_3$) can also be used as a sterilant because they can stimulate plant growth with a very small form of oxygen and have antioxidants, accelerate photosynthesis and increase nutrient absorption in tissue culture techniques. The purpose of this study was to determine the effect and comparison of the effectiveness of H_2O_2 and $NBSO_3$ in increasing the growth of *Cattleya* sp. Orchids. This research method was experimental with a completely randomized design (CRD) with 5 treatments and each treatment had 5 replications. The first treatment: was aquadest for 5, 10 and 15 minutes. The second treatment: 96% alcohol for 5, 10 and 15 minutes. The third treatment: 1% H_2O_2 for 5, 10 and 15 minutes. The fourth treatment: $NBSO_3$ for 5, 10 and 15 minutes. The fifth treatment: a combination of $NBSO_3 + 1\% H_2O_2$ for 5, 10 and 15 minutes. The parameters observed were the percentage of living explants, the time of contamination, and the type of*

^{*}) Ulfa Hidayah, Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Malang, Jl. MT. Haryono 193, Malang 65144, e-mail: ulfahidayah.02@gmail.com

^{**}) Gatra Ervi Jayanti, Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Malang, Jl. MT. Haryono 193, Malang 65144, e-mail: gatra.ervi@unisma.ac.id

^{***}) Tintrim Rahayu, Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Malang, Jl. MT. Haryono 193, Malang 65144, e-mail: tintrimr@gmail.com

contamination. Qualitative data analysis was descriptively presented in the form of tables and graphs. The data analysis used was the multivariate analysis of variance (MANOVA) test. The MANOVA test showed that treatment had a significant effect on live explants ($p = 0.011$), but immersion time ($p = 0.830$) and the interaction between the two ($p = 0.947$) were not significant. The Tukey HSD follow up test showed that the NBsO_3 and 1% H_2O_2 treatment with a 10 minute immersion was the best combination of treatment and immersion time. The results of the study showed that the treatment of NBsO_3 and 1% H_2O_2 with immersion for 10 minutes was the best combination of treatment and immersion time because it showed that the explants were still sterile with a high survival percentage of 90-95%.

Keywords: Sterilant, H_2O_2 , NBsO_3 , Culture, Orchids

Pendahuluan

Perbanyakan anggrek *Cattleya* menggunakan teknik kultur jaringan atau *in vitro* merupakan salah satu alternatif perbanyakan anggrek yang banyak digunakan petani anggrek. Kultur jaringan tumbuhan merupakan teknik perbanyakan sel, jaringan atau organ tanaman dengan ditumbuhkan pada medium buatan (*in vitro*) secara aseptik. Salah satu tahapan teknik kultur jaringan adalah kondisi aseptis sehingga memerlukan sterilan yang sesuai. Contoh sterilan yang dapat digunakan adalah hidrogen peroksida (H_2O_2). H_2O_2 sering digunakan sebagai sterilisasi dalam kultur jaringan tanaman. Keefektifannya berasal dari sifat oksidatifnya yang kuat, memungkinkan untuk merusak membran sel dan membunuh atau menonaktifkan bakteri, jamur serta mikroorganisme lain yang dapat tercemar. Sterilan lain yang bisa digunakan adalah *Nanobubbles* ozon (NBsO_3). NBsO_3 adalah jenis *nanobubbles* (gelembung nano) yang diisi dengan ozon. NBsO_3 mengandung ozon (O_3) sebuah bentuk oksigen yang memiliki sifat oksidatif kuat. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh dan perbandingan efektivitas H_2O_2 dan NBsO_3 dalam sterilisasi anggrek *Cattleya* sp.

Material dan Metode

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah anggrek *Cattleya* sp. yang berumur 4-5 bulan, pH meter, hidrogen peroksida (H_2O_2), *Nanobubbles* ozon (NBsO_3), *plastic wrap*, karet gelang, kertas label, tisu dan kamera HP bahan untuk membuat media MS adalah larutan stok hara makro & mikro vitamin E, *myo-inositol*, agar, gula dan akuades steril. Alat yang digunakan meliputi: timbangan analitik, gelas ukur, beaker glass, magnetic, autoclave, *Laminar Air Flow* (LAF) Cabinet, bunsen, rak penyimpanan kultur, masker.

Metode

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan februari-april 2025, di Laboratorium Orchidologi dan Nursery FMIPA Universitas Islam Malang. Jenis metode dalam pelaksanaan penelitian ini adalah eksperimen, Dengan 5 perlakuan dan 5 ulangan diantaranya: akuades steril, alkohol 96%, H_2O_2 1%, NBsO_3 dan Kombinasi NBsO_3 + H_2O_2 1%. Sehingga terdapat total 75 unit percobaan

Cara Kerja

Persiapan dan sterilisasi alat dan bahan : Sterilisasi alat dan bahan menggunakan autoklaf selama 1 jam.

Pembuatan media : Persiapan Media Bahan dilarutkan ke dalam gelas beaker dan distirrer sampai semua bahan terlarut. Kemudian ditambahkan agar dan dilarutkan hingga mendidih, setelah mendidih pH diperiksa menggunakan pH meter media MS umumnya memiliki pH 5,7-5,8 yang optimal untuk pertumbuhan tanaman.

Pemilihan Eksplan Anggrek : Eksplan anggrek berumur 4-5 bulan yang akan digunakan dalam penelitian. Tanaman anggrek yang digunakan harus sehat, bebas dari serangan hama dan penyakit, seperti tidak ada tanda-tanda kerusakan pada daun, dan tampak segar dengan warna daun yang baik, batang yang tidak berkerut dan memiliki akar berwarna putih bersih.

Pembuatan Larutan H_2O_2 dan *Nanobubbles* Ozon ($NBSO_3$) : Pengenceran larutan H_2O_2 dari konsentrasi 50% ke 1% dengan cara melarutkan 2 ml H_2O_2 50% ke dalam 98 ml akuadest steril. Pembuatan Larutan *Nanobubbles* Ozon ($NBSO_3$) Akuades diambil sebanyak 1 L pada beaker gelas lalu di Running menggunakan nanogenerator selama 15 menit .

Kultur eksplan *Cattleya* sp. : Eksplan diambil menggunakan pinset dan dipotong lalu direndam pada 100 ml alkohol 96%, H_2O_2 1%, dan $NBSO_3$ kemudian dibilas dengan akuadest steril dan tanam pada media tanam MS tanpa hormon pertumbuhan.

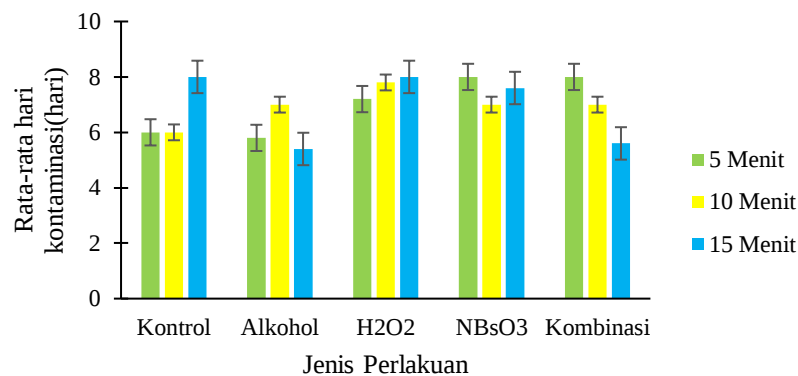
Hasil dan Diskusi

Hasil Penelitian dan Pembahasan

Tabel 1. Waktu terjadinya kontaminasi pada eksplan *Cattleya*

No.	Perlakuan	Perendaman	Kontaminasi (Hari ke-)
1.	Kontrol (akuades steril)	5 menit	3
2.		10 menit	3
3.		15 menit	5
4.	Alkohol 96%	5 menit	-
5.		10 menit	3
6.		15 menit	5
7.	H_2O_2 1%	5 menit	4
8.		10 menit	5
9.		15 menit	-
10.	$NBSO_3$	5 menit	-
11.		10 menit	5
12.		15 menit	6
13.	Kombinasi H_2O_2 1% + $NBSO_3$	5 menit	-
14.		10 menit	-
15.		15 menit	5

Berdasarkan Tabel 2. menunjukkan bahwa sterilan yang efektif untuk menghambat waktu kontaminasi yaitu H_2O_2 1% dengan lama perendaman 10 menit, $NBSO_3$ 10 dan 15 menit, dan perlakuan kombinasi dari H_2O_2 dan $NBSO_3$ dengan perendaman 15 menit hal ini juga menunjukkan bahwa waktu perendaman juga berpengaruh terhadap efektivitas sterilan. Secara visual perlakuan kombinasi $H_2O_2+NBSO_3$ menunjukkan hasil yang cukup baik dalam meningkatkan presentase eksplan hidup dan menunda kontaminasi, terutama pada waktu perendaman pendek. Namun, efektivitasnya belum cukup kuat secara statistik. Durasi munculnya kontaminasi yang lebih lama menunjukkan sterilan bekerja optimal menekan pertumbuhan mikroba. Perlakuan H_2O_2 dan $NBSO_3$ secara nyata mampu memperpanjang waktu bebas kontaminasi, dibandingkan kontrol. Efektivitas ini mengindikasikan bahwa kedua bahan memiliki kemampuan disinfeksi yang lebih tinggi dari pada alkohol 96% dan akuades steril. H_2O_2 bekerja dengan menghasilkan radikal hidroksil (OH) yang dapat merusak dinding dan DNA mikroorganisme, sedangkan ozon dalam $NBSO_3$ bersifat sebagai agen sterilan kuat dengan kemampuan menembus biofilm dan mengoksidasi komponen sel patogen.



Gambar 1. Rata-rata waktu kontaminasi

Berdasarkan Gambar 1. Pada perendaman selama 5 menit, perlakuan $NBSO_3$ dan Kombinasi menunjukkan rata-rata hari kontaminasi yang lebih tinggi dibandingkan perlakuan lain, yang mengindikasikan bahwa kontaminasi muncul lebih lambat. Namun, hasil uji *post hoc* menunjukkan bahwa perbedaan tersebut tidak signifikan secara statistik.

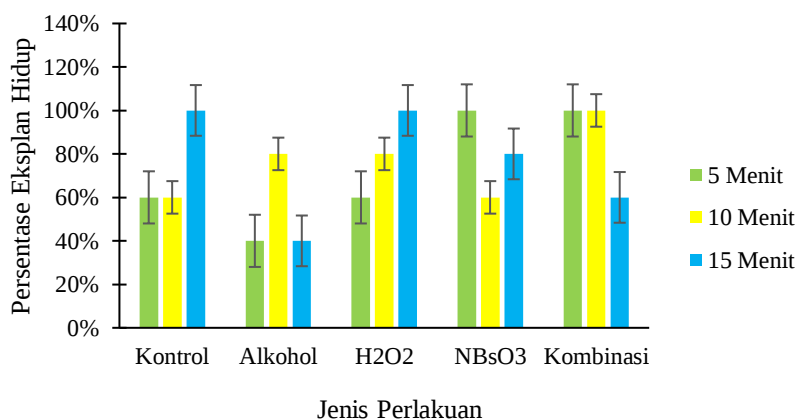
Hasil analisis deskriptif menunjukkan bahwa perlakuan kombinasi H_2O_2 dan $NBSO_3$ selama 15 menit memberikan rata-rata persentase eksplan hidup tertinggi (100%), sedangkan perlakuan kontrol (akuades steril) selama 5 dan 10 menit hanya mencapai 60% (Tabel 1). Hasil ini menunjukkan bahwa kombinasi oksidator kuat dan sifat antimikroba dari ozon memberikan perlindungan maksimal terhadap eksplan (Zhang dkk, 2017; Lee dkk, 2020).

Tabel 2. Rata-rata persentase eksplan hidup pada *Cattleya* sp.

No	Perlakuan	Waktu perendaman (menit)	Rata-rata eksplan hidup (%)
1.		5	60
2.		10	60

3.	kontrol (Akuades steril)	15	100
4.	Alkohol 96%	5	40
5.		10	80
6.		15	40
7.	H ₂ O ₂ 1%	5	60
8.		10	80
9.		15	100
10.	NBsO ₃	5	100
11.		10	60
12.		15	80
13.	Kombinasi H ₂ O ₂ + NBsO ₃	5	100
14.		10	100
15.		15	60

Gambar 2 menunjukkan bahwa pada lama perendaman 5 menit, perlakuan NBsO₃ dan Kombinasi menunjukkan persentase eksplan hidup tertinggi (mendekati 90–95%), sedangkan perlakuan Alkohol menunjukkan persentase terendah (sekitar 40%). Namun, hasil uji post hoc menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antar semua perlakuan (ditandai dengan huruf "a" yang sama), sehingga keunggulan visual tersebut belum dapat dikatakan bermakna secara statistik. Pada waktu perendaman 10 menit, perlakuan kombinasi tetap menunjukkan hasil tertinggi, sementara perlakuan lain berada pada kisaran sedang. Namun, kembali tidak ditemukan perbedaan signifikan antar perlakuan.



Gambar 2. Persentase eksplan hidup



Gambar 3. Contoh Eksplan steril *Cattleya* dengan nilai persentase hidup 100% perlakuan NBsO₃ dengan perendaman 5 menit(a), perlakuan H₂O₂ perendaman 15 menit(b).

Jenis Kerusakan Jaringan eksplan

1. Kontaminasi jamur

Jenis kontaminasi yang ditemukan pada penelitian ini adalah kontaminasi jamur yang ditandai dengan tumbuhnya hifa berwarna putih, cokelat dan kehitaman seperti kapas pada eksplan yang kemudian menjalar pada media yang menyebabkan media menjadi keruh. Kontaminasi jamur pada kultur jaringan dapat berasal dari berbagai sumber, faktor utamanya adalah eksplan itu sendiri, terutama karena permukaan jaringan tanaman sering kali mengandung spora jamur yang sulit dihilangkan sepenuhnya saat proses sterilisasi. Kontaminasi ini mulai muncul pada hari ke 3 hingga ke 6 setelah inokulasi dengan tingkat keparahan yang berbeda tergantung pada jenis perlakuan dan waktu perendaman. Pada Tabel 3. dapat dilihat bahwa jumlah kontaminasi paling tinggi ada pada angka 2 dari total 5 ulangan masing-masing perlakuan, pada perlakuan kontrol jumlah kontaminasi ada 2 dengan waktu perendaman 5 menit artinya semakin lama waktu perendaman semakin menekan munculnya kontaminasi pada eksplan *Cattleya*, begitu juga dengan perlakuan alkohol 96%, H₂O₂ 1%, NBsO₃, juga menunjukkan hasil yang hampir sama dengan perlakuan kontrol, artinya semakin lama perendaman eksplan juga semakin menekan pertumbuhan kontaminasi pada eksplan dan media.

Perlakuan kombinasi H₂O₂ + NBsO₃ dan NBsO₃ tunggal dengan perendaman 5 dan 10 menit menunjukkan hasil yang baik dengan total 0 kontaminasi dari 5 ulangan tanpa adanya kontaminasi jamur maupun gejala kerusakan jaringan. Namun sebaliknya pada perlakuan alkohol 96% menunjukkan tingkat kontaminasi yang paling tinggi dengan total 5 kontaminasi pada 3 perendaman. Hal ini menunjukkan efektivitas NBsO₃ dan H₂O₂ sebagai agen sterilan yang cukup mampu menekan pertumbuhan mikroorganisme patogen serta tidak menyebabkan kerusakan jaringan pada eksplan.

B. Klorosis pada perlakuan alkohol 96%

Selain kontaminasi jamur, bentuk kerusakan jaringan lain yang diamati pada penelitian ini adalah klorosis, yaitu perubahan warna jaringan dari hijau menjadi putih pucat akibat penurunan kandungan klorofil. Gejala ini hanya ditemukan pada perlakuan alkohol 96%, sehingga diduga berkaitan dengan sifat toksik dan dehidratif dari alkohol pada konsentrasi tinggi dan waktu perendaman yang terlalu lama. Klorosis terjadi ketika kandungan klorofil dalam jaringan tanaman menurun, sehingga sel kehilangan pigmen hijau yang penting untuk proses fotosintesis (Taiz & Zeiger, 2019). Pada eksplan yang terpapar alkohol 96%, etanol dapat merusak membran sel, mengganggu integritas sitoplasma, dan menarik air dari jaringan. Kondisi ini menyebabkan gangguan metabolisme serta penurunan sintesis klorofil, sehingga eksplan tampak pucat atau putih (George 2020). Penggunaan alkohol pada konsentrasi tinggi dapat menimbulkan efek toksik pada jaringan *in vitro*, termasuk

kerusakan pigmen dan penurunan viabilitas tanaman. Eksplan yang mengalami klorosis parah hingga seluruh bagian, termasuk akar umumnya tidak dapat melanjutkan pertumbuhan normal. Hilangnya pigmen hijau mengakibatkan eksplan kehilangan kemampuan fotosintesis sehingga

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian mengenai pengaruh penggunaan H_2O_2 dan *Nanobubbles* ozon ($NBsO_3$) dengan berbagai lama perendaman terhadap sterilitas planlet anggrek *Cattleya* sp. secara *in vitro*, dapat disimpulkan bahwa: Perlakuan nanobubble ozon ($NBsO_3$) selama 10 menit (A3B2) merupakan kombinasi terbaik, dengan hasil sterilitas eksplan tertinggi, waktu muncul kontaminasi yang paling lama, serta persentase hidup eksplan tertinggi dibandingkan perlakuan lain, jadi dapat disimpulkan bahwa bahan sterilitas yang paling efektif yaitu $NBsO_3$ dengan perendaman 10 menit. Jenis kerusakan jaringan yang ditemukan pada penelitian ini yaitu kontaminasi jamur yang ditandai dengan hifa berwarna putih dan bintik-bintik hitam yang muncul pada eksplan, dan klorosis yang ditandai dengan berubahnya warna hijau pada eksplan menjadi warna putih pucat.

Daftar Pustaka

- Adisarwanto, T. Irawati, Handoyo, F. Novianto, D.P. Santoso, D.S. Mintarto, T. Rahayu, N.Watiningsih, W. Sutiwi, L. Sipayung, N. Erawati, P.P. Hernita, A. Y. Wibowo, O. Yuniardi, & E. Suwarno, 2019. Anggrek spesies Indonesia. Kementrian Pertanian Republik Indonesia, Jakarta.
- Andalasari T. D., Y. Yafi sham, & Nuraini. 2020. Respon pertumbuhan anggrek *Dendrobium* terhadap jenis media tanam dan pupuk daun. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*, 14(1): 76-82.
- Puspa A., T. Rahayu., G.E. Jayanti. 2024. Analysis of Nanobubbles (NBs) Technology and Foliar Fertilization on the Growth of *Phalaenopsis* sp. Orchid. *Berkala Sainstek*. 12(2): 37-43.
- Annisa, dan Syadza. 2022. Gambaran penggunaan disinfektan pada rumah tangga selama pandemic covid-19 di wilayah Jabodetabek tahun 2021. Program Studi Kesehatan Masyarakat, Fakultas Ilmu Kesehatan. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Jakarta.
- Arditti, J. 1992. *Fundamentals of Orchid Biology*. John Wiley & Sons.
- Barker, W.G. 2021. A system of maximum multiplication of the banana plant. *Trop. Agric*, 36(4), 275-278.
- Campbell, N. A., J. B. Reece, & L. G. Mitchell. 2021. Biologi. Jilid 2 (Edisi 5). Jakarta: Erlangga.
- Cassells, A. C. 2012. Contamination and its impact in plant tissue culture. *Acta Horticulturae*, 958, 43–50.
- Dewanti, P. 2018. Teknik Kultur Jaringan Tanaman: Prinsip Umum dan Metode Aplikasi di Bidang Bioteknologi Pertanian. Jember. UPT Percetakan dan Penerbitan Universitas Jember.
- Fujii, T., S. Kim, & T. Okubo. 2021. Antimicrobial properties of ozone nanobubbles and their application in plant tissue culture. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 147(3), 501–512.
- Gaba, V. B. 2019. Plant Growth Regulators in Plant Tissue Culture and Development. In: Trigiano and Gray. *Plant Development and Biotechnology*. CRC Press. London.

- Gao, Y. 2019. *The use of hydrogen peroxide in sterilization of explants in tissue culture*. Journal of Agricultural Science.
- Gardner, F.P., R.B. Pearce, & R.L. Mitchell. 2018. Fisiologi tanaman budidaya. (Terj.: H. Susilo), Universitas Indonesia Press.
- George, E. F., M. A. Hall, & G. J. De Klerk, 2008. *Plant Propagation by Tissue Culture* (3rd ed.). Springer.
- Hossain, M. M., M. Sharma, J. A.Teixeira da Silva, & P. Pathak. 2013. Seed germination and tissue culture of selected Indian orchids: A review. *Botanical Review*, 79(4), 497–513.
- Irianti, T., T. Kuswandi, S. Nuranto, Purwanto. 2021. Antioksidan dan Kesehatan. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Irwanto. 2019. Biologi. (Terj.: Wasmen Manalu). Jakarta: Erlangga. Iswanto, H. 2020. Petunjuk perawatan anggrek. Agro Media Pustaka, Jakarta.
- Kastono, D., H. Sawitri, & Siswandono. 2021. Pengaruh nomor ruas stek dan dosis pupuk urea terhadap pertumbuhan dan hasil kumis kucing. *Jurnal Ilmu Pertanian*, 12(1): 56-64.
- Kristina, N. N., & F. S. Syahid. 2019. Pengaruh air kelapa terhadap multi-plikasi tunas in vitro, produksi rimpang, dan kandungan xanthorrhizol temulawak di lapangan. *Jurnal Littri*, 18(3): 125-134.
- Lee, K. M. 2020. *Effectiveness of nanobubbles ozonated water in microbial sterilization*. International Journal of Nanotechnology.
- Li, Y. 2016. *Reactive oxygen species and their roles in plant microbe interactions*. Plant Science Journal.
- Lyndon, R. F. 1998. The shoot apical meristem: Its growth and development. Cambridge University Press.
- Mahna, S. K. 2020. *Surface sterilization strategies for explants*. Plant Cell Culture Review.
- Matsuura, R.; Kometani, N.; Horibe, H.; Shirafuji, T.2022. Peningkatan dekomposisi polutan beracun dengan pelepasan berdenyut bawah air dengan adanya hidrogen peroksida dan gelembung mikro. *Jpn J. Appl. Fisika*.
- Nurfadilah, Siti. 2013. Pertumbuhan dan Perkembangan Bibit *Rhynchostylis retusa* L. (Bl.) (Orchidaceae) Pada Konsentrasi Fosfor (P) Berbeda. Pasuruan: UPT BKT Kebun Raya Purwodadi-LIPI. Buletin Kebun Raya, 16(1):50-61.
- Pratiwi, I., Nurhayati, E., & D. Ramdani. 2019. Pertumbuhan anggrek *Cattleya* pada berbagai media tanam. *Jurnal Floratek*, 14(1): 25–31.
- Rahma Nita, Suci. 2015. Kajian Fenologi Perbungaan Anggrek Merpati (*Dendrobium crumenatum*) di Limau Manis Padang, Sumatra Barat. Padang: Universitas Andalas. *Jurnal Biologi Universitas Andalas*, 4(3): 188-192.
- Rahmawati, F. 2022. *Pemanfaatan ozon dalam bentuk nanobubbles untuk sterilisasi mikroba pada kultur jaringan tanaman*. *Jurnal Biologi Tropika*, 6(2): 47-59.
- Takeuchi, N.; Ishibashi, N.; Sugiyama, T.; Kim, 2018. Pemanfaatan ozon yang efektif dalam proses oksidasi lanjutan berbasis plasma. *Sumber Plasma Sci. Technol.* , 27, 055013.
- Wang, Y., Sun, X., & Y. Zhang. 2020. Application of ozone micro-nanobubbles in sterilization and food preservation. *Ultrasonics Sonochemistry*, 64, 104980.

- Yusnita. 2015. Kultur Jaringan Tanaman Sebagai Teknik Penting Bioteknologi untuk Menunjang Pembangunan Pertanian. Universitas Lampung, Lampung.
- Zeng, S., Yang, Y., Zhang, N. Ye, J., Huang, Y. Xiao, M. 2021. Peningkatan degradasi ozon dari air limbah p-nitrofenol dengan reaktor gelembung mikro yang berputar. *Chem. Ind. Eng. Prog.*, 2(4): 4091–4099.