



## Optimasi Antioksidan sebagai Penghambat *Browning* pada Tahap Inisiasi Kultur *In Vitro* Bambu Petung (*Dendrocalamus asper*)

### Optimization of Antioxidant as Browning Inhibitor in The Initiation Stage of Bamboo Petung (*Dendrocalamus asper*) in Vitro Culture

Astrid Helena<sup>1</sup>, Ratih Restiani<sup>1\*</sup>, Dwi Adityarini<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Biologi, Fakultas Bioteknologi, Universitas Kristen Duta Wacana Yogyakarta

Jl. Dr. Wahidin Sudirohusodo No. 5-25 Gondokusuman, Kota Yogyakarta, D.I.Yogyakarta, Indonesia

Email : [ratih.restiani@staff.ukdw.ac.id](mailto:ratih.restiani@staff.ukdw.ac.id)

\*Penulis Korespondensi

#### Abstract

Browning occurs due to the reaction of phenolic compounds with the Polyphenol Oxidase (PPO) enzyme, which produces a brown color on the explant tissue wound. If it is left unchecked, it could finally lead to explant death. This study aims to determine the type and optimum antioxidant compounds to inhibit Petung bamboo's browning by adding tomato extract, ascorbic acid, and combining both with 0.5 g/L activated charcoal on in vitro culture media. The explant for initiation was young stems of Petung bamboo (*Dendrocalamus asper*). The study was conducted for ten weeks with the parameters measured, including the browning emergence time, browning percentage, growth emergence time, and growth percentage. The addition of antioxidant compounds in the in vitro culture media suppressed browning. The best treatment for antioxidant compounds was 150 mg/L tomato extract and 0.5 g/L activated charcoal with the lowest browning percentage of 25%, which appeared at 9 DAP.

**Keywords:** activated charcoal, antioxidant, browning, *Dendrocalamus asper*, tomato extract

#### Abstrak

*Browning* terjadi akibat adanya reaksi senyawa fenolik dengan enzim Polifenol Oksidase (PPO) yang menghasilkan warna coklat pada bagian perlukaan eksplan, apabila dibiarkan akan menyebabkan kematian eksplan. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan jenis dan konsentrasi antioksidan yang optimal dalam menghambat *browning* pada eksplan bambu petung melalui penambahan senyawa antioksidan berupa ekstrak tomat, asam askorbat, dan kombinasinya disertai arang aktif 0,5 g/L pada media kultur *in vitro*. Sumber eksplan untuk inisiasi adalah batang muda bambu petung (*Dendrocalamus asper*). Penelitian dilakukan selama 10 minggu dengan parameter yang diukur meliputi: waktu muncul *browning*, persentase *browning*, waktu muncul pertumbuhan, dan persentase pertumbuhan. Penambahan senyawa antioksidan dalam media kultur *in vitro* terbukti mampu menghambat *browning*. Perlakuan yang optimal dalam menghambat *browning* eksplan bambu petung adalah ekstrak tomat 150 mg/L dan arang aktif 0,5 g/L dengan persentase *browning* terendah 25% yang muncul pada 9 HST.

**Kata kunci:** antioksidan, arang aktif, *Dendrocalamus asper*, ekstrak tomat, pencoklatan

Diterima: 23 Juli 2021, disetujui: 8 Maret 2022

## PENDAHULUAN

Tanaman bambu merupakan salah satu kelompok tanaman hutan bukan kayu yang menjadi komoditas unggulan di bidang kehutanan dengan prospek agrobisnis yang menjanjikan. Salah satu spesies bambu yang banyak dimanfaatkan adalah *Dendrocalamus asper* Back. atau dikenal dengan bambu petung. Menurut Sukawi (2010), bambu petung sangat baik difungsikan sebagai bahan bangunan dan konstruksi di daerah rawan gempa. Fungsinya yang beraneka ragam menyebabkan peningkatan nilai ekonomi sumber daya bambu petung. Hal ini mengindikasikan bahwa sumber daya bambu secara langsung berperan bagi kehidupan masyarakat sekitar (Iqbal et al., 2014). Kebutuhan bambu petung yang meningkat tidak diimbangi dengan keberadaan bambu petung di habitatnya. Hal ini karena eksploitasi bambu secara berlebihan tanpa diimbangi dengan budidaya yang berkelanjutan. Salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk mengatasi masalah ini adalah perbanyak melalui kultur *in vitro*. Budidaya bambu melalui kultur *in vitro* berpeluang besar untuk mempertahankan variabilitas genetik bambu. Selain itu, bibit tanaman dapat diperbanyak dalam skala besar dengan waktu singkat, tidak bergantung musim, biaya terjangkau untuk skala besar, menghasilkan tanaman yang bebas virus, dan menjadi alternatif dengan cara membuat lingkungan sesuai dengan habitat asli dari tanaman kultur (Abbas, 2011).

Menurut Garcia-Ramirez dkk (2014), tahapan kultur *in vitro* pada bambu sama seperti kultur *in vitro* pada umumnya, salah satunya yaitu tahap inisiasi. Namun permasalahan spesifik yang sering terjadi pada tahap ini yaitu pencoklatan (*browning*). *Browning* terjadi karena interaksi enzim polyphenol oxidase (PPO) dengan senyawa fenolik yang terakumulasi ketika terjadi perlukaan pada eksplan (Veltman et al., 2003). Oksidasi senyawa fenol oleh PPO tersebut dapat mengakibatkan perubahan warna eksplan menjadi coklat kehitaman dan jika tidak diatasi dapat menyebabkan eksplan tidak dapat beregenerasi bahkan menyebabkan kematian. Upaya yang dapat dilakukan untuk mengatasi *browning* adalah dengan penambahan antioksidan dan adsorben seperti arang aktif dan Polivinil Piroolidon (PVP) (Suwal et al., 2020).

Berbagai jenis antioksidan dan adsorben yang telah digunakan dalam mengatasi *browning* pada kultur *in vitro* diantaranya adalah asam askorbat, ekstrak tomat dan arang aktif. Asam askorbat dapat mengurangi produksi o-quinon (indikator terjadinya pencoklatan). O-quinon merupakan hasil dari oksidasi polifenol yang dikatalisis oleh PPO. Potensi asam askorbat sebagai anti *browning* bermacam-macam tergantung fungsi dan konsentrasi (Javdani et al., 2013). Selain itu, sumber antioksidan lain dari sumber alami yang dapat digunakan adalah ekstrak tomat (*Lycopersium esculentum*). Ekstrak tomat mengandung senyawa kompleks, seperti antioksidan berupa likopen (karotenoid), flavonoid, asam fenolik, asam askorbat dan vitamin A, C dan E serta sumber serat dan protein yang baik. Pemanfaatan ekstrak tomat dalam kultur *in vitro* yaitu sebagai senyawa organik kompleks yang memiliki efek analog dengan zat pengatur tumbuh serta anti *browning* alami. Menurut Barroroh dan Aiman (2005), varian konsentrasi ekstrak tomat yang ditambahkan dapat memberikan pengaruh pertumbuhan yang lebih baik serta kandungan antioksidan pada vitamin C ekstrak tomat mampu menekan adanya *browning*. Selain penambahan antioksidan, adsorben juga berfungsi penting dalam menyerap senyawa fenol yang dihasilkan oleh eksplan saat proses perlukaan. Arang aktif mampu menurunkan bahkan menghambat akumulasi eksudat sel (Safwat et al., 2015).

Beberapa penelitian telah mengoptimasi jenis dan konsentrasi antioksidan dan adsorben dalam kultur *in vitro*. Tarampak et al., (2019) melaporkan vitamin C (asam askorbat) sebesar 1 mg/L dan arang aktif 4 g/L merupakan konsentrasi yang optimal dengan tingkat keberhasilan 100% dalam menghambat *browning* pada kultur *in vitro* eksplan ulin berdasarkan observasi yang dilakukan selama 7 hari. Selain itu, Dwiyani et al. (2012) melaporkan bahwa senyawa antioksidan dari ekstrak tomat pada konsentrasi 150 mg/L dapat menghambat *browning* sebesar 57,5% pada kultur *in vitro* anggrek. Admojo dan Indrianto (2016) juga melaporkan bahwa penambahan asam askorbat 100 mg/L dan asam sitrat 50 mg/L pada media dapat menghambat terjadinya *browning* pada kultur midrib daun klon karet (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg). Meskipun penelitian mengenai optimasi jenis dan

konsentrasi antioksidan dalam menghambat *browning* pada berbagai jenis tumbuhan telah banyak diteliti, namun penelitian mengenai penghambatan *browning* khususnya pada *Dendrocalamus asper* belum banyak dilakukan. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk menentukan jenis dan konsentrasi antioksidan yang optimal dalam menghambat *browning* (pencoklatan) pada tahap inisiasi kultur *in vitro* bambu petung.

## Metode Penelitian

### Tempat dan waktu penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Bioteknologi Dasar Lt. 2 Gedung Iama, Universitas Kristen Duta Wacana (UKDW) Yogyakarta Jl. Dr. Wachidin Sudirohusodo No. 5-25 Gondokusuman, Kota Yogyakarta, DIY. Penelitian ini dilakukan pada bulan Februari hingga Mei 2021.

### Alat dan Bahan

Alat yang digunakan yaitu, autoklaf (Hirayama Manufacturing Corporation Tokyo-Japan), *jar* / botol kultur, *Laminar Air Flow* (Heles), pinset, *scalpel*, *aluminium foil*, timbangan analitik (AND electronic balance), gelas ukur (Pyrex), oven (Memmert), pH meter (Hanna instruments), *Erlenmeyer* (Pyrex), beker (Pyrex), kompor (Maspion) kertas label, kertas saring, perkamen, kapas, gunting, keranjang, *magnetic stirrer*, *stitter* (Labinco), *tissue*, masker, dan kamera digital.

Bahan utama yang digunakan adalah eksplan bagian batang yang terdapat ruas

diambil dari *mother plant*. Batang beruas yang telah diambil berwarna hijau segar dan sehat. Bambu petung diperoleh dari PT. Bambu Nusa Verde (BNV).

## Metode

### 1. Pembuatan media MS

Pembuatan media *Murashige and Skoog* (MS) dilakukan dengan membuat larutan stok terlebih dahulu. Untuk pembuatan 1L media, larutan tersebut dibagi dengan takaran sebagai berikut: larutan stok makronutrien 10 mL, larutan stok mikronutrien 1 mL, larutan stok Iron 5 mL, larutan vitamin 4 mL, myoinositol 0,1 mg, dan sukrosa 3 g. Kemudian masing-masing larutan stok dimasukkan ke *Erlenmeyer* yang sudah berisi akuades sampai 100 mL, kemudian ditambahkan hormon pertumbuhan (kinetin) sesuai konsentrasi yang ditentukan. Dilanjutkan larutan stok dibagi ke beberapa *Erlenmeyer* kecil sesuai dengan perlakuan. Kemudian ditambahkan zat anti *browning* sesuai dengan perlakuan, dan akuades sesuai kebutuhan selanjutnya dilakukan pengukuran pH media yaitu sekitar 5,7 – 5,8. Selanjutnya bahan yang sudah tercampur dipanaskan hingga mendidih kemudian ditambahkan agar sambil diaduk sampai homogen. Setelah homogen, larutan dibagi ke dalam botol kultur kira-kira sebanyak 20 mL setiap botol kultur. Kemudian botol ditutup rapat dengan *aluminium foil* dan diberi label sesuai dengan perlakuan, kemudian dimasukkan ke dalam autoklaf dan disterilkan selama  $\pm 2$  jam dengan suhu 121°C pada tekanan 1 atm.

**Tabel 1.** Formula Senyawa Antioksidan pada Media MS

Senyawa Antioksidan	Arang Aktif	Kode
Ekstrak Tomat 100 mg/L	0,5 g/L	ET 100
Ekstrak Tomat 150 mg/L		ET 150
Ekstrak Tomat 200 mg/L		ET 200
Asam Askorbat 100 mg/L		AA 100
Asam Askorbat 150 mg/L		AA 150
Asam Askorbat 200 mg/L		AA 200
Ekstrak Tomat 100 mg/L + Asam Askorbat 100 mg/L		EA 100
Ekstrak Tomat 150 mg/L + Asam Askorbat 150 mg/L		EA 150
Ekstrak Tomat 200 mg/L + Asam Askorbat 200 mg/L		EA 200
Kontrol		

## 2. Pra-sterilisasi dan sterilisasi eksplan

Sumber eksplan yang telah diambil kemudian disiapkan di Laboratorium. Pra-sterilisasi dilakukan dengan pencucian eksplan dalam cairan antiseptik dan air mengalir. Setelah bersih, eksplan diletakkan di dalam *erlenmeyer* steril kemudian dilakukan sterilisasi di dalam *Laminar Air Flow*. Eksplan direndam dalam larutan fungsisida 5 gr/L selama 1 jam. Lalu dibilas 3 kali dengan akuades steril. Setelah itu eksplan direndam larutan Clorox selama 10 menit, dibilas dengan akuades steril 3 kali. Sebelum ditanam, batang beruas dipotong bagian atas dan pangkalnya sehingga tingginya 2 cm (1 cm di atas ruas dan 1 cm di bawah ruas).

## 3. Inokulasi eksplan

Setelah tahap sterilisasi eksplan, LAF dibersihkan dengan alkohol 70% dan tisu. Lalu diambil kertas steril, *scalpel*, serta pinset. Eksplan yang sudah bersih akan dipotong bagian ujung atas agar mendekati ruas bambu guna memudahkan penumbuhan tunas dan bagian ujung bawah meruncing guna memudahkan penanaman pada media. Eksplan ditanam ke dalam botol kultur berisi media, pada setiap botol ditanam 1 eksplan dengan menggunakan pinset. Kemudian botol ditutup dengan menggunakan *aluminium foil* dan dibalut dengan plastik *wrap*. Setiap perlakuan tersebut dilakukan sebanyak 3 kali ulangan. Setelah inokulasi eksplan dalam media, maka eksplan diamati sejak hari ke- 0 hingga hari ke-14 setelah tanam (HST).

## 4. Rancangan percobaan dan pengamatan

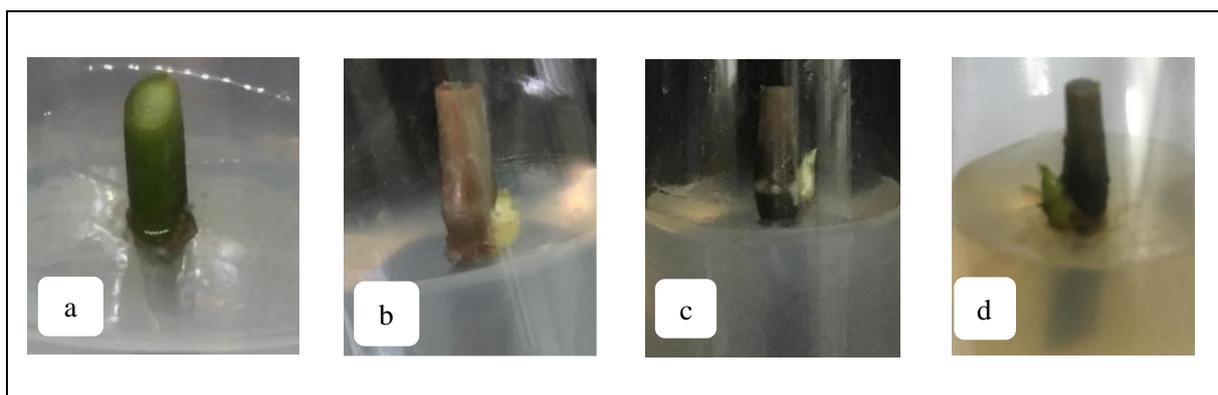
Percobaan dilakukan menggunakan Rancangan Faktorial dengan 3 ulangan, tiap botol ditanam sebanyak 1 eksplan. Pengamatan

dilakukan selama 14 HST terhadap parameter waktu muncul *browning*, tingkat *browning* (%), waktu muncul pertumbuhan, dan tingkat pertumbuhan (%), perlakuan subkultur berulang diamati setelah subkultur pertama atau 7 HST. Data tingkat *browning* (%) dianalisis dengan analisis Rancangan Faktorial dan uji lanjut dengan *Duncan* untuk data yang berbeda nyata pada taraf 5% menggunakan *software* SPSS.

## Hasil dan Pembahasan

*Browning* (pencoklatan) merupakan masalah yang sering terjadi dalam tahap inisiasi kultur *in vitro* khususnya pada tanaman berkayu atau eksplan yang diisolasi dari tanaman dewasa (Hutami, 2008). Pencoklatan terjadi sebagai akibat dari reaksi oksidasi senyawa fenol yang terakumulasi saat proses pemotongan eksplan oleh enzim PPO. Pencoklatan pada eksplan dan media yang tidak diatasi dapat menyebabkan terhambatnya pertumbuhan bahkan kematian jaringan (nekrosis) (Mudoj *et al.*, 2013). Pada penelitian ini, eksplan bambu petung yang ditanam dalam medium kultur MS yang telah ditambahkan antioksidan asam askorbat, ekstrak tomat, kombinasi keduanya serta arang aktif menunjukkan adanya *browning*.

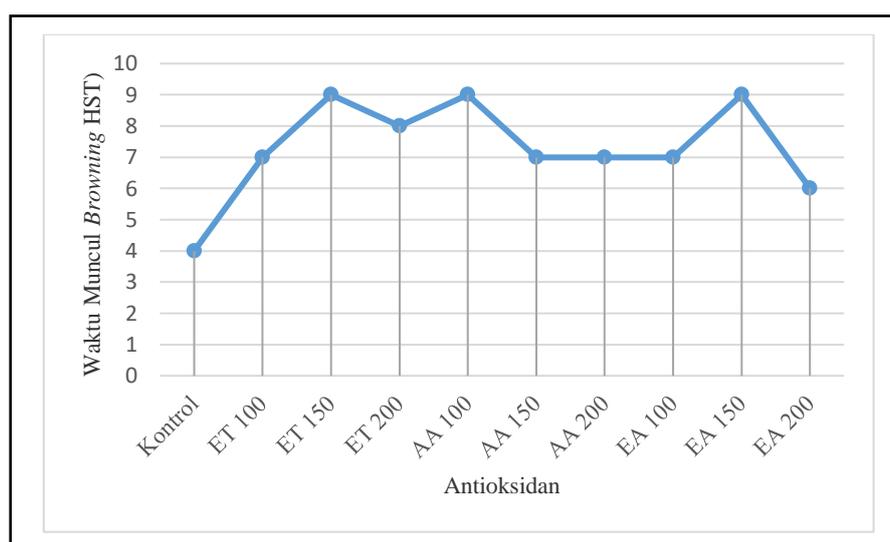
*Browning* pada eksplan ditandai dengan adanya perubahan warna pada eksplan dan media menjadi berwarna coklat. Munculnya *browning* diawali pada bagian eksplan yang dipotong dan pada hari ke-5 setelah tanam eksplan menunjukkan perubahan warna dari hijau (hari ke-0) menjadi coklat selanjutnya berubah menjadi kehitaman pada hari ke- 7 dan 14 HST serta media kultur menunjukkan perubahan warna menjadi coklat (Gambar 1).



**Gambar 1.** Proses munculnya *browning* pada eksplan bambu petung (*Dendrocalamus asper*). Keterangan: (a), hari ke-0, (b) hari ke-5, (c) hari ke-7, (d) hari ke-14.

Berdasarkan data yang dihasilkan, seluruh perlakuan penambahan senyawa antioksidan menunjukkan perbedaan nyata dengan kontrol terhadap parameter *browning*. Gambar 2 menunjukkan perbedaan waktu awal munculnya *browning* pada seluruh perlakuan. Waktu awal muncul *browning* paling cepat terjadi pada media kontrol (tanpa antioksidan) yaitu pada 4 HST. Waktu awal muncul

*browning* paling lama dihasilkan pada perlakuan ekstrak tomat 150 mg/L (ET 150), asam askorbat 100 mg/L (AA 100), dan ekstrak tomat + asam askorbat 150 mg/L (EA 150) yaitu pada 9 HST. Nilai ini tidak berbeda dengan perlakuan antioksidan yang lainnya yaitu rata-rata pada 7 sampai 8 HST. Hal ini menunjukkan bahwa kandungan senyawa antioksidan pada media pertumbuhan dapat memperlambat terjadinya *browning* pada eksplan.



**Gambar 2.** Waktu Muncul *Browning* (HST) Pada Berbagai Konsentrasi Antioksidan Eksplan Bambu Petung (*Dendrocalamus asper*) secara *In Vitro*. ET 100: Ekstrak Tomat 100 mg/L, ET 150: Ekstrak Tomat 150 mg/L, ET 200: Ekstrak Tomat 200 mg/L, AA 100: Asam Askorbat 100 mg/L, AA 150: Asam Askorbat 150 mg/L, AA 200: Asam Askorbat 200 mg/L, EA 100: Ekstrak tomat 100 mg/L + Asam askorbat 100 mg/L, EA 150: Ekstrak tomat 150 mg/L + Asam askorbat 150 mg/L, dan EA 200: Ekstrak tomat 200 mg/L + Asam askorbat 200 mg/L.

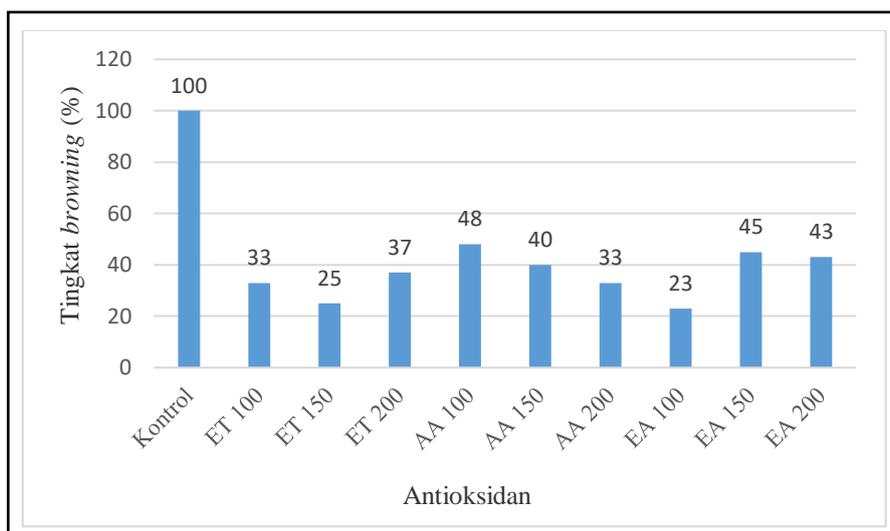
Hasil pengamatan parameter tingkat *browning* (%) pada Gambar 3 menunjukkan bahwa penambahan ekstrak tomat + asam askorbat 100 mg/L (EA 100) dan ekstrak tomat 150 mg/L (ET 150) mampu menghambat terjadinya *browning* secara optimal. Perlakuan kombinasi ekstrak tomat dan asam askorbat 100 mg/L menghasilkan tingkat *browning* sebesar 23% dan ekstrak tomat 150 mg/L menghasilkan tingkat *browning* sebesar 25%. Tingkat *browning* tertinggi dihasilkan oleh kontrol yaitu mencapai 100%. Penambahan ekstrak tomat pada perlakuan ET 150 dan EA 100 menunjukkan hasil optimal dalam menghambat *browning* diduga karena ekstrak tomat yang merupakan senyawa organik kompleks mengandung antioksidan alami seperti likopen (pigmen karotenoid) dan vitamin C. Hasil yang

sama juga diperoleh oleh Dwiyani *et al.* (2012) yang melaporkan bahwa senyawa antioksidan dari ekstrak tomat pada konsentrasi 150 mg/L dapat menghambat *browning* sebesar 57,5% pada kultur *in vitro* anggrek.

Penambahan senyawa antioksidan selain dapat menghambat *browning* juga dapat membantu pertumbuhan eksplan. Media pertumbuhan untuk masing-masing eksplan bisa saja bervariasi. Dwiyani *et al.* (2012) membuktikan bahwa setiap eksplan mengalami respon pertumbuhan embrio anggrek dalam media dengan penambahan ekstrak tomat yang sangat spesifik. Hal ini diduga karena ekstrak tomat mengandung sitokinin dengan konsentrasi rendah. Widiastoety *et al.* (2012), melaporkan bahwa pemberian arang aktif dalam media dapat memicu adanya

pertumbuhan akar karena arang aktif mampu mengurangi intensitas cahaya yang masuk

dalam media sehingga dapat merangsang zat pertumbuhan endogen untuk bekerja.



**Gambar 3.** Tingkat Browning (%) Pada Berbagai Konsentrasi Antioksidan Eksplan Bambu Petung (*Dendrocalamus asper*) secara *In Vitro*. ET 100: Ekstrak Tomat 100 mg/L, ET 150: Ekstrak Tomat 150 mg/L, ET 200: Ekstrak Tomat 200 mg/L, AA 100: Asam Askorbat 100 mg/L, AA 150: Asam Askorbat 150 mg/L, AA 200: Asam Askorbat 200 mg/L, EA 100: Ekstrak tomat 100 mg/L + Asam askorbat 100 mg/L, EA 150: Ekstrak tomat 150 mg/L + Asam askorbat 150 mg/L, dan EA 200: Ekstrak tomat 200 mg/L + Asam askorbat 200 mg/L.

Selain parameter waktu muncul dan tingkat *browning* selama pengamatan 14 HST,

disajikan juga parameter pertumbuhan pada Tabel 2.

**Tabel 2.** Pengaruh Jenis dan Konsentrasi Antioksidan terhadap Parameter Browning dan Pertumbuhan Eksplan Bambu Petung (*Dendrocalamus asper*) secara *In Vitro* (14 HST)

Konsentrasi (mg/L)	Parameter				
	Browning		Pertumbuhan		
	HST	%	HST	%	Keterangan
Kontrol	4	100	6	100	tunas
ET 100	7	33	4	100	tunas
ET 150	9	25	5	100	tunas, akar
ET 200	8	37	4	100	tunas, akar
AA 100	9	48	5	100	tunas
AA 150	7	40	5	100	tunas
AA 200	7	33	4	100	tunas
EA 100	7	23	4	100	tunas, akar
EA 150	9	45	5	100	tunas
EA 200	6	43	4	100	tunas, akar

Berdasarkan hasil pada Tabel 2. menunjukkan perbedaan waktu awal munculnya pertumbuhan tunas pada seluruh perlakuan. Waktu awal muncul pertumbuhan paling cepat terjadi pada media ekstrak tomat 100 mg/L (ET 100), ekstrak tomat 200 mg/L (ET 200), asam askorbat 200 mg/L (AA 200), ekstrak tomat + asam askorbat 100 mg/L (EA 100), dan ekstrak tomat + asam askorbat 200

mg/L (EA 200) yaitu pada 4 HST. Waktu awal muncul pertumbuhan paling lama terjadi pada media kontrol yaitu pada 6 HST. Adanya perbedaan waktu kemunculan pertumbuhan ini menunjukkan bahwa penambahan senyawa antioksidan dalam media menyebabkan pertumbuhan tunas dapat diinduksi menjadi lebih cepat dibandingkan kontrol.

Dilihat dari tingkat pertumbuhannya, eksplan pada semua perlakuan mengalami pertumbuhan dikarenakan pemberian hormon pertumbuhan berupa kinetin dengan konsentrasi yaitu 2 mg/L pada semua media. Berdasarkan proses pertumbuhan tunas pada eksplan nodus bambu petung yang ditunjukkan pada Gambar 1b-d., eksplan yang mengalami pertumbuhan ditandai dengan adanya pembengkakan pada bagian munculnya tunas baru serta perubahan warna dari coklat menjadi hijau pada bagian tunasnya. Hal ini sesuai dengan Raniyati (2009), yang menjelaskan bahwa pertumbuhan eksplan dapat diindikasikan dari adanya warna eksplan yang berubah diikuti pembengkakan eksplan hingga munculnya tunas baru. Adanya respon perubahan warna eksplan dari yang gelap menjadi lebih terang, diduga sebagai tanggapan rangsangan cahaya yang diberikan dan adanya regenerasi sel yang disebabkan oleh antioksidan pada media

Menurut Astuti dan Andayani (2005), pembentukan tunas dapat dipacu oleh adanya fitohormon yang dikombinasikan dengan zat pengatur tumbuh eksogen. Hal ini disebabkan oleh adanya kandungan auksin endogen eksplan yang jumlahnya lebih kecil daripada sitokinin yang diberikan sehingga sebagian besar eksplan dapat membentuk tunas. Penambahan kinetin mampu merangsang pertumbuhan tunas aksilar. Menurut Purnamaningsih (2002), kinetin memiliki peran dalam terbentuknya tunas dan kalus. Peran fisiologis sitokinin adalah mendorong pembelahan sel, morfogenesis, pertunasan dan pembentukan kloroplas. ZPT tambahan dalam media akan berpengaruh terhadap pertumbuhan eksplan dengan menginduksi tunas secara *in vitro*. Uraian ini menunjukkan bahwa konsentrasi kinetin 2 mg/L telah memenuhi kebutuhan eksplan bambu petung untuk menumbuhkan tunas.

Pada beberapa perlakuan seperti ekstrak tomat 150 mg/L (ET 150), ekstrak tomat 200 mg/L (ET 200), kombinasi ekstrak tomat dan asam askorbat 100 mg/L (AA 100), dan kombinasi ekstrak tomat dan asam askorbat 200 mg/L (EA 200) mampu menumbuhkan tunas dan akar. Penambahan arang aktif pada media tumbuh juga mendukung pertumbuhan akar karena arang aktif mampu mengurangi intensitas cahaya yang masuk. Menurut Martin-Urdiroz et al (2004), intensitas cahaya sedikit (cenderung gelap) dapat merangsang zat tumbuh endogen untuk bekerja lebih efisien

dalam proses pertumbuhan akar, sedangkan kondisi terang berpengaruh untuk perbaikan kemampuan regenerasi plantlet. Pertumbuhan akar dan tunas juga bisa terjadi karena auksin yang ada dalam eksplan berinteraksi dengan sitokinin (kinetin) dalam media pada konsentrasi tertentu. Hal ini sesuai dengan teori dari Prakash et al. (2004) yaitu rasio dan interaksi antara auksin dan sitokinin pada media kultur dapat menentukan arah pembentukan akar dan tunas. Namun tidak semua media dengan penambahan arang aktif mampu menginduksi pembentukan akar, hal ini dikarenakan auksin dalam eksplan memiliki kadar yang berbeda sehingga bila dikombinasikan dengan kinetin diduga kinetin lebih optimal untuk memicu pertumbuhan tunas daripada akar.

Selain peran fitohormon, penambahan senyawa antioksidan juga berperan dalam pertumbuhan. Senyawa antioksidan yang mampu menghambat *browning* dapat mencegah nekrosis sehingga eksplan bisa tumbuh dan berkembang. Dan (2008) menyatakan bahwa vitamin C mampu menstimulasi organogenesis, embriogenesis somatik, dan pertumbuhan tunas dalam mikropropagasi pada beragam spesies tanaman. Berdasarkan hasil penelitian Dwiyani dkk (2012), menyatakan bahwa pada pertumbuhan dan perkembangan biji angrek, penambahan ekstrak tomat pada media *New Phalaenopsis* (NP) konsentrasi 150 mg/L memberikan respon paling optimal.

## Simpulan dan Saran

Penambahan ekstrak tomat, asam askorbat, dan arang aktif pada media pertumbuhan mampu menghambat tingkat *browning* sebesar  $\pm 52\%$  dibandingkan kontrol secara signifikan ( $\text{sig} < 0,005$ ) pada tahap inisiasi *Dendrocalamus asper*. Jenis perlakuan terbaik pada tahap inisiasi bambu petung adalah perlakuan tunggal dengan ekstrak tomat 150 mg/L dan arang aktif 0,5g/L dengan tingkat *browning* 25% yang muncul pada 9 HST.

Penelitian penggunaan senyawa antioksidan disarankan untuk dilanjutkan pada jenis bambu yang lain, dapat dilakukan studi lebih lanjut terkait pengukuran atau penentuan auksin endogen untuk mengetahui pengaruhnya terhadap pertumbuhan tunas dan akar serta korelasi dengan senyawa antioksidan.

## Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih diberikan kepada PT. Bambu Nusa Verde (BNV) dalam penyediaan *motherplant Dendrocalamus asper*.

## Daftar Pustaka

- Abbas, B. (2011). *Prinsip-Prinsip Teknik Kultur In Vitro*. Penerbit Alfabeta. Bandung.
- Admojo, L. & Indrianto, A. (2016). Pencegahan *browning* fase inisiasi kalus pada kultur midrib daun klon karet (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg). PB 330. *Jurnal Penelitian Karet* 34(1) : 25-34.
- Astuti, Y. T. M., & Andayani, N. (2005). Pengaruh pemberian bap dan naa terhadap pertumbuhan krisan (*Crysanthemum morifolium*, ram.) dalam kultur jaringan. *Jurnal Biota UAJY* 10(3): 31-35.
- Dan, Y. (2008). Biological functions of antioxidants in plant transformation. *In vitro Cell. Dev. Bio-Plant* 44: 149-161.
- Dwiyani, R., Purwantoro, A., Indrianto, A., & Semiarti, E. (2012). Konservasi anggrek alam indonesia vanda tricolor lindl. varietas suavis melalui kultur embrio secara in vitro. *Bumi Lestari Journal of Environment* 12(1): 93-98.
- Garcia-Ramirez, Y., Gonzales, M. G., Mendoza, E. Q., Seijo, M. F., Cardenas, M. L. O., Bermudez, L. J M., & Ribalta, O. H. (2014). Effect of BA treatments on morphology and physiology of proliferated shoots of *Bambusa vulgaris* Schrad. Ex Wendl in temporary immersion. *American Journal of Plant Science* 5: 205-211.
- Hutami, S. (2008). Ulasan : masalah pencoklatan pada kultur jaringan. *Jurnal AgroBiogen* 4(2): 83-88.
- Iqbal, M., Putri, E. I. K., & Bahruni. (2014). Nilai ekonomi total sumberdaya (*Bambuseae* sp.) di Kecamatan Sajira, Kabupaten Lebak, Banten. *Jurnal Penelitian Sosial dan Ekonomi Kehutanan* 11(2): 91-105.
- Javdani, Z., Mahmood, G., & Somaye, Z. (2013). A comparison of heat treatment and ascorbic acid on controlling enzymatic browning of fresh-cuts apple fruit. *Internasional Journal of Agricultur and Crop Sciences*. 5(3): 186-193.
- Martin-Urdiroz, N., Garrido, G. J., Martin, J & Barondiaran, X. (2004). Effect of light on the organogenic ability of garlic roots using a one-step in vitro system. *Plant Cell Rep* 22(10): 55-62.
- Mudoi, K. D., Saikia, S. P., Goswami, A., Gogoi, A., Bora, D., & Borthakur, M. (2013). Micropropagation of Important Bamboos: a Review. *African Journal of Biotechnology* 12(20): 2770-2785.
- Prakash, S., Hoque, M. I., & Brinks, T. (2004). *Culture media and containers*. In : *Low Cost Options for Tissue Culture Technology in Developing Countries*. Proceedings of Workshop of FAO-IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture. Vienna.
- Purnamaningsih, R. (2002). Regenerasi tanaman melalui embriogenesis somatik dan beberapa gen yang mengendalikannya. *Jurnal AgroBiogen* 5(2): 51-58.
- Raniyati, Y. (2009). Peranan iaa dan bap terhadap perkembangan nodul pisang (musa aab) raja nangka secara in vitro. *Jurnal Agronomi* 13(1): 51-57.
- Safwat, G., Abdul, R. F., & Sharbasy, S. E. (2015). *The effect of some antuioxidants on blackening and growth of in vitro of banana (Musa spp.,cv Grand Naine)*. *J. Genet. Cytol* 44: 47-59.
- Sukawi. (2010). Bambu sebagai alternatif bahan bangunan dan konstruksi di daerah rawan gempa. *Jurnal TERAS* 10(1); 1-10.
- Suwal, M. M., Lamichhane, J., & Gauchan, D. P. (2020). Regeneration Technique of Bamboo Species through Nodal Segments: A Review. *Nepal Journal of Biotechnology* 8(1): 54-68.
- Tarampak, T. C., Sulistiawati., & Nirmala, R. (2019). Metode mengatasi *browning* pada eksplan ulin (*eusideroxylon zwageri*) untuk inisiasi regenerasi secara in vitro. *Jurnal Agroekoteknologi Tropika Lembab* 1(2) : 106-117
- Veltman, R. H., Lenctheric, J., Van der Plas, L. H. W., & Peppelenbos, H. W. (2003). Interal browning in pear fruit (*Pyrus communis* L. ev Conference) maybea result of limited availability of energy and antioxidants. *Postharvest Boil. Technol* 28:295-302.
- Widiastoety, D., Santi, A., & Solvia, A. (2012). Pengaruh myoinositol dan arang aktif terhadap pertumbuhan planlet anggrek *dendrobium* dalam kultur in vitro. *J.Hort* 22(3):205-209.