

**Sterilisasi Optimal untuk Kultur Jaringan Bambu Kuning
(*Bambusa Vulgaris*) Secara *in Vitro***

**Miftahul Fikriyah Adudu, Novri Youla Kandowangko*), Devi Bunga Pagalla,
Jusna Ahmad, Indriati Husain, Lindawaty Isima**

Universitas Negeri Gorontalo
novrikandowangko@ung.ac.id

ABSTRACT

Yellow bamboo has great potential in various fields, but its conventional propagation has several obstacles. Tissue culture offers a solution to overcome these problems. The focus of this research is the use of appropriate sterilization for in vitro culture. Effective sterilization is a crucial first step in the success of tissue culture. In this study using sterilization in the form of using Nordox 56 WP, without using Nordox 56WP, using Antracol 5 gr solution, and using HgCl₂. The parameters observed were the appearance of contaminants in the form of fungi and bacteria and the time of death of the explants. The results showed that the use of HgCl₂ can inhibit contaminants and the time of explant death in yellow bamboo plants in vitro.

Keywords: *In Vitro, Sterilization, Tissue Culture, Yellow Bamboo*

ABSTRAK

Bambu kuning memiliki potensi besar dalam berbagai bidang, namun perbanyakannya konvensional memiliki beberapa kendala. Kultur jaringan menawarkan solusi untuk mengatasi masalah tersebut. Fokus penelitian ini yaitu penggunaan sterilisasi yang tepat untuk kultur *in vitro*. Sterilisasi yang efektif merupakan langkah awal yang krusial dalam keberhasilan kultur jaringan. Dalam penelitian ini menggunakan sterilisasi berupa penggunaan Nordox 56 WP, tanpa menggunakan Nordox 56WP, menggunakan larutan Antracol 5 gr, dan menggunakan HgCl₂. Parameter yang diamati yaitu munculnya kontaminan berupa jamur dan bakteri serta waktu kematian pada eksplan. Hasil pengamatan menunjukkan penggunaan HgCl₂ dapat menghambat kontaminan dan waktu terjadinya kematian eksplan pada tanaman bambu kuning secara *in vitro*.

Kata kunci: Kultur Jaringan, Bambu Kuning, Sterilisasi, *In Vitro*

PENDAHULUAN

Kultur jaringan tanaman didefinisikan sebagai teknik kultur aseptik sel, jaringan, organ dan komponennya di bawah kondisi fisik dan kimiawi tertentu secara *in vitro* (Thorpe, 2007; Purwantoro *et al.*, 2022). Teknik kultur *in vitro* diperlukan untuk memproduksi tanaman yang bebas penyakit, memperbanyak genotipe tanaman langka secara cepat, transformasi genom tanaman dan produksi metabolit turunan tanaman yang memiliki nilai komersial yang tinggi (Debnarh *et al.*, 2006; Altpeter *et al.*, 2016; Espinoasa *et al.*, 2018).

Bambu kuning merupakan tanaman multifungsi dengan berbagai kegunaan di Indonesia seperti untuk konstruksi, *furniture*, dan produk kerajinan. Penggunaannya lebih dari sekedar menggantikan kayu pada bangunan, furnitur, dan lantai. Secara

tradisional di Asia Tenggara dan China bambu digunakan sebagai sumber makanan dan obat-obatan. Baik batang, rimpang, serutan kulit kayu, rebung, daun, akar, dan biji tanaman bambu semuanya digunakan dalam pengobatan (Nirmala *et al.*, 2018).

Bambu juga dikenal sebagai tanaman konservasi dan sering tumbuh atau ditanam di bantaran sungai dan lahan-lahan yang miring untuk mencegah erosi. Bambu tumbuh dengan baik di lereng-lereng bukit yang curam, tanggul jalan, atau di tepian sungai. Bambu juga dapat menyerap nitrogen dari tanah dan karbon dioksida dari udara, sehingga berkontribusi dalam mengurangi polusi air dan udara (Suriani 2017; Li and He, 2019; Febriyanti, *et al.*, 2023)

Namun, perbanyakkan secara konvensional tanaman ini menghadapi beberapa tantangan seperti tingkat keberhasilan yang rendah, pertumbuhan yang lambat, serta terjadinya variabilitas genetik dikarenakan pemotongan tanaman yang tidak sesuai. Hal inilah yang menjadi faktor perbanyakkan bambu kuning secara *in vitro* perlu dilakukan. Adapun kelebihan perbanyakkan secara *in vitro* yakni dapat menghasilkan tanaman yang identik dengan tanaman induknya, dapat mengekstrak metabolit sekunder dalam jumlah yang banyak serta mengurangi beban biaya dibandingkan dengan perbanyakkan konvensional (Banik, 1995; Chaurasiya *et al.*, 2012; Sabir *et al.*, 2013; Jadaun *et al.*, 2017a).

Perbanyakkan vegetatif tanaman bambu menggunakan tunas ranting batang memungkinkan untuk mempertahankan genetik spesies tersebut (Dekkers *et al.*, 1987; Ndiaye *et al.*, 2006). Penelitian ini memaparkan mengenai prosedur sterilisasi yang sesuai menggunakan tunas ranting bambu kuning untuk perbanyakkan secara *in vitro*.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan pada Januari 2024 – Maret 2024. Pengambilan sampel dilakukan di Jln. Tinaloga, Kec. Tilongkabila, Kab. Bone Bolango, Provinsi Gorontalo. Tempat penelitian dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Pengawasan dan Sertifikasi Benih Tanaman Pangan dan Hortikultura Provinsi Gorontalo di Jln. Tinaloga, Kec. Kota Utara, Kota Gorontalo, Provinsi Gorontalo.

Alat yang digunakan yaitu gunting tanaman, botol kultur, cawan petri, pinset, *autoclave*, laminar *air flow*, scapel, gelas kimia, batang pengaduk, dan *handscun*. Bahan yang digunakan yaitu bambu kuning bagian batang dengan panjang 2-3 cm dan memiliki mata tunas 0,3 cm, alkohol 70 %, 2,4-*Dichlorophenoxyacetic Acid*, *Benzyl Amino Purine*, nordox 56 WP, clorox, larutan fungisida Antracol 5 gr, dan HgCl₂ 0,03 gr.

Metode penelitian eksperimen menggunakan tiga macam sterilisasi yakni Nordox 56 wp, tanpa Nordox 56 WP, larutan fungisida Antracol, dan larutan HgCl₂ dengan desain penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) non faktorial dengan menggunakan media sebagai berikut : PBK 0 = Kontrol; PBK 1 = BAP (1 ppm) + 2,4-D (0,5 ppm); PBK 2 = BAP (2 ppm) + 2,4-D (1 ppm); dan PBK 3 = BAP (3 ppm) + 2,4-D (1,5 ppm). Dengan 3 ulangan dan setiap botol berisi 1 eksplan.




Teknik pengumpulan data secara deskriptif dengan melihat kontaminasi yang terjadi pada setiap eksplan dan melihat perbandingan antara tiap sterilisasi yang



digunakan dengan waktu kematian eksplan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dengan melihat perbedaan dari tiap sterilisasi yang digunakan dapat menjadi salah satu indikator untuk melihat keberhasilan pertumbuhan tanaman secara *in vitro*. Hal ini disajikan dalam tabel 1.

Tabel 1. Sterilisasi yang digunakan pada eksplan bambu kuning (*Bambusa vulgaris*)

No	Jenis Sterilisasi	Jenis Kontaminasi	Waktu Kontaminasi	Gambar
1.	Menggunakan Nordox 56 WP	Terkontaminasi jamur	Hari ke-3 setelah penanaman	
2.	Tanpa menggunakan Nordox 56 WP	Terkontaminasi jamur	Hari ke-3 setelah penanaman	
3.	Menggunakan larutan fungisida Antracol 6 gr	Terkontaminasi jamur dan eksplan mulai mengalami <i>browning</i>	Hari ke-1 setelah penanaman	

4. Menggunakan larutan HgCl ₂ 0,03 gr	Terkontaminasi jamur	Hari ke-5 setelah penanaman kontaminasi jamur dan mengalami pecah tunas	
Hari ke-7 setelah penanaman terkontaminasi bakteri			

Hasil Tabel 1 menunjukkan bahwa perlakuan dengan menggunakan HgCl₂ dapat menghambat terjadinya proses kontaminasi. Hal ini sejalan dengan penelitian Kodape *et al.*, (2024) dimana HgCl₂ digunakan sebagai disinfektan yang ampuh dalam sterilisasi dan menghambat kontaminasi jamur dan bakteri. Namun, konsentrasi dan waktu pemaparan juga harus diperhatikan karena konsentrasi yang lebih tinggi dapat menjadi beracun bagi tanaman. Selain itu juga, penggunaan alkohol 70% yang mengandung 30% air lebih baik digunakan karena dapat menembus dinding sel dan bersifat lebih polar.

Eksplan yang berasal dari lapangan (bukan hasil kultur jaringan) juga memiliki risiko yang relatif lebih tinggi terhadap kontaminasi dibandingkan dengan eksplan yang steril. Hal ini diduga karena eksplan yang berasal dari lapangan memiliki kontak langsung dengan kontaminan baik berupa bakteri maupun jamur (Rananda & Khozon, 2023).

Selain itu, kombinasi 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid (auksin) dan 6- Benzyl Amino Purine (sitokinin) akan merangsang pertumbuhan dan perkembangan pembelahan sel serta pembentukan organogenesis. Kombinasi 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid (auksin) dan 6- Benzyl Amino Purine (sitokinin) akan merangsang pertumbuhan dan perkembangan pembelahan sel serta pembentukan organogenesis (Mayerni *et al.*, 2020).

Pengaruh penggunaan sterilisasi yang berbeda-beda juga berperan terhadap

waktu kematian yang terjadi. Hal ini dapat di lihat dalam tabel 2.

Tabel 2. Perbandingan penggunaan sterilisasi eksplan dengan waktu kematian eksplan bambu kuning (*Bambusa vulgaris*)

Jenis Sterilisasi	Perlakuan	Waktu Kematian (Hari Ke)		
Menggunakan Nordox 56 WP	PBK_0	7	7	7
	PBK_1	7	7	7
	PBK_2	7	7	7
	PBK_3	7	7	7
Tanpa menggunakan Nordox 56 WP	PBK_0	14	14	14
	PBK_1	14	14	14
	PBK_2	14	14	14
	PBK_3	14	14	14
Menggunakan larutan fungisida Antracol	PBK_0	5	5	5
	PBK_1	5	5	5
	PBK_2	5	5	5
	PBK_3	5	5	5
Menggunakan larutan HgCl ₂	PBK_0	21	21	21
	PBK_1	21	21	21
	PBK_2	28	28	28
	PBK_3	28	28	28

Berdasarkan tabel 2 menyatakan bahwa eksplan dengan sterilisasi menggunakan HgCl₂ memiliki tingkat bertahan hidup yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan penggunaan larutan Antracol dengan tingkat hidup lebih rendah serta terjadinya *browning* (pencoklatan). Hal ini terjadi karena adanya interaksi antara senyawa aktif yang terkandung dalam Antracol dengan senyawa fenolik dalam tanaman yang memicu terjadinya reaksi oksidasi menghasilkan eksplan berwarna coklat dan merusak jaringan tanaman (Lerch, 1981; Chika dkk., 2014).

Konsentrasi, durasi penggunaan bahan sterilisasi dan waktu perendaman perlu ditentukan melalui beberapa percobaan yang telah dilakukan sebelumnya. Dikarenakan sifat racun yang terkandung dalam bahan tersebut bersifat racun bagi tanaman (fitotoksisitas) (Oyebanji *et al.*, 2009; Badoni & Chauhan, 2010).

KESIMPULAN

Penggunaan sterilisasi yang tepat berperan dalam menghambat proses kontaminasi yang terjadi pada penelitian ini. Hal ini dapat dilihat bahwa dengan menggunakan larutan HgCl kontaminasi berupa jamur dan bakteri terjadi pada hari ke-5 dan hari ke-7. Sedangkan kematian eksplan rata-rata terjadi pada hari ke-21 dan ke-28. Diharapkan nantinya akan ada penelitian lanjutan terkait penggunaan

sterilisasi dan waktu perendaman untuk tanaman bambu kuning secara in vitro.

DAFTAR PUSTAKA

- Altpeter F, Springer NM, Bartley LE, Blechl AE, Brutnell TP, Citovsky V, Conrad L, Gelvin SB, Jackson D, Kausch AP, Lemaux PG, Medford JI, Orozco-Cardenas M, Tricoli D, VanEck J, Voytas DF, Walbot V, Wang K, Zhang ZJ, Stewart CN. (2016). Advancing crop transformation in the era of genome editing. *Plant Cell* 28:1510–1520. <https://doi.org/10.1105/tpc.16.00196>
- Badoni, A., & Chauhan, J. S. (2010). Potato seed production of Cultivar Kufri Himalini, in vitro. *Stem Cell*, 1(1), 7-10.
- Chaurasiya, N. D., Sangwan, N. S., Sabir, F., Misra, L., & Sangwan, R. S. (2012). Withanolide biosynthesis recruits both mevalonate and DOXP pathways of isoprenogenesis in Ashwagandha *Withania somnifera* L.(Dunal). *Plant cell reports*, 31, 1889-1897.
- Chika, S., Ismaini, L., & Armanda, D. T. (2022). Explant Sterilization Technique *Castanopsis argentea* (Blume) A. DC. with the addition of Ascorbic Acid and Sodium Hypochlorite (NaOCl) In Vitro. *Berkala Ilmiah Biologi*, 13(2), 32-41.
- Debnath, M., Malik, C. P., & Bisen, P. S. (2006). Micropropagation: a tool for the production of high quality plant-based medicines. *Current pharmaceutical biotechnology*, 7(1), 33-49.
- Dekkers AJ, Rao AN. (1987). Tissue culture of four bamboo genera. Department of Botany, National University of Singapore, Lower Kent Ridge Road, Singapore 0511.
- Espinosa-Leal, C. A., Puente-Garza, C. A., & García-Lara, S. (2018). In vitro plant tissue culture: means for production of biological active compounds. *Planta*, 248, 1-18.
- Jadaun JS, Sangwan NS, Narnoliya LK, Tripathi S, Sangwan RS. (2017a). *Withania coagulans* tryptophan decarboxylase gene cloning, heterologous expression, and catalytic characteristics of the recombinant enzyme. *Protoplasma* 254(1):181–192.
- Kodape, S.V., Baviskar, S.B., Shende, P., Patil, S.R., Patil, S., Tinpayale, A.D., & Khandare, K.G. (2024). Comprehensive study on explant surface sterilisation of in vitro culture of bamboo species (*Bambusa balcooa*). *International Journal of Advanced Biochemistry Research*.
- Lerch, K. (1981). Tyrosinase kinetics: A semi quantitative model of the mechanism of oxidation of monohydric and dihydric phenolic substrates. *Metal Ions in Biology System*, 13, 143–186.
- Mayerni, R., Satria, B., Wardhani, D. K., & Chan, S. (2020). Effect of auxin (2,4- D) and cytokinin (BAP) in callus induction of local patchouli plants (*Pogostemon cablin* Benth.). *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*,

583(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/583/1/012003>.

- Ndiaye, A., Diallo, M. S., Niang, D., & Gassama-Dia, Y. K. (2006). In vitro regeneration of adult trees of *Bambusa vulgaris*. *African Journal of Biotechnology*, 5(13).
- Nirmala, C., Bisht, M. S., Bajwa, H. K., & Santosh, O. (2018). Bamboo: A rich source of natural antioxidants and its applications in the food and pharmaceutical industry. In *Trends in Food Science and Technology* (Vol. 77, pp. 91–99). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.05.003>
- Oyebanji, O. B., Nweke, O., Odebunmi, O., Galadima, N. B., Idris, M. S., Nnodi, U. N., ... & Ogbadu, G. H. (2009). Simple, effective and economical explant-surface sterilization protocol for cowpea, rice and sorghum seeds. *African journal of biotechnology*, 8(20).
- Purwanto, A., Purwestri, Y. A., Lawrie, M. D., & Semiarti, E. (2022). Genetic transformation via plant tissue culture techniques: Current and future approaches. In *Advances in Plant Tissue Culture* (pp. 131-156). Academic Press.
- Rananda, A. I., & Khozin, M. N. (2023). The Effect of Different Sterilization Methods on Obtaining Sterile Leaf Explants of Porang (*Amorphophallus muelleri* B.). *Journal of Soilscape and Agriculture*, 2(1), 1-11.
- Sabir, F., Mishra, S., Sangwan, R. S., Jadaun, J. S., & Sangwan, N. S. (2013). Qualitative and quantitative variations in withanolides and expression of some pathway genes during different stages of morphogenesis in *Withania somnifera* Dunal. *Protoplasma*, 250, 539-549.
- Thorpe, T. A. (2007). History of plant tissue culture. *Molecular biotechnology*, 37, 169-180.