

**Pengaruh Metode Pra-perlakuan dan Media Pertumbuhan
Asam Askorbat dan Arang Aktif Terhadap *Browning* Pada
Tahap Inisiasi Kultur *In Vitro* Bambu Petung
(*Dendrocalamus asper*)**

SKRIPSI



**Anggel Christia Dolonseda
31170123**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS BIOTEKNOLOGI
UNIVERSITAS KRISTEN DUTA WACANA
YOGYAKARTA
2021**

HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI SKRIPSI/TESIS/DISERTASI UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai sivitas akademika Universitas Kristen Duta Wacana, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Anggel Christia Dolonseda
NIM : 31170123
Program studi : Biologi
Fakultas : Bioteknologi
Jenis Karya : Skripsi

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Kristen Duta Wacana **Hak Bebas Royalti Noneksklusif** (*None-exclusive Royalty Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul:

“Pengaruh Metode Pra-perlakuan dan Media Pertumbuhan Asam Askorbat dan Arang Aktif Terhadap *Browning* Pada Tahap Inisiasi Kultur *In Vitro* Bambu Petung (*Dendrocalamus asper*)”

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti/Noneksklusif ini Universitas Kristen Duta Wacana berhak menyimpan, mengalih media/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama kami sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Yogyakarta
Pada Tanggal : 26 Juli 2021

Yang menyatakan



(Anggel Christia Dolonseda)

NIM : 31170123

**Pengaruh Metode Pra-perlakuan dan Media Pertumbuhan
Asam Askorbat dan Arang Aktif Terhadap *Browning* Pada
Tahap Inisiasi Kultur *In Vitro* Bambu Petung
(*Dendrocalamus asper*)**

SKRIPSI

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Pada Program Studi Biologi, Fakultas Bioteknologi Universitas Kristen

Duta Wacana



**Anggel Christia Dolonseda
31170123**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS BIOTEKNOLOGI
UNIVERSITAS KRISTEN DUTA WACANA
YOGYAKARTA
2021**

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi dengan judul :

Pengaruh Metode Pra-perlakuan dan Media Pertumbuhan Asam Askorbat dan Arang Aktif Terhadap *Browning* Pada Tahap Inisiasi Kultur *In Vitro* Bambu Petung (*Dendrocalamus asper*)

telah diajukan dan dipertahankan oleh :

Angel Christia Dolonseda

31170123

dalam Ujian Skripsi Program Studi Biologi

Fakultas Bioteknologi

Universitas Kristen Duta Wacana

Dan dinyatakan DITERIMA untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Sains pada tanggal

Nama Dosen

1. Ratih Restiani, S.Si., M.Biotech :
(Dosen Pembimbing Utama / Penguji I)
2. Dwi Aditiyarini, S.Si, M.Biotech., M.Sc. :
(Dosen Pembimbing Pendamping / Penguji II)
3. Nur Annisa Shalehah, S.P :
(Bambu Nusa Verde / Penguji III)

Tanda Tangan



Yogyakarta, 08 Juli 2021

Disahkan Oleh:

Dekan,



Dr. Kisworo, M.Sc.
NIK : 874 E 054

Ketua Program Studi,



Dra. Aniek Prasetyaningsih, M.Si
NIK : 884E75

HALAMAN PENGESAHAN NASKAH SKRIPSI

Judul Proposal : Pengaruh Metode Pra-perlakuan dan Media Pertumbuhan Asam Askorbat dan Arang Aktif Terhadap *Browning* Pada Tahap Inisiasi Kultur *In Vitro* Bambu Petung (*Dendrocalamus asper*)

Nama : Anggel Christia Dolonseda

Nim : 31170123

Pembimbing I : Ratih Restiani, S.Si.,M.Biotech

Pembimbing II : Dwi Aditiyarini, S.Si.,M.Biotech., M.Sc

Hari/Tgl Presentasi : Kamis, 08 Juli 2021

Disetujui oleh :

Pembimbing 1

Pembimbing 2



(Ratih Restiani, S.Si.,M.Biotech)

NIK : 174E449



(Dwi Aditiyarini, S.Si.,M.Biotech,M.Sc)

NIK : 194KE421

Ketua Program Studi



(Dra. Aniek Prasetyaningsih, M.Si)

NIK : 884E075

LEMBAR PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Anggel Christia Dolonseda

NIM : 31170123

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi dengan judul :

“Pengaruh Metode Pra-perlakuan dan Media Pertumbuhan Asam Askorbat dan Arang Aktif Terhadap *Browning* Pada Tahap Inisiasi Kultur *In Vitro* Bambu Petung (*Dendrocalamus asper*)”

adalah hasil karya saya dan bukan merupakan duplikasi sebagian atau sepenuhnya dari karya orang lain, yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu di dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Pernyataan ini dibuat dengan sebenar-benarnya secara sadar dan bertanggung jawab dan saya bersedia menerima sanksi pembatalan skripsi apabila terbukti melakukan duplikasi skripsi atau karya ilmiah lain yang sudah ada.

Yogyakarta, 01 Juli 2021



(Anggel Christia Dolonseda)

31170123

KATA PENGANTAR

Puji syukur dipanjatkan kepada Tuhan Yesus Kristus atas berkat, penyertaan, dan kasih-Nya, penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“Pengaruh Metode Pra-perlakuan dan Media Pertumbuhan Asam Askorbat dan Arang Aktif Terhadap Browning Pada Tahap Inisiasi Kultur *In Vitro* Bambu Petung (*Dendrocalamus asper*)”** yang merupakan syarat wajib untuk memperoleh gelar sarjana (S.Si) Fakultas Bioteknologi Universitas Kristen Duta Wacana. Proses penelitian, hingga penulisan skripsi ini dapat dijalankan dengan baik berkat bimbingan, semangat, motivasi, dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Ratih Restiani, S.Si.,M.Biotech selaku dosen pembimbing I atas ilmu pengetahuan, motivasi, bimbingan, dan kesabarannya dalam membimbing penulis selama proses penyelesaian skripsi.
2. Dwi Aditiyarini, S.Si.,M.Biotech,M.Sc selaku dosen pembimbing II atas ilmu pengetahuan, motivasi, bimbingan, dan kesabarannya dalam membimbing penulis selama proses penyelesaian skripsi.
3. Dosen dan staf admin Fakultas Bioteknologi UKDW, yang telah membimbing dan membagikan ilmu serta pengalaman yang berharga selama proses perkuliahan.
4. Theresia Retnowati selaku laboran bioteknologi dasar yang telah membimbing, memberikan bantuan, dan motivasi selama proses penyelesaian skripsi.
5. Keluarga besar PT. Bambu Nusa Verde (BNV) atas kontribusi berupa fasilitas dan bimbingan kepada penulis selama proses penyelesaian skripsi.
6. Keluarga tercinta mama Zusan Arni Landang S.Pd.,M.Si., dan kakak Veronika Dewi Dolonseda STr.Keb, yang telah mengasihi, membimbing, mendidik, mendoakan, memberikan semangat dan berjuang untuk membiayai perkuliahan penulis selama ini. Serta keluarga besar yang ada di Kabupaten Kepulauan

Talaud yang selalu memberi dukungan dan semangat selama proses penyelesaian skripsi.

7. Teman-teman saya yang terkasih Cindy Talenta H, Katharine Hana C.P, Astrid Helena, Christi Rumengan, Tesalonika Nindy S, Jade Septimoranie, Nadhya Vitresky, Vina Evianti R, sebagai teman yang sudah seperti saudara yang ada di Yogyakarta yang setia menemani, memberikan bantuan, keceriaan, nasihat, dan semangat kepada penulis selama proses penyelesaian skripsi.
8. Astrid Helena dan Heralius Dwiki Anggoro sebagai rekan selama penelitian skripsi, serta teman-teman Bioteknologi angkatan 17 untuk kebersamaan, dukungan, dan bantuan kepada penulis selama proses penyelesaian skripsi.
9. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu, yang telah membantu selama proses penyelesaian skripsi.

Penulis menyadari masih ada kekurangan dalam proses penyusunan skripsi ini, mengingat keterbatasan kemampuan dan pengalaman yang dimiliki. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang dapat membangun dan mengembangkan hasil penelitian skripsi ini oleh semua pihak. Akhir kata, semoga skripsi ini bermanfaat dan dapat memotivasi ilmuan muda untuk berkarya dan mengembangkan ilmu pengetahuan bagi kesejahteraan masyarakat.

Yogyakarta, 01 Juli 2021

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL DEPAN.....	i
HALAMAN JUDUL BAGIAN DALAM	ii
HALAMAN PENGESAHAN TIM PENGUJI	iii
HALAMAN PENGESAHAN NASKAH SKRIPSI	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
ABSTRAK	xiii
ABSTRACT.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	3
1.3. Tujuan.....	4
1.4. Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1. Morfologi dan Klasifikasi Bambu Petung (<i>Dendrocalamus asper</i>)	5
2.2. Pemanfaatan Bambu Petung (<i>Dendrocalamus asper</i>)	6
2.3. Kultur <i>In Vitro</i>	7
2.4. <i>Browning</i> Pada Bambu	9
2.5. Senyawa <i>Anti-browning</i>	10
2.5.1. Asam Askorbat	10
2.5.2. Arang Aktif.....	11
2.5.3. Kombinasi Asam Askorbat dan Arang Aktif.....	12
2.6. Metode Penggunaan Senyawa <i>Anti-browning</i>	12
2.7. Hipotesis	13

BAB III METODE PENELITIAN.....	14
3.1. Tempat dan Waktu Penelitian.....	14
3.2. Desain Penelitian	14
3.2.1. Variabel Penelitian.....	14
3.2.2. Perlakuan	14
3.3. Bahan	15
3.4. Alat	16
3.5. Cara Kerja.....	16
3.5.1. Pembuatan Larutan Stok.....	16
3.5.2. Pembuatan Media MS (Murashige & Skoog).....	16
3.5.3. Persiapan Eksplan	18
3.5.4. Persiapan Alat dan Ruang Kerja.....	18
3.5.5. Sterilisasi Eksplan.....	18
3.5.6. Inokulasi Eksplan.....	20
3.5.7. Inkubasi Eksplan di Kondisi Terang dan Gelap	21
3.5.8. Pengamatan.....	21
3.6. Analisis Data.....	22
3.7. Skema Penelitian.....	23
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	24
4.1. <i>Browning</i> pada Eksplan Bambu Petung (<i>Dendrocalamus asper</i>).....	24
4.1.1. Pengaruh Metode Pra-Perlakuan dan Media Pertumbuhan Terhadap <i>Browning</i> Eksplan Tunas Bambu Petung	26
4.1.2. Pengaruh Kombinasi Metode Perlakuan Terhadap <i>Browning</i> Eksplan Bambu Petung	33
4.2. Kontaminasi Eksplan Bambu Petung (<i>Dendrocalamus asper</i>).....	37
4.3. Pertumbuhan Eksplan Bambu Petung (<i>Dendrocalamus asper</i>).....	42
BAB V PENUTUP.....	47
5.1. Simpulan	47
5.2. Saran	47
DAFTAR PUSTAKA	47
LAMPIRAN	54

DAFTAR TABEL

Tabel 3. 1 Metode Perlakuan Penggunaan <i>Anti-browning</i>	15
Tabel 3. 2 Konsentrasi Perlakuan Media Pertumbuhan Asam Askorbat dan Arang Aktif.....	17
Tabel 3. 3 Konsentrasi Pra-Perlakuan Asam Askorbat dan Arang Aktif.....	19
Tabel 3. 4 Konsentrasi Kombinasi Metode Asam Askorbat dan Arang Aktif....	19
Tabel 3. 5 Skoring Intensitas <i>Browning</i>	22

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Karakteristik bambu petung (<i>Dendrocalamus asper</i>)	5
Gambar 4.1 Fase munculnya <i>browning</i> pada eksplan tunas bambu petung (<i>Dendrocalamus asper</i>).....	25
Gambar 4. 2 Waktu munculnya <i>browning</i> (HST) metode pra-perlakuan dan media pertumbuhan pada eksplan bambu petung (<i>Dendrocalamus asper</i>).	26
Gambar 4. 3 Persentase tingkat <i>browning</i> metode pra perlakuan dan media pertumbuhan pada eksplan bambu petung (<i>Dendrocalamus asper</i>)	28
Gambar 4. 4 Hari munculnya (HST) <i>browning</i> kombinasi metode pada eksplan bambu petung (<i>Dendrocalamus asper</i>).....	34
Gambar 4.5 Persentase tingkat <i>browning</i> kombinasi metode pada eksplan bambu petung (<i>Dendrocalamus asper</i>).....	34
Gambar 4.6 Fase munculnya kontaminasi pada eksplan tunas bambu petung (<i>Dendrocalamus asper</i>).....	37
Gambar 4.7 Persentase tingkat kontaminasi metode pra perlakuan dan media pertumbuhan pada eksplan bambu petung (<i>Dendrocalamus asper</i>)	38
Gambar 4.8 Persentase tingkat kontaminasi kombinasi metode pada eksplan bambu petung (<i>Dendrocalamus asper</i>).....	39
Gambar 4. 9 Persentase jenis kontaminasi.....	40
Gambar 4.10 Fase pertumbuhan eksplan tunas bambu petung (<i>Dendrocalamus asper</i>)	42
Gambar 4.11 Persentase tingkat pertumbuhan metode pra perlakuan dan media pertumbuhan pada eksplan bambu petung (<i>Dendrocalamus asper</i>)	43
Gambar 4.12 Persentase tingkat pertumbuhan kombinasi metode pada eksplan bambu petung (<i>Dendrocalamus asper</i>).....	44

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Tabel Komposisi Media MS (<i>Murashige and Skoog</i>)	54
Lampiran 2 Tabel Pengamatan Persentase Metode Media Pertumbuhan	55
Lampiran 3 Tabel Pengamatan Persentase Metode Pra-Perlakuan.....	56
Lampiran 4 Tabel Pengamatan Persentase Kombinasi Metode.....	57
Lampiran 5 Analisa Statistik Pengaruh Variasi Metode Terhadap Persentase <i>Browning</i> Eksplan Bambu Petung (<i>Dendrocalamus asper</i>)	57
Lampiran 6 Homogeneous Subsets Variasi Metode	58
Lampiran 7 Analisa Statistik Pengaruh Metode Kombinasi Konsentrasi Optimal Terhadap Persentase <i>Browning</i> Eksplan Bambu Petung (<i>Dendrocalamus asper</i>).....	58
Lampiran 8 Homogeneous Subsets Metode Kombinasi Pada Konsentrasi Optimal	58
Lampiran 9 Analisa Statistik Pengaruh Variasi Metode Pada Konsentrasi Optimal Terhadap Persentase <i>Browning</i> Eksplan Bambu Petung (<i>Dendrocalamus asper</i>).....	59
Lampiran 10 Homogeneous Subsets Variasi Metode Pada Konsentrasi Optimal	59

ABSTRAK

Pengaruh Metode Pra-perlakuan dan Media Pertumbuhan Asam Askorbat dan Arang Aktif Terhadap *Browning* Pada Inisiasi Kultur *In Vitro* Bambu Petung (*Dendrocalamus asper*)

ANGGEL CHRISTIA DOLONSEDA

Peningkatan perbanyak bibit bambu petung dilakukan dengan teknik kultur *in vitro*. Akan tetapi, sering terjadi pencokelatan (*browning*) pada tahap inisiasi kultur *in vitro* yang menghambat pertumbuhan eksplan. Proses pemotongan dan sterilisasi eksplan menyebabkan senyawa fenol yang teroksidasi dan mengaktifkan enzim PPO, sehingga akan membentuk quinon dan terpolimerisasi menghasilkan *browning* pada eksplan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui metode yang efektif mencegah dan menurunkan tingkat *browning* dengan penggunaan senyawa *anti-browning* yaitu asam askorbat dan arang aktif yang diinkubasi pada kondisi terang dan gelap. Metode pra-perlakuan dilakukan dengan perendaman, sedangkan metode media pertumbuhan menggunakan media MS dengan kinetin 2 mg/L dan ditambahkan konsentrasi perlakuan asam askorbat (0, 150, 200, 250, 300 mg/L) dan arang aktif 0,5 g/L. Setelah mendapatkan konsentrasi yang optimal, dilakukan kombinasi dari kedua metode tersebut. Pengamatan meliputi karakteristik eksplan, hari munculnya *browning*, persentase tingkat *browning*, persentase kontaminasi, dan persentase pertumbuhan tunas eksplan bambu petung yang diamati selama 14 Hari Setelah Tanam (HST). Data persentase tingkat *browning* dianalisis dengan analisis ragam dari RAL. Hasil menunjukkan bahwa metode media pertumbuhan asam askorbat 200 mg/L dan arang aktif 0,5 g/L merupakan metode optimal dengan tingkat *browning* 14% pada inkubasi kondisi gelap. Kombinasi metode asam askorbat 150 mg/L dan arang aktif 0,5 g/L optimal dengan tingkat *browning* sebesar 11% pada kondisi gelap. Peningkatan kontaminasi terjadi pada kondisi gelap hingga 100%, sedangkan kondisi terang dapat meningkatkan pertumbuhan tunas eksplan bambu petung hingga 67% dan 100%.

Kata kunci : *Anti-browning, browning, Dendrocalamus asper, kultur in vitro.*

ABSTRACT

Effect of Pre-treatment Method and Growth Media of Ascorbic Acid and Activated Charcoal on Browning on In Vitro Culture Initiation of Petung Bamboo (*Dendrocalamus asper*)

ANGGEL CHRISTIA DOLONSEDA

The increase in the propagation of bamboo petung seedlings was carried out by in vitro culture techniques. However, browning often occurs at the initiation stage of in vitro culture which inhibits the growth of explants. The process of cutting and sterilizing explants causes phenol compounds to be oxidized and activate the PPO enzyme, so that it will form quinones and polymerize which results in browning of the explants. This study aims to determine an effective method to prevent and reduce browning levels by using anti-browning compounds, namely ascorbic acid and activated charcoal which were incubated in light and dark conditions. The pre-treatment method was carried out by immersion, while the growth media method used MS media with kinetin 2 mg/L and added concentrations of ascorbic acid treatment (0, 150, 200, 250, 300 mg/L) and 0.5 g/L activated charcoal. After obtaining the optimal concentration, a combination of the two methods was carried out. Observations included the characteristics of explants, days of browning emergence, percentage of browning level, percentage of contamination, and percentage of shoot growth of bamboo petung explants observed for 14 days after planting (DAT). Browning level percentage data were analyzed by analysis of variance from RAL. The results showed that the ascorbic acid growth medium method of 200 mg/L and 0.5 g/L activated charcoal was the optimal method with a browning rate of 14% in dark incubation conditions. The combination of 150 mg/L ascorbic acid and 0.5 g/L activated charcoal is optimal with a browning rate of 11% in the dark. Increased contamination occurred in dark conditions up to 100%, while light conditions could increase shoot growth of bamboo petung explants up to 67% and 100%, respectively.

Key words: Anti-browning, Browning, *Dendrocalamus asper*, In vitro culture.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Bambu merupakan tanaman *Poaceae* (rumput-rumputan) dengan ciri berumpun, batangnya lurus, berlubang dan berbentuk silinder dengan simpul dan bagian yang beruas-ruas (Chaowana, 2013). Menurut Mainaki (2020) populasi tanaman bambu di dunia dapat mencapai 75 marga dan 1250 – 1350 jenis. Indonesia merupakan salah satu negara penghasil 157 jenis bambu dengan persentase 10% dari total populasi bambu di dunia. Sebanyak 50% tanaman bambu di Indonesia adalah jenis endemik dan banyak dimanfaatkan oleh masyarakat dalam berbagai kebutuhan. Sutiyono (2011) menyatakan bahwa bambu petung (*Dendrocalamus asper*) merupakan salah satu jenis bambu yang diprioritaskan untuk dikembangkan karena memiliki manfaat dan nilai enokomis yang tinggi bagi masyarakat. Bambu petung (*Dendrocalamus asper*) dimanfaatkan karena memiliki sifat dan karakteristik bilik batang tebal, keras, dan seratnya panjang. Bambu petung dimanfaatkan sebagai bahan pembuatan kertas, karena menghasilkan pulp yang tinggi dari sertanya (Sugesty *et al.*, 2015). Selain itu, bambu petung juga digunakan sebagai tanaman konservasi karena memiliki akar serabut yang rimpang dan sangat kuat. Sifat tersebut menyebabkan bambu petung dapat meningkatkan sistem hidrologis untuk meningkat tanah dan air, agar dapat menyerap air hujan hingga 90% (Astuti, 2014). Akan tetapi, tingginya pemanfaatan bambu petung tidak seimbang dengan proses pembibitan dan perbanyakannya. Peningkatan produksi pertumbuhan bambu petung dapat diatasi dengan metode perbanyakan secara konvensional baik vegetatif maupun generatif. Metode tersebut tidak optimal menghasilkan bibit bambu petung dalam waktu yang cepat dengan skala besar. Menurut Sutiyono (2011), tingkat keberhasilan stek bambu petung rendah yaitu 0-35%. Hal ini disebabkan oleh perilaku berbunga monokarpik, fase vegetatif yang panjang, dan viabilitas benih yang rendah dari perbanyakan berbasis benih sangat terbatas. Oleh karena itu, diperlukan metode yang dapat menghasilkan tanaman bambu dalam skala besar, peningkatan variasi, dan terlepas dari musim melalui teknik kultur *in vitro*.

Pada teknik kultur *in vitro* melibatkan tahap inisiasi yang merupakan tahapan penanaman eksplan di dalam media pertumbuhan yang sebelumnya dilakukan proses pemilihan eksplan dan sterilisasi. Akan tetapi, pada tahap inisiasi eksplan seringkali berubah menjadi cokelat (*browning*) yang menghambat pertumbuhan eksplan, hingga menyebabkan kematian. Berdasarkan Huang *et al* (2002), *browning* terjadi pada eksplan tunas bambu di tahap inisiasi. Tahap inisiasi yang melibatkan perlakuan eksplan dan sterilisasi dapat menyebabkan rusaknya jaringan sel pada vakuola sehingga berdampak meningkatnya aktivitas enzim PPO yang bereaksi dengan senyawa fenolik sebagai substrat pada kondisi aerob (Tabiyeh *et al.*, 2006). Jones (1985) menyatakan bahwa bambu mempunyai kandungan fenol yang tinggi. Hal ini didukung oleh Wardhani (2016), senyawa fenolik bambu mencapai 0,204 EAG/gr dan aktivitas enzim polifenol oksidase (PPO) mencapai 0,333 unit. Menurut Huang *et al* (2002), aktivitas enzim PPO yang tinggi pada bambu meningkatkan pencokelatan pada eksplan di tahap inisiasi. Oleh sebab itu, diperlukan metode dalam teknik kultur *in vitro* yang dapat mengatasi pencokelatan (*browning*) eksplan bambu di tahap inisiasi.

Penggunaan *anti-browning* pada kultur *in vitro* sudah dilakukan. *Anti-browning* yang sering digunakan adalah asam askorbat dan arang aktif (Tao *et al.*, 2007; Das & Srivastav, 2007; Babaei *et al.*, 2013; Ndakidemi *et al.*, 2014 ; Safwat *et al.*, 2015). Metode pemberian *anti-browning* menghasilkan persentase *browning* yang berbeda. Berdasarkan Dwi Kurniasari (2018), perendaman hanya dengan asam askorbat pada eksplan *Rhynchostylis retusa* tidak efektif dan menyebabkan *browning*. Dibandingkan dengan perendaman asam askorbat dan penambahan arang aktif di dalam media pertumbuhan, lebih efektif mencegah *browning* pada kalus *Rhynchostylis retusa*. Selain itu, ada pengaruh lingkungan kultur yaitu cahaya yang mempengaruhi persentase *browning* yang muncul. Menurut Davies (2003), senyawa fenol teroksidasi karena adanya oksigen. Ketika proses oksidasi melibatkan cahaya, akan mempercepat oksidasi fenol dan akan meningkatkan aktivitas enzim PPO yang terlibat di dalam mekanisme pencokelatan. Hal ini sesuai dengan Admojo (2016), perlakuan perendaman asam askorbat dan inkubasi kondisi gelap dapat menurunkan intensitas *browning* hingga 7,5% dan persentase *browning*

hingga 30%, dibandingkan dengan kondisi terang. Penggunaan asam askorbat dan arang aktif sebagai senyawa *anti-browning* pada eksplan bambu di dalam media pertumbuhan sudah dilakukan oleh Furlan *et al* (2018) dan Huang *et al* (2002). Akan tetapi, kurang efektif bahkan memberikan efek pertumbuhan yang rendah. Hal ini membuktikan perlakuan tunggal penggunaan senyawa *anti-browning* tidak cukup efektif, sehingga diperlukan kombinasi untuk mencegah dan menurunkan tingkat persentase *browning*.

Berdasarkan Carito *et al* (2019), kombinasi pra-perlakuan dengan pH rendah 3.5 dan 4.0, penambahan *anti-browning* asam askorbat 1 mg/L dan arang aktif 4,00 g/L pada media, serta perlakuan inkubasi kondisi gelap selama 7 HST, efektif mencegah *browning* pada eksplan biji *Eusideroxylon zwageri* dengan tingkat keberhasilan 100%. Penelitian tentang metode perlakuan yang tepat untuk mencegah *browning* pada kultur *in vitro* bambu petung (*Dendrocalamus asper*) masih belum banyak dilakukan. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh metode perlakuan penggunaan *anti-browning* yaitu asam askorbat dan arang aktif terhadap *browning* kultur *in vitro* bambu petung (*Dendrocalamus asper*) yang diinkubasi pada kondisi terang dan gelap.

1.2. Rumusan Masalah

- 1.2.1. Apakah metode pra-perlakuan dan perlakuan media pertumbuhan penggunaan asam askorbat dan arang aktif berpengaruh terhadap *browning* eksplan bambu petung (*Dendrocalamus asper*)?
- 1.2.2. Apakah konsentrasi asam askorbat dan arang aktif pada metode pra-perlakuan dan perlakuan media pertumbuhan berpengaruh terhadap *browning* eksplan bambu petung (*Dendrocalamus asper*)?
- 1.2.3. Apakah inkubasi kondisi terang dan gelap pada metode pra-perlakuan dan perlakuan media pertumbuhan penggunaan asam askorbat dan arang aktif berpengaruh terhadap *browning* eksplan bambu petung (*Dendrocalamus asper*)?
- 1.2.4. Apakah kombinasi metode pra-perlakuan dan perlakuan media pertumbuhan penggunaan asam askorbat dan arang aktif berpengaruh terhadap *browning* eksplan bambu petung (*Dendrocalamus asper*)?

1.3. Tujuan

- 1.3.1. Mengetahui metode pra-perlakuan dan perlakuan media pertumbuhan penggunaan asam askorbat dan arang aktif berpengaruh terhadap *browning* eksplan bambu petung (*Dendrocalamus asper*)
- 1.3.2. Mengetahui konsentrasi asam askorbat dan arang aktif pada metode pra-perlakuan dan perlakuan media pertumbuhan berpengaruh terhadap *browning* eksplan bambu petung (*Dendrocalamus asper*)
- 1.3.3. Mengetahui inkubasi kondisi terang dan gelap pada metode pra-perlakuan dan perlakuan media pertumbuhan penggunaan asam askorbat dan arang aktif berpengaruh terhadap *browning* eksplan bambu petung (*Dendrocalamus asper*)
- 1.3.4. Mengetahui kombinasi metode pra-perlakuan dan perlakuan media pertumbuhan penggunaan asam askorbat dan arang aktif berpengaruh terhadap *browning* eksplan bambu petung (*Dendrocalamus asper*).

1.4. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini bermanfaat untuk mengetahui metode yang efektif penggunaan *anti-browning* yaitu asam askorbat dan arang aktif untuk dapat menurunkan persentase tingkat *browning* yang sering terjadi pada tahap inisiasi kultur *in vitro* bambu petung (*Dendrocalamus asper*). Hal ini dapat memberikan informasi ilmiah dan solusi sebagai upaya untuk menurunkan persentase tingkat *browning*, sehingga dapat meningkatkan perbanyakan kultur *in vitro* bambu petung (*Dendrocalamus asper*).

BAB V

PENUTUP

5.1. Simpulan

- 5.1.1. Metode pra-perlakuan mampu menekan hari munculnya *browning* pada inkubasi kondisi gelap yaitu 12 HST, dibandingkan metode media pertumbuhan yaitu 6 HST. Metode media pertumbuhan menurunkan persentase tingkat *browning* sebesar 14% dibandingkan dengan metode pra-perlakuan sebesar 19%.
- 5.1.2. Asam askorbat 200 mg/L dan arang aktif 0,5 g/L merupakan konsentrasi optimal (metode pra-perlakuan dan media pertumbuhan) untuk menurunkan persentase tingkat *browning* pada eksplan bambu petung, dibandingkan dengan kontrol.
- 5.1.3. Kondisi gelap menghasilkan persentase tingkat *browning* terendah pada semua perlakuan dibandingkan kondisi terang.
- 5.1.4. Asam askorbat 150 mg/L dan arang aktif 0,5 g/L merupakan konsentrasi optimal pada kombinasi metode dengan persentase tingkat *browning* sebesar 11% pada kondisi gelap dan 14% pada kondisi terang

5.2. Saran

- 5.2.1. Disarankan penggunaan *anti-browning* asam askorbat digunakan pada perendaman eksplan, dan arang aktif digunakan di dalam media pertumbuhan untuk menurunkan persentase tingkat *browning* pada eksplan bambu petung (*Dendrocalamus asper*).
- 5.2.2. Disarankan adanya perlakuan variasi waktu perendaman asam askorbat pada eksplan bambu petung (*Dendrocalamus asper*).
- 5.2.3. Disarankan melakukan optimasi sterilisasi yang dapat menekan kontaminasi dan menurunkan persentase tingkat *browning* pada eksplan bambu petung (*Dendrocalamus asper*).

DAFTAR PUSTAKA

- Abbasi, N. A., Akhtar, A., Hussain, A., & Ali, I. (2013). Effect of anti-browning agents on quality changes of loquat [*Eriobotrya Japonica* (Thunb.) Lindley] fruit after harvest. *Pakistan Journal of Botany*, 45(4), 1391–1396.
- Admojo, L., Indrianto, A. (2016). Pencegahan Browning Fase Inisiasi Kalus pada Kultur Midrib Daun Klon Karet (*Hevea brasiliensis*) PB 330. *Indonesian Journal of Natural Rubber Research*.
- Altunkaya, A., & Gökmen, V. (2008). Effect of various inhibitors on enzymatic browning, antioxidant activity and total phenol content of fresh lettuce (*Lactuca sativa*). *Food Chemistry*, 107(3), 1173–1179. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.09.046>
- Andi Nugroho, S. (2020). Analisis Kandungan Asam Askorbat Pada Tanaman Kangkung (*Ipomoea Reptana* Poir), Bayam (*Amaranthus Spinosus*), dan Ketimun (*Cucumis Sativus* L.). *Jurnal Tambora*, 4(1), 26–31. <https://doi.org/10.36761/jt.v4i1.567>
- Anggraeni, T. D. A., Sulistyowati, E., & Purwati, R. D. (2016). Pengaruh Komposisi Media dan Sumber Eksplan Terhadap Induksi Kalus, Perkecambahan, dan Pertumbuhan Tunas Embrio Somatik Jarak Pagar. *Buletin Tanaman Tembakau, Serat & Minyak Industri*. <https://doi.org/10.21082/bultas.v4n2.2012.76-84>
- Ardiansyah, R., Supriyanto, Wulandari, A. S., Subandy, B., & Yuli Fitriani. (2014). TEKNIK STERILISASI EKSPLAN DAN INDUKSI TUNAS DALAM MIKROPROPAGASI TEMBESU (*Fagraea fragrans* ROXB). *Jurnal Silvikultur Tropika*, 5(3), 167–173.
- Arpita, S., Subroto, D., Pinaki, B., & Bidyut, B. (2010). Inhibition of Polyphenol Oxidase in Banana , Apple and Mushroom By Using Different Anti- Browning Agents Under Different Conditions. *International Journal of Chem*, 8(5), 550–558.
- Astuti, P. (2014). Induksi Tunas dan Perakaran Bambu Kuning *Bambusa vulgaris* secara in vitro. *Biogenesis: Jurnal Ilmiah Biologi*, 2(2), 109–114. <https://doi.org/10.24252/bio.v2i2.476>
- Carito, T., Sulistiawati, S., & Nirmala, R. (2019). Metode Mengatasi Browning pada Eksplan Ulin (*Eusideroxylon zwageri*) untuk Inisiasi Regenerasi Secara In Vitro. *Jurnal Agroekoteknologi Tropika Lembab*, 1(2), 106. <https://doi.org/10.35941/jatl.1.2.2019.1972.106-113>
- Chaowana, P. (2013). Bamboo: An Alternative Raw Material for Wood and Wood-Based Composites. *Journal of Materials Science Research*, 2(2). <https://doi.org/10.5539/jmsr.v2n2p90>
- Chen, C.-C., Bates, R., & Carlson, J. (2014). Effect of environmental and cultural conditions in medium pH and plant growth performance of Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii*) shoot culture. *F1000Research*, 3(0), 298. <https://doi.org/10.12688/f1000research.5919.1>
- Das, P., & Srivastav, A. K. (2007). To Study the Effect of Activated Charcoal, Ascorbic Acid and Light Duration on InVitro Micropropagation of Aloe vera L. *International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology (An ISO Certified Organization)*, 3297(5), 3131–3138. <https://doi.org/10.15680/IJIRSET.2015.0405091>

- Davies, P. J. (2003). Natural Growth Inhibitors and Phytohormones in Plants and Environment, By V.I. Kefeli and M.V. Kalevitch, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, March 2003, ISBN: 1402010699, hbk, €120.00. *Plant Science*. [https://doi.org/10.1016/s0168-9452\(03\)00325-x](https://doi.org/10.1016/s0168-9452(03)00325-x)
- Dumas, E., & Monteuuis, O. (1995). In vitro rooting of micropropagated shoots from juvenile and mature *Pinus pinaster* explants: influence of activated charcoal. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. <https://doi.org/10.1007/BF00048128>
- Elmore, H. W., Samples, B., Sharma, S., & Harrison, M. (1990). Influence of cultural and physiochemical factors on ascorbate stability in plant tissue culture media. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 20(2), 131–135. <https://doi.org/10.1007/BF00114711>
- Esmail, A. L. G., Haggag, L. F., Barakat, M. N., Farag, K. M., Zayed, N. S., & Amira, A. (2014). Direct Effect of Medium Types , Explant Type and Antioxidant Treatments on Micropropagation of *Pyrus " Lecont "*. 3(3), 618–622.
- Furlan, F. C., Gavilan, N. H., Zorz, A. Z., de Oliveira, L. S., Konzen, E. R., & Brondani, G. E. (2018). Active chlorine and charcoal affect the in vitro culture of *Bambusa vulgaris*. *Bosque*, 39(1), 61–70. <https://doi.org/10.4067/S0717-92002018000100061>
- George, E. F., Hall, M. A., & Klerk, G. J. De. (2008). The components of plant tissue culture media II: Organic additions, osmotic and ph effects, and support systems. *Plant Propagation by Tissue Culture 3rd Edition*, 1(1962), 115–173. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-5005-3_4
- Hajoeningtijas, A. S. dan O. D. (2010). PENGARUH STERILAN DAN WAKTU PERENDAMAN PADA EKSPLAN DAUN KENCUR (*Kaemferia galanga* L) UNTUK MENINGKATKAN KEBERHASILAN KULTUR KALUS. XII(1), 11–29.
- Huang, L. C., Lee, Y. L., Huang, B. L., Kuo, C. I., & Shaw, J. F. (2002). High polyphenol oxidase activity and low titratable acidity in browning bamboo tissue culture. *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant*, 38(4), 358–365. <https://doi.org/10.1079/IVP2002298>
- Hutami, S. (2016). ULASAN Masalah Pencoklatan pada Kultur Jaringan. *Jurnal AgroBiogen*, 4(2), 83. <https://doi.org/10.21082/jbio.v4n2.2008.p83-88>
- Ioannou, I., & Ghoul, M. (2013). Prevention of Enymatic Browning in Fruit and Vegetables. *European Scientific Journal*.
- Jakoni, E. (2015). STERILISASI EKSPLAN DAN SUB KULTUR ANGGREK , SIRIH MERAH DAN KRISAN PADA PERBANYAKAN TANAMAN SECARA IN VITRO Eksplant Sterilization and Sub-Culture for Orchid , Red Betel Vine and Krisan on Perbanyakan Tanaman Secara In Vitro. XXX, 117–124.
- Jiménez, V. M., & Guevara, E. (2007). Micropropagation of bamboo species through axillary shoot proliferation. In *Protocols for Micropropagation of Woody Trees and Fruits*. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-6352-7_43
- Jones, O. P. (1985). Plant propagation by tissue culture. *Scientia Horticulturae*. [https://doi.org/10.1016/0304-4238\(85\)90041-x](https://doi.org/10.1016/0304-4238(85)90041-x)

- Kurniasari, I. S. M. (2018). PENINGKATAN PEMBENTUKAN KALUS *Rhynchosyilis retusa* MELALUI PERENDAMAN EKSPLAN DAUN DALAM VITAMIN C DAN PENAMBAHAN. *Jurnal Prodi Biologi*, 07, 255–261.
- Mainaki Revi, Z. R. (2020). Pemanfaatan Keanekaragaman Bambu Secara Hidrologis, Ekonomis, Sosial dan Pertahanan. *Geodika: Jurnal Kajian Ilmu Dan Pendidikan Geografi*, 4(1), 44–54. <https://doi.org/10.29408/geodika.v4i1.1951>
- Manjula, S., Thomas, A., Daniel, B., & Nair, G. M. (1997). In vitro plant regeneration of *Aristolochia indica* through axillary shoot multiplication and organogenesis. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 51(2), 145–148. <https://doi.org/10.1023/A:1005978125424>
- Mardiah, E. (2015). Mekanisme Inhibisi Enzim Polifenol Oksidase Pada Sari Buah Markisa Dengan Sistein Dan Asam Askorbat1. *Jurnal Riset Kimia*, 4(2), 32. <https://doi.org/10.25077/jrk.v4i2.126>
- Ndakidemi, C. F., Mneney, E., & Ndakidemi, P. A. (2014). Effects of Ascorbic Acid in Controlling Lethal Browning in Vitro Culture of *Brahylaena huillensis* Using Nodal Segments. *American Journal of Plant Sciences*, 05(01), 187–191. <https://doi.org/10.4236/ajps.2014.51024>
- Nguyen, T. Van, Thanh Thu, T., Claeys, M., & Angenon, G. (2007). Agrobacterium-mediated transformation of sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) using an improved in vitro regeneration system. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 91(2), 155–164. <https://doi.org/10.1007/s11240-007-9228-1>
- Nofiyanto, R. T., Kusmiyati, F., & Karno, K. (2019). Peningkatan kualitas planlet tanaman pisang raja bulu (*Musa paradisiaca*) dengan penambahan bap dan iaa pada media pengakaran kultur in vitro. *Journal of Agro Complex*. <https://doi.org/10.14710/joac.3.3.132-141>
- Oratmangun, K. M., Pandiangana, D., & Kandou, F. . (2017). Deskripsi Kontaminan. *Jurnal Mipa Unsrat Online*, 6(1), 47–52.
- Pan, M. J., & Van Staden, J. (1998). The use of charcoal in in vitro culture - A review. *Plant Growth Regulation*. <https://doi.org/10.1023/A:1006119015972>
- pratiwi, revina syahdewi. (2015). Pengaruh Lama Penyinaran Dan Komposisi Media Terhadap Mikropropagasi Tanaman Karet (*Hevea Brasiliensis* Muell. Arg.). *Agroekoteknologi*, 4(1), 1762–1767. <https://doi.org/10.32734/jaet.v4i1.12347>
- Qisheng, Z., Shenxue, J., & Yongyu, T. (1980). *INDUSTRIAL* (Issue 26).
- Queiroz, C., Mendes Lopes, M. L., Fialho, E., & Valente-Mesquita, V. L. (2008). Polyphenol oxidase: Characteristics and mechanisms of browning control. *Food Reviews International*. <https://doi.org/10.1080/87559120802089332>
- Rahmawati, L., & Lukmana, M. (2019a). PENGARUH LAMA PERENDAMAN STERILISASI EKSPLAN DAUN KARET (*Hevea brasiliensis*) SECARA IN VITRO (The Effects Of Sterilize Soaking Time Of Rubber Leaf (*Hevea Brasiliensis*) In In Vitro) Linda Rahmawati dan Mila Lukmana. *Ziraa 'Ah*, 44(3), 301–308.

- Rahmawati, L., & Lukmana, M. (2019b). PENGARUH LAMA PERENDAMAN STERILISASI EKSPLAN DAUN KARET (*Hevea brasiliensis*) SECARA IN VITRO. *Ziraa 'Ah Majalah Ilmiah Pertanian*, 44(3), 301. <https://doi.org/10.31602/zmip.v44i3.1783>
- Ray, S. S., & Ali, N. (2018). Biotic Contamination and Possible Ways of Sterilization: A Review with Reference to Bamboo Micropropagation. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 60(0), 1–12. <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2016160485>
- Refiadi, G., Bayu, N., Judawisastira, H., & Mardiyati, M. (2018). Serat Bambu Petung (*Dendrocalamus asper*) Teralkalisasi sebagai Penguat Komposit Polimer. *JURNAL SELULOSA*. <https://doi.org/10.25269/jsel.v1i01.214>
- Sary, N., Fahrizal, & Yani, A. (2018). Jenis Bambu Di Hutan Tembawang Desa Suka Maju Kecamatan Sungai Betung Kabupaten Bengkayang. *Jurnal Hutan Lestari*.
- Shinta, D. (2017). PENGARUH BAP DAN KINETIN TERHADAP PERTUMBUHAN TUNAS PISANG BARANGAN (*Musa paradisiaca* L.) SECARA IN VITRO. 31.
- Sinha, P., & Jahan, M. (1970). Clonal Propagation of *Phalaenopsis amabilis* (L.) BL. cv. "Golden Horizon" Through *In vitro* Culture of Leaf Segments. *Bangladesh Journal of Scientific and Industrial Research*, 46(2), 163–168. <https://doi.org/10.3329/bjsir.v46i2.8182>
- Sugesty, S., Kardiansyah, T., & Hardiani, H. (2015). Bamboo as Raw Materials for Dissolving Pulp with Environmental Friendly Technology for Rayon Fiber. *Procedia Chemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.proche.2015.12.122>
- Sujarwo, W., Arinasa, I. B. K., & Peneng, I. N. (2010). INVENTARISASI JENIS-JENIS BAMBU YANG BERPOTENSI SEBAGAI OBAT DI KABUPATEN KARANGASEM BALI. In *Buletin Kebun Raya*.
- Sulistiyo, R. H., Luthfiyyah, Z., Susilo, B., Dalimartha, L. N., Wiguna, eko C., Yuliana, N., & Pasetyo, E. N. (2018). Pengaruh Teknik Sterilisasi dan Komposisi Medium terhadap Pertumbuhan Tunas Eksplan Sirsak Ratu. *Jurnal Pendidikan Biologi*, 11(1), 1–5.
- Sutiyono, M. W. (2011). KARAKTERISTIK TANAMAN BAMBU PETUNG (*Dendrocalamus asper* Back.) DI DATARAN RENDAH DI DAERAH SUBANG, JAWA BARAT. *Seminar Nasional VIII Pendidikan Biologi* 15, 000, 16–34. <http://jurnal.fkip.uns.ac.id/index.php/prosbio/article/download/748/416>
- Tabiyeh, D. T., Bernard, F., & Shacker, H. (2006). Investigation of glutathione, salicylic acid and GA3 effects on browning in *Pistacia vera* shoot tips culture. *Acta Horticulturae*. <https://doi.org/10.17660/actahortic.2006.726.31>
- Tao, F. J., Zhang, Z. Y., Zhou, J., Yao, N., & Wang, D. M. (2007). Contamination and browning in tissue culture of *Platanus occidentalis* L. *Forestry Studies in China*, 9(4), 279–282. <https://doi.org/10.1007/s11632-007-0044-9>
- Thakur, R., & Sood, A. (2006). An efficient method for explant sterilization for reduced contamination. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 84(3), 369–371. <https://doi.org/10.1007/s11240-005-9034-6>
- Thomas, T. D. (2008). The role of activated charcoal in plant tissue culture. *Biotechnology*

- Advances*, 26(6), 618–631. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2008.08.003>
- Vatandoost, S., Davarynejad, G., Tehranifar, A., & Kaveh, H. (2013). *Reducing browning problem in micropropagation of three pear cultivars, “Sebri”, “shekari” and “natanz.”* January 2014, 3–6.
- Veltman, R. H., & Peppelenbos, H. W. (2003). A proposed mechanism behind the development of internal browning in pears (*pyrus communis* cv conference). *Acta Horticulturae*. <https://doi.org/10.17660/actahortic.2003.600.32>
- Verma, P., & Mishra, N. (2018). *A REVIEW IN VITRO REGENERATION OF BAMBOO PLANTS BY Index Terms - Bamboo Plants ; In Vitro Regeneration ; Plant Tissue Culture Techniques . The main objective here is to successfully and aseptically transfer the explants into culture medium and then.* 4.
- Wardhani, D. (2016). Natrium Metabisulfit Sebagai Anti-Browning Agent Pada Pencoklatan Enzimatis Rebung Ori (*Bambusa Arundinacea*). *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 5(4), 140–145. <https://doi.org/10.17728/jatp.202>
- Weller, A., Sims, C. A., Matthews, R. F., Bates, R. P., & Brecht, J. K. (1997). Browning susceptibility and changes in composition during storage of carambola slices. *Journal of Food Science*, 62(2), 256–260. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1997.tb03980.x>
- Zhan, L., Hu, J., Pang, L., Li, Y., & Shao, J. (2014). Light exposure reduced browning enzyme activity and accumulated total phenols in cauliflower heads during cool storage. *Postharvest Biology and Technology*, 88(95), 17–20. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2013.09.006>