

Identifikasi Bakteri Kontaminan Pada Kultur Jaringan Bambu Jenis *Fargesia scabrida*

Erna Wulandari, S.Si., M.Sc.

Program Studi Pendidikan Biologi, UIN Sunan Kalijaga, Indonesia

Jl. Marsda Adi Sucipto, Yogyakarta 55281

Email : erna.wulandari@uin-suka.ac.id

Abstrak

Mikrobia kontaminan merupakan permasalahan yang umum dijumpai dalam kultur jaringan tumbuhan. Bakteri merupakan salah satu jenis mikrobia yang menjadi kontaminan dalam kultur jaringan tumbuhan. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengetahui keanekaragaman bakteri kontaminan kultur jaringan bambu jenis *Fargesia scabrida*. Pada penelitian ini dilakukan isolasi bakteri, karakterisasi fenotipik meliputi morfologi, pengujian fisiologi, uji biokimiawi, identifikasi, dan analisis numerik fenetik. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa diperoleh 7 isolat bakteri. Berdasarkan profile matching menggunakan Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 1 isolat termasuk dalam genus *Bacillus*, 1 isolat *Listeria*, 2 isolat *Erwinia*, 2 isolat *Lactobacillus*, dan 1 isolat termasuk dalam genus *Klebsiella*. Dendogram yang dihasilkan dari parameter Simple Matching coefficient (SSM) dengan menggunakan algoritma average linkage diketahui bahwa pada nilai similaritas 70%, terbagi menjadi 5 klaster. Sedangkan dendogram yang dihasilkan dari parameter SJ dengan menggunakan average linkage/UPGMA pada nilai similaritas 70% 7 OTU terbagi dalam 7 klaster.

Kata kunci: Kultur jaringan; Kontaminan; Bakteri; Sistematika

Abstract

Contaminant microbes are a common problem in plant tissue culture. Bacteria is a type of microbial that becomes a contaminant in plant tissue culture. This study aims to isolate and determine the diversity of bacterial contaminants of *Fargesia scabrida* bamboo tissue culture. In this study, bacterial isolation, phenotypic characterization included morphology, physiological tests, biochemical tests, identification, and phenetic numerical analysis were carried out. The results of this study indicated that 7 bacterial isolates were obtained. Based on profile matching using Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 1 isolate belongs to the genus *Bacillus*, 1 isolate belongs to *Listeria*, 2 isolates *Erwinia*, 2 isolates *Lactobacillus*, and 1 isolate belongs to the genus *Klebsiella*. The dendogram generated from the Simple Matching coefficient (SSM) parameter using the average linkage algorithm shows that at a similarity value of 70%, it is divided into 5 clusters. While the dendrogram generated from the SJ parameters using the average linkage/UPGMA at a similarity value of 70% 7 OTUs are divided into 7 clusters.

Keywords: Plant tissue isolation method; Contaminants; Bacteria; Systematics

I. Pendahuluan

Teknik menumbuhkan sel, jaringan, dan organ tumbuhan pada media cair maupun media padat yang mengandung nutrisi pada kondisi aseptik disebut dengan kultur jaringan tumbuhan (Devi & Srinivasan, 2006). Perbanyak tanaman melalui teknik

tersebut lebih ekonomis karena mampu menghasilkan bibit tanaman dalam jumlah yang banyak dalam waktu relatif singkat. Keberhasilan teknik kultur jaringan tumbuhan dipengaruhi oleh berbagai macam faktor, antara lain : kondisi bahan, peralatan, dan ruang steril, unsur hara mikro dan makro, sumber eksplant, pemberian zat pengatur tumbuh (ZPT). Hal terpenting dan perlu diperhatikan dalam kultur jaringan ialah teknik aseptik karena kultur jaringan dikatakan berhasil jika bebas dari semua mikroorganisme patogen yang menginfeksi (Wakil & Mbah, 2012).

Bambu merupakan salah satu jenis tumbuhan yang dapat diperbanyak dengan metode kultur jaringan tumbuhan. Permintaan bambu di luar negeri sangat banyak, sehingga bambu diperbanyak dengan metode kultur jaringan. Bambu yang di ekspor ke luar negeri bukan dalam bentuk gelondongan tetapi dalam bentuk tanaman yang masih kecil karena mempermudah dalam pengiriman ke luar negeri. Salah satu jenis bambu yang dikulturkan ialah *Fargesia scabrida*.

Bakteri merupakan salah satu jenis mikrobial yang biasanya menjadi kontaminan pada kultur jaringan tumbuhan (Barbara & Piyarak, 1995). Produksi kultur jaringan menurun akibat tumbuhan kultur terkontaminasi dengan bakteri (Long et al., 1988; Leifert, 1990) karena bakteri akan membusukkan akar, memperlambat perbanyakan tumbuhan, bahkan membuat tumbuhan mati (Leifert et al., 1989;1992). Bakteri yang mengkontaminasi kultur jaringan tumbuhan antara lain : *Lactobacillus plantarum*, *Xanthomonas*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Micrococcus*, *Agrobacterium*, *Arthrobacter*, *Enterobacter* (Bastiaens, 1983), *Burkholderia*, *Luteibacter*, (Kotiranta et al., 2000; Coenye & Vandamme, 2003; Johansen et al., 2005; Janssen, 2006; Compant et al., 2008), *Bacillus* (Bastiaens, 1983; Kotiranta et al., 2000; Coenye & Vandamme, 2003; Johansen et al., 2005; Devi, 2006; Janssen, 2006; Compant et al., 2008) *Pseudomonas* (Bastiaens, 1983; Devi, 2006), *Serratia*, *Staphylococcus* (Devi, 2006), dan *Mycobacterium Scrofulaceum* (Taber, et al., 1991). Bakteri kontaminan dapat bersumber dari teknik sterilisasi alat, media, maupun eksplan yang kurang tepat; ruang kerja; kurangnya teknik aseptik; operator; maupun dari eksplan (adanya bakteri endofit dan epifit) (Buckley et al., 1995).

Sejauh ini di Indonesia baru sedikit penelitian mengenai jenis-jenis bakteri yang mengkontaminasi kultur jaringan bambu jenis *Fargesia scabrida*. Pada penelitian ini akan dilakukan karakterisasi dan identifikasi bakteri kontaminan pada kultur jaringan bambu jenis *Fargesia scabrida* agar dapat diketahui jenis-jenis bakteri kontaminan pada kultur jaringan bambu jenis *Fargesia scabrida*.

II. Bahan dan Metode

Sampel yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari Perusahaan Kultur Jaringan Bambu, PT Bambu Nusa Verde yang beralamat di Hardjobinangun, Pakem, Sleman, Yogyakarta. Sampel yang diteliti pada penelitian ini yaitu kultur jaringan bambu yang mengalami kontaminasi yang ditanam pada media cair sebanyak 4 botol kultur bambu jenis *Fargesia scabrida*. Sampel cair diambil 1 ml sampel, diencerkan dengan larutan ringer sampai pengenceran 10^{-8} . Sampel yang ditanam untuk isolasi bakteri dari pengenceran 10^{-1} sampai 10^{-8} masing-masing sebanyak 3 ulangan. Isolasi bakteri kontaminan dengan medium *Nutrient Agar Plate* menggunakan metode *spread plate*. Purifikasi bakteri menggunakan metode *streak plate* sehingga diperoleh kultur murni. Karakterisasi Isolat bakteri meliputi pengamatan morfologi sel untuk semua isolat dengan menggunakan metode pengecatan gram Hans Christian Gram. Untuk isolat gram positif

dilanjutkan dengan pengecatan spora menggunakan metode Schaeffer-Fulton. Pengamatan morfologi koloni semua isolat dengan menanam isolat pada medium agar *plate*, agar tegak, dan agar miring. Uji kebutuhan oksigen isolat dengan menanam isolat pada medium *nutrient broth*. Uji katalase, motilitas, produksi H₂S, dan *indole* dengan medium SIM (*Sulfur Indole Motility*). Uji Simmon's Citrate, hidrolisis pati, hidrolisis gelatin, hidrolisis urea, MR-VP (Metil Red dan Voges-Proskauer), reduksi nitrat, dan fermentasi karbohidrat meliputi glukosa, sukrosa, laktosa, galaktosa, fruktosa, maltosa, dan mannitol. Uji pengaruh temperatur, kadar garam, dan pH terhadap pertumbuhan isolat bakteri. Identifikasi isolat bakteri dengan metode *profil matching* dengan sifat biokimia masing-masing genus acuan sesuai *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Analisis Data untuk Klasifikasi Numerik-Fenetik dengan menggunakan program Ms.Excel, Notepad, PFE, dan MVSP 3.1 (Goodfellow, 2000).

III. Hasil dan Pembahasan

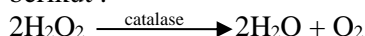
Pada semua sampel, media berubah menjadi keruh, berbau asam sampai busuk, dan terdapat biofilm di permukaan medium. Aroma sampel yang berbau busuk mengindikasikan adanya mikrobia pengoksidasi sulfur. Pada penelitian ini diperoleh 7 isolat bakteri kontaminan. Masing-masing isolat diberi nama FS 1, FS 2, FS 3, FS 4, FS 5, FS 6, dan FS 7. Karakter morfologi isolat bakteri yang ditemukan ada pada Tabel 1 berikut ini :

Tabel 1. Karakter Morfologi Isolat Bakteri

No	Karakter	FS 1	FS 2	FS 3	FS 4	FS 5	FS 6	FS 7
Morfologi Sel								
Pengecatan Gram								
1	Gram Positif	+	+	-	+	+	-	-
2	Gram Negatif	-	-	+	-	-	+	+
Bentuk Sel								
3	Batang	+	+	+	+	+	-	-
4	Batang Pendek	-	-	-	-	-	-	-
5	Coccus	-	-	-	-	-	+	+
Pengecatan Spora								
6	Berspora	-	-	-	-	+	-	-
7	Tidak Berspora	+	+	+	+	-	+	+
Bentuk Pertumbuhan Koloni								
8	Pertumbuhan lebat di permukaan	+	-	-	-	+	-	-
9	Pertumbuhan lebat di dasar	-	-	-	-	-	-	-
10	Pertumbuhan merata sepanjang tusukan	-	+	+	+	-	+	+
Uji biokimiawi								
11	Motilitas	+	+	+	+	+	-	+
12	Simmon's citrate	-	-	-	-	-	-	-
13	Produksi H ₂ S	-	-	-	-	-	-	-
14	Hidrolisis pati	+	+	-	-	+	+	+
15	Katalase	-	-	+	+	+	+	+
16	Indole	-	-	-	-	+	-	-
17	Metyl Red (MR)	-	+	-	-	-	-	-
18	Voges Proskauer (VP)	-	-	-	-	-	-	-
19	Hidrolisis gelatin	+	+	-	+	-	-	-
20	Hidrolisis urea	+	+	+	+	+	+	+
21	Reduksi nitrat	-	-	-	-	-	-	-

Pengaruh temperatur								
22	-4 derajat celcius	+	+	-	+	-	-	-
23	4-5 derajat celcius	+	+	-	+	-	-	+
24	25 derajat celcius	+	+	+	+	+	+	+
25	37 derajat celcius	+	+	+	+	+	+	+
26	75 derajat celcius	-	+	-	-	-	+	-
Pengaruh pH								
27	pH 3	-	-	-	-	-	-	-
28	pH 5	-	+	-	-	-	-	-
29	pH 7	+	+	+	+	+	+	+
30	pH 9	-	-	-	-	-	-	-
31	pH 11	-	-	-	-	-	-	-
Pengaruh kadar garam								
32	0,5 %	+	+	+	+	+	+	+
33	1%	+	+	+	+	+	+	+
34	3%	+	+	-	+	+	+	+
35	5%	+	+	-	+	+	+	+
36	7%	-	-	-	-	+	+	+
37	9%	-	-	-	-	+	+	-
38	11%	-	-	-	-	-	-	-
39	13%	-	-	-	-	-	-	-
40	15%	-	-	-	-	-	-	-

Isolat yang ditemukan sebanyak 7 isolat, 3 isolat merupakan bakteri gram negatif, sedangkan 4 isolat termasuk bakteri gram positif. Selanjutnya semua isolat bakteri gram positif dicat spora untuk mengetahui apakah bakteri tersebut mempunyai spora atau tidak. Hasil pengecatan spora menunjukkan bahwa 1 isolat bakteri mempunyai spora sedangkan 6 isolat tidak berspora (Madigan *et al.*, 2012). Berdasarkan kebutuhan oksigen, sebanyak 2 isolat termasuk bakteri aerob sedangkan 5 isolat bakteri termasuk bakteri fakultatif anaerob. Kebanyakan bakteri kontaminan termasuk bakteri fakultatif anaerob karena kelompok bakteri ini bisa menyesuaikan diri dengan kadar oksigen yang tersedia di lingkungannya. Pada uji kemampuan penggunaan sitrat sebagai sumber karbon semua isolat menunjukkan hasil negatif. Hasil uji motilitas 6 isolat termasuk bakteri motil dan 1 isolat termasuk bakteri non motil. Uji katalase 2 isolat negatif, sedangkan 5 isolat positif. Hal ini menunjukkan bahwa isolat tersebut mempunyai enzim katalase yang bisa mendegradasi hidrogen peroksida menjadi oksigen dan air dengan reaksi sebagai berikut :



Berdasarkan uji pengaruh temperatur terhadap pertumbuhan bakteri hanya isolat FS 2 yang mampu tumbuh pada semua suhu yang diujikan yaitu dari suhu -4 °C, 4-5 °C, 25 °C, 37 °C, dan 75 °C. Isolat lain termasuk bakteri mesofil karena tumbuh optimal pada suhu antara 20 °C sampai 50 °C. Rentang suhu tersebut memang merupakan suhu yang optimal bagi pertumbuhan sebagian besar bakteri patogen yaitu suhu antara 35 °C sampai 40 °C. Pada uji pengaruh pH semua isolat dapat tumbuh pada pH 7. Bakteri yang dapat tumbuh pada pH 7 atau pH yang mendekati 7 disebut dengan *neutrophiles*. Pada uji pengaruh kadar garam terhadap pertumbuhan, semua bakteri mampu bertahan pada kadar garam 0,5 % dan 1%. Semakin tinggi kadar garam semakin sedikit jumlah bakteri yang mampu tumbuh.

Setelah semua isolat dikarakterisasi, selanjutnya dilakukan identifikasi. Identifikasi isolat bakteri kontaminan pada kultur bambu dilakukan menggunakan metode *profile matching* dengan mengacu karakter kunci pada *Bergey's Manual Of Determinative Bacteriology* (Holt *et al.*, 1994) untuk mengetahui bakteri kontaminan pada kultur bambu tersebut termasuk dalam genus apa. Setelah mengetahui genus isolat kontaminan kultur bambu, kita dapat mengetahui habitat masing-masing genus sehingga bisa mengetahui langkah-langkah untuk mengurangi kontaminasi bakteri pada kultur jaringan bambu. Hasil *profile matching* menunjukkan bahwa Isolat FS 5 termasuk

dalam genus *Bacillus*, Isolat FS 3 dan FS 7 termasuk dalam genus *Erwinia*, Isolat FS 4 termasuk dalam genus *Listeria*, Isolat FS 1 dan FS 2 termasuk dalam genus *Lactobacillus*, dan Isolat FS 6 termasuk dalam genus *Klebsiella*. Beberapa genus tersebut memang merupakan bakteri kontaminan pada kultur jaringan tumbuhan antara lain : *Lactobacillus plantarum*, *Erwinia* (Bastiaens, 1983), *Bacillus* (Bastiaens, 1983; Kotiranta *et al.*, 2000; Coenye & Vandamme, 2003; Johansen *et al.*, 2005; Devi, 2006; Janssen, 2006; Compant *et al.*, 2008), *Klebsiella* (Leifert *et al.*, 1994).

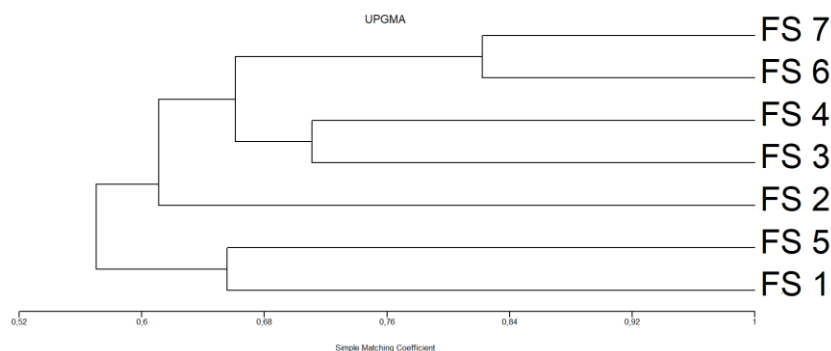
Bakteri dari genus *Bacillus* menjadi salah satu bakteri kontaminan pada berbagai macam kultur jaringan tumbuhan karena sel *Bacillus* menghasilkan endospora yang bisa tahan pada suhu 100 °C atau lebih dan sangat tahan terhadap desinfektan seperti alkohol, hipoklorit, dan merkuri klorida (Claus & Berkeley, 1986; Kunnemann & Faaji-Groenen, 1988). *Bacillus* diketahui dapat bertahan hidup saat proses autoklaf media terutama media yang dituang ke dalam Erlenmeyer sebelum di autoklaf (Triik & Lingens, 1985; Boxus & Terzi, 1987). Biasanya media untuk kultur jaringan ada yang diautoklaf dengan waktu yang paling singkat untuk sterilisasi sehingga suhu yang diperlukan belum cukup panas untuk membunuh spora *Bacillus*. Oleh karena itu, *Bacillus spp* yang sudah masuk ke dalam media tidak mati (Leifert *et al.*, 1991; Leifert *et al.*, 1994).

Isolat FS 6 termasuk genus *Klebsiella* dengan karakter kunci: berbentuk batang, gram negatif, non motil, fakultatif anaerob, katalase positif, tidak dapat memproduksi H₂S, dan bisa mereduksi nitrat. *Klebsiella* diketahui merupakan salah satu bakteri kontaminan pada kultur jaringan *Delphinium* (Leifert *et al.*, 1994). Beberapa spesies *Klebsiella* bersifat patogen pada manusia (Holt *et al.*, 1994), oleh karena itu bisa saja sumber kontaminan *Klebsiella* dari operator. Isolat FS 4 termasuk dalam genus *Listeria* dengan karakter kunci : berbentuk batang pendek, gram positif, tidak membentuk spora, motil, fakultatif anaerob, dan katalase positif. *Listeria* banyak tersebar di lingkungan, ada yang menginfeksi hewan, beberapa menginfeksi manusia, beberapa spesies bahkan bersifat patogen pada manusia dan hewan (Holt *et al.*, 1994). Kemungkinan *Listeria* dibawa oleh manusia atau hewan.

Isolat yang termasuk dalam genus *Erwinia* yaitu FS 3 & FS 7 dengan karakter kunci : berbentuk batang, gram negatif, motil, fakultatif anaerob, katalase positif, kebanyakan tidak bisa mereduksi nitrat, bisa memfermentasi fruktosa dan galaktosa dengan memproduksi asam tetapi tanpa gas, temperatur optimum untuk pertumbuhan 23-30 °C. *Erwinia spp* merupakan salah satu penyebar penyakit tanaman dasar, yaitu : nekrosis yang cepat, maserasi jaringan progresif yang disebut soft-rot, layunya pembuluh tanaman, dan pembentukan tumor. *Erwinia spp* banyak ditemukan pada sampel segar jaringan tumbuhan yang berpenyakit (Kado, 2006); merupakan salah satu bakteri kontaminan pada kultur jaringan bunga Iris (Leifert *et al.*, 1994), *Hibiscus cannabinus*, *Telfaria occidentalis* (Odutayo *et al.*, 2007), dan tanaman mint (Buckley *et al.*, 1995). Dua isolat yang termasuk dalam genus *Lactobacillus* yaitu FS 1 dan FS 2 dengan karakter kunci : gram positif, berbentuk batang, tidak membentuk spora, motil, katalase negatif, fakultatif anaerob, tidak dapat mereduksi nitrat, dan pertumbuhan optimal pada suhu 30-40 °C. *Lactobacillus* tersebar luas di lingkungan, khususnya pada hewan dan produk sayuran (Holt *et al.*, 1994). Salah satu bakteri latent seperti *Lactobacillus plantarum* terbukti dapat membunuh tanaman setelah subkultur berulang kali ketika tingkat kontaminasi cukup tinggi. Selain mengkontaminasi kultur jaringan bambu, *Lactobacillus plantarum* merupakan salah satu bakteri kontaminan kultur jaringan tanaman dari genus *Hemerocallis*, dan *Delphinium* (Leifert *et al.*, 1989 dalam Leifert *et al.*, 1994).

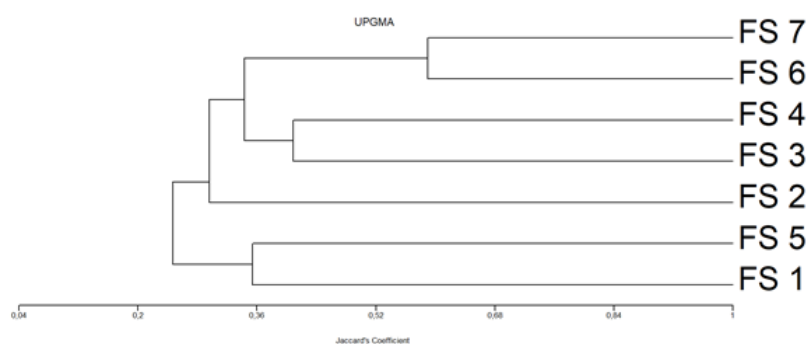
Pada karakterisasi numerik fenetik, isolat akan diklasifikasi dengan menentukan karakter fenotipiknya. Data karakter fenotipik dari 7 strain mikrobia disusun dalam suatu matriks n x t (tabel 1). Klasifikasi mikrobia dengan metode taksonomi numerik-fenetik berdasarkan data sifat fenotipik ini menggunakan dua parameter similaritas yaitu *Simple Matching coefficient* (SSM) dan *Jaccard's coefficient* (SJ) (Goodfellow *et al.*, 1993). Algoritma yang digunakan average

linked/UPGMA. Salah satu hasil analisis yang diperoleh adalah dendrogram pada gambar 2 berikut ini :



Gambar 1. Konstruksi Dendrogram Hasil Analisis Klastering Menggunakan *Simple Matching coefficient* (SSM) dengan metode algoritma average linkage/UPGMA

Taksonomi yang didasarkan atas bukti-bukti fenetik dikenal dengan taksonomi numerik-fenetik, yaitu melihat kemiripan yang diamati dan dicatat dari objek studi yang dipelajari, bukan berdasarkan kemungkinan perkembangan filogenetiknya. Dendrogram yang dihasilkan dari parameter Simple Matching coefficient (SSM) dengan menggunakan algoritma average linkage, berdasarkan matriks similaritas hasil kalkulasi SSM coefficient diketahui bahwa pada nilai similaritas 70% terdiri dari 5 kluster. Hal ini tidak sesuai dengan taxospecies concept yang menyatakan bahwa suatu spesies diartikan sebagai kumpulan strain mikrobia yang memiliki nilai similaritas $\geq 0,7$ (70%). Kluster 1 terdiri dari isolat FS 6 dan FS 7, kluster 2 terdiri dari isolat FS 3 & FS 4, kluster 3 terdiri dari isolat FS 2, kluster 4 terdiri dari isolat FS 5, dan kluster 5 terdiri dari isolat FS 1. 7 OTU baru bergabung menjadi satu kluster pada nilai similaritas 57,5%. Perbandingan hasil profile matching dan dendrogram adalah ada isolat yang 1 genus justru tidak bergabung menjadi satu kluster dengan isolat yang satu genus. Hal ini mungkin disebabkan karena perbedaan hasil pengujian selain karakter kunci. Terbentuknya dendrogram berdasarkan semua data karakter yang diujikan pada masing-masing isolat, sedangkan hasil profile matching berdasarkan karakter kuncinya saja.



Gambar 2. Konstruksi Dendrogram Hasil Analisis Klastering Menggunakan *Jaccard's Coefficient* (SJ) dengan metode algoritma average linkage/UPGMA

Dendrogram yang dihasilkan dari parameter *Jaccard's Coefficient* (SJ) dengan algoritma average linked pada gambar 2, terdapat 7 kluster pada nilai similaritas $\geq 0,7$ (70%). Pada nilai

similaritas 0.70 masing-masing isolat menjadi satu kluster. Hasil analisis klustering menggunakan SJ *coefficient* dengan metode *average linkage*/UPGMA, 7 OTU bergabung pada nilai similaritas 24%. Terdapat persamaan hasil antara dendogram SSM dan dendogram SJ yaitu strain FS 6 dan FS 7 menjadi satu kluster dengan nilai similaritas tertinggi pada masing-masing dendogram. Pada dendogram yang dihasilkan dari parameter SJ strain FS 6 dan FS 7 bergabung menjadi satu kluster pada nilai similaritas 0.56, sedangkan pada dendogram strain FS 6 dan FS 7 bergabung pada nilai similaritas 0.82. Perbedaan klasifikasi OTU dengan menggunakan *Simple Matching Coefficient* dan *Jaccard's Coefficient* dikarenakan adanya sifat *double negative* yang cukup banyak. Hasil pengujian biokimia (tabel 1) yang menunjukkan hasil negatif semua antara lain semua isolat tidak ada yang dapat menghidrolisa citrate, tidak dapat memproduksi H₂S; VP, reduksi nitrate. Selain itu, hasil positif semua ditunjukkan pada karakter kemampuan menghidrolisis urea. Karakter-karakter inilah yang menyebabkan isolat-isolat tersebut bergabung menjadi satu kluster pada dendogram SSM dan memisah (tidak bergabung menjadi satu kluster) pada dendogram SJ karena pada SJ sifat *double negative* tidak digunakan. Selain itu, adanya problem interpretasi ketika pengamatan hasil suatu reaksi yang bersifat positif lemah (*weakly positive*) dikategorikan dalam reaksi negatif atau reaksi positif. Indeks korelasi untuk Simple Matching Coefficient ialah 0.742 dan untuk Jaccard's Coefficient 0.778. Indeks korelasi yang dapat diterima adalah $\geq 70\%$ atau $\geq 0,7$ ini berarti bahwa dendogram yang terbentuk berdasarkan parameter similaritas SSM maupun SJ dapat mewakili matriks similaritas yang menjadi dasar konstruksinya.

IV. Kesimpulan

Pada penelitian ini berhasil dilakukan isolasi bakteri kontaminan kultur jaringan bambu jenis *Fargesia scabrida* dengan diperoleh 7 isolat bakteri. Hasil profile matching menunjukkan bahwa diperoleh berbagai macam genus bakteri kontaminan, yaitu kelompok bakteri gram positif antara lain : *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Listeria*. Kelompok bakteri gram negatif antara lain : *Erwinia* dan *Klebsiella*. Dendogram yang dihasilkan dari parameter SSM dengan menggunakan *average linkage*/UPGMA diketahui bahwa pada nilai similaritas 70%, terbagi menjadi 5 kluster. Sedangkan dendogram yang dihasilkan dari parameter SJ dengan menggunakan *average linkage*/UPGMA pada nilai similaritas 70% 7 OTU terbagi dalam 7 kluster.

V. Saran

Saran dapat ditulis berdasarkan berbagai pertimbangan dari hasil penelitian untuk perbaikan atau kelanjutan penelitian berikutnya.

VI. Ucapan Terima kasih

Ucapan terima kasih disampaikan kepada pihak yang terlibat dalam penelitian atau pembuatan karya tulis namun tidak dapat atau bukan bagian dari penulis yang memberikan kontribusi kepada penelitian atau hasil karya tulis.

Daftar Pustaka

Jurnal:

- [1] Barbara, M. Reed and Piyarak Tanprasert. 1995. Detection and Control of Bacterial Contaminants of Plant Tissue Cultures. A Review of Recent Literature
Ermayanti, T.M. 1997. Mengenal dan Mengatasi Kontaminan Pada Biak Jaringan

- Tanaman. *Warta Biotek Tahun XI No. 3, September-Desember 1997. Plant Tissue Culture and Biotechnology* 137-142. Volume No.3. USA.
- [2] Bastiaens, L. 1983. Endogenous Bacteria In Plants and Their implications In Tissue Culture- A Review. *Med. Fac. Landbouww. Rijksuniv. Gent* 48: 1-11.
- [3] Boxus, P. H. and Terzi, J. M. 1987. Control of Accidental Contamination During Mass Propagation. *Acta Hort.* 225: 189-193.
- [4] Buckley, P.M., DeWilde, T.N., and Reed, B.M. 1995. Characterization and Identification of Bacteria Isolated from Micropropagated Mint Plants. *In vitro Cell. Dev. Biol.* 31P: 58-64.
- [5] Coenye, T. and Vandamme, P. 2003. Diversity and Significance of Burkholderia species Occupying Diverse Ecological Niches. *Environ. Microbiol.* 5(9): 719-729.
- [6] Compant, S., Nowak, J., Coenye, T., Clement, C., and Ait Barka, E. 2008. Diversity and Occurrence of Bukholderia spp. In The Natural Environment. Federation of European Microbiological Societies (FEMS). *Microbiology Reviews* 32(4) : 607-26.
- [7] Devi, C.S. and Srinivasan, V.M. 2006. Studies on Various Atmospheric Microorganisms Affecting the Plant Tissue Culture Explants. *Academic Journals Inc., USA. American Journal of Plant Physiology I* (2): 205-209.
- [8] Janssen, P.H. 2006. Identifying The Dominant Soil Bacterial Taxa In Libraries of 16S rRNA and 16S rRNA Genes. *Applied and Environmental Microbiology* 72(3) : 1,719-28.
- [9] Johansen, J.E., Binnerup, S.J., Kroer, N., and Molbak, L. 2005. *Luteibacter rhizovicinus* gen. nov., sp. Nov., a yellow-pigmented gammaproteobacterium isolated from the rhizosphere of barley (*Hordeum vulgare* L.). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 55(6): 2, 285-291.
- [10] Kunnemann, B. P. A. M., and Faaij-Groenen, G. P. M. 1988. Elimination of bacterial contaminants: a matter of detection and transplanting procedures. *Acta Hort.* 225: 183-189.
- [11] Leifert, C. 1990. Contaminants of Plant Tissue Cultures. Ph.D. thesis, Faculty of Agricultural and Food Sciences, Nottingham University, UK.
- [12] Leifert, C., Camotta, H., and Waites, W.M. 1992. Effect of Combinations of Antibiotics on Micropropagated *Celmatis*, *Dhelphinium*, *Hosta*, *Iris*, and *Photinia*. *Plant Cell Tissue Culture Organ Cult.* 29:153-160.
- [13] Leifert, C., Morris, C.E. and Waites, W.M. 1994. Ecology Of Microbial Saprophytes and Pathogens In Tissue Culture and Field-Grown Plants: Reasons For Contamination Problems In Vitro. *Critical Reviews in Plant Science* 13: 139-183.
- [14] Leifert, C., Waites, W.M., and Nicholas, J.R. 1989. Bacterial Contamination of Micropropagated Plant Tissue Cultures. *J. Appl. Bact.* 67: 353-361.
- [15] Leifert, C., Camotta, H., Wright, S.M., Waites, B., Cheyne, V.A. and Waites, W.M. 1991. Elimination Of *Lactobacillus Plantarum*, *Corynebacterium* Sp, *Staphylococcus Saprophyticus*, and *Pseudomonas paucimobilis* From Micropropagated *Hemerocallis*, *Choisya*, and *Delphinium* Cultures Using Antibiotics. *J. Appl. Bact.* 71: 307-330.

- [16] Long, R.D., Curtin, T.F. and Cassels, A.C. 1988. An Investigation of The Effects of Bacterial Contaminants on Potato Nodal Cultures. *Acta Hort.* 225 : 83-91.
- [17] Odutayo, O. I., Amusa, N. A., Okutade, O. O., and Ogunsanwo, Y. R. 2007. Sources of Microbial Contamination in Tissue Culture Laboratories in Southwestern Nigeria. Departement of Biological Sciences Olabisi Onabanjo University. Ago-Iwoye, Nigeria. *African Journal of Agricultural Research* Vol 2(3), pp. 067-072.
- [18] Taber, R.A., Thielen, M.A., Falkinham III, J., and Smith, R.H. 1991. *Mycobacterium scrofulaceum*: A Bacterial Contaminant In Plant Tissue Culture. Elsevier Scientific Publishers Ireland Ltd. *Plant Science*, 78. pp. 231-326.
- [19] Trick, I., and Lingens, F. 1985. Aerobic Spore-Forming Bacteria As Detrimental Infectants In Plant Tissue Cultures. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 21: 245-249.
- [20] Wakil, S.M., and Mbah, E.I. 2012. Screening Antibiotics for The Elimination of Bacteria from in vitro Yam Plantlets. Department of Microbiology. University of Ibadan, Nigeria. *AU J.T.* 16(1): 7-8.

Buku:

- [21] Goodfellow, M. and O'Donnell, A.G. 1993. *Handbook of New Bacterial Systematics*. Academic Press. Harcourt Brace and Company Publishers. London.
- [22] Goodfellow, M. 2000. *Microbial Systematics: Background and Uses In Applied Microbial Systematics* (F.G. Priest and Goodfellow, eds). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- [23] Holt, G.J., Krieg, N.R., Sneath, P.H.A., Staley, J.T., Williams, S.T. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* 9th Edition. USA: Williams and Wilkins Baltimore.
- [24] Kotiranta, A., Lounatmaa, K., and Haapasalo, M. 2000. Epidemiology and Pathogenesis of *Bacillus cereus* Infections. *Microbes and Infection* 2(2):189-8.
- [25] Madigan, Michael. T., Martinko, John, M., Stahl, David, A., and David P. Clark. 2012. *Brock Biology of Microorganisms*. Thirteen Edition. Pearson. San Fransisco. pp. 674-676.

Bagian dari buku:

- [26] Claus, D., and Berkeley, R. C. W. 1986. Description of The Genus *Bacillus* In: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Pp. 1105-1139. Sneath, P. H.A., Mair, N. S., Sharpe, M. E., and Holt, J. G. Eds. Williams & Wilkins. London, U.K.

Prosiding:

- [27] Kado, C.I. 2006. *Erwinia* and Related Genera. Chapter 3.3.15. *Prokaryotes* (2006) 6:443-450. DOI: 10.1007/0-387-30746-x_15.