

***TEKNIK KULTUR JARINGAN TANAMAN:
PRINSIP UMUM DAN METODE APLIKASI
DI BIDANG BIOTEKNOLOGI PERTANIAN***

Penulis:

Parawita Dewanti

UPT PENERBITAN DAN PERCETAKAN
UNIVERSITAS JEMBER
2018

TEKNIK KULTUR JARINGAN TANAMAN: PRINSIP UMUM DAN METODE APLIKASI DI BIDANG BIOTEKNOLOGI PERTANIAN

Penulis:

Parawita Dewanti

Desain Sampul dan Tata Letak

Noerkoentjoro W.D.

Risky Fahriza

Fatkhur Rokhim

ISBN: 978-602-5617-29-4

Penerbit:

UPT Percetakan & Penerbitan Universitas Jember

Redaksi:

Jl. Kalimantan 37

Jember 68121

Telp. 0331-330224, Voip. 00319

e-mail: upt-penerbitan@unej.ac.id

Distributor Tunggal:

UNEJ Press

Jl. Kalimantan 37

Jember 68121

Telp. 0331-330224, Voip. 0319

e-mail: upt-penerbitan@unej.ac.id

Hak Cipta dilindungi Undang-Undang. Dilarang memperbanyak tanpa ijin tertulis dari penerbit, sebagian atau seluruhnya dalam bentuk apapun, baik cetak, photoprint, maupun microfilm.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kami panjatkan kepada Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulisan buku ajar dengan judul Teknik Kultur Jaringan Tanaman: Prinsip Umum dan Metode Aplikasi di bidang Bioteknologi Pertanian dapat terselesaikan. Tujuan penulisan buku ajar ini adalah untuk memberikan bekal ilmu pengetahuan kepada mahasiswa yang sedang menempuh mata kuliah kultur Jaringan, perbanyakan invitro dan bioteknologi tanaman. Buku ini juga memberikan informasi ilmiah kepada tenaga pendidik, dosen, teknisi dan peneliti. Dengan terbitnya buku ini diharapkan dapat digunakan untuk memberikan informasi yang lebih luas bagi para pembaca dan masyarakat umum yang tertarik pada teknik perbanyakan tanaman melalui kultur jaringan. Pada buku ini dibahas mengenai berbagai aspek aplikasi kultur jaringan terutama perbanyakan melalui somatik embriogenesis, transformasi genetik dan produksi benih sintetik. Pada bab terakhir, disajikan artikel yang terkait dengan kultur jaringan dan sudah pernah didesiminasikan pada seminar Nasional maupun Internasional. Penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Lembaga Pengembangan Pembelajaran dan Penjaminan Mutu (LP3M), Universitas Jember, yang telah memfasilitasi terselesainya buku ajar melalui pelatihan Applied Approve (AA).
2. Ketua Center for Development of Advanced Science and Technology (CDAST), Prof. Bambang Sugiharto, yang telah memfasilitasi sarana dan prasarana untuk penelitian.
3. Pemberi Hibah Penelitian melalui Research Grant International Development Bank (IDB) dan Ristekdikti melalui hibah Penelitian Terapan Unggulan Perguruan Tinggi (PTUPT)
4. Prof. Suratno dan Dr. Bambang Marhaenanto, atas pendampingannya sehingga buku ajar ini terselesaikan tepat waktu.
5. Semua pihak yang tidak dapat kami sebutkan satu persatu.

Semoga apa yang kami tulis dapat memberikan sumbangsih bagi perkembangan ilmu pengetahuan dan bermanfaat sebagai bahan referensi. Akhirnya kami berharap, semoga buku ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Jember, Mei 2018

Penulis

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR.....	iii
DAFTAR ISI.....	iv
DAFTAR GAMBAR.....	viii
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR LAMPIRAN.....	x
TINJAUAN MATA KULIAH (DISKRIPSI SINGKAT, KEGUNAAN MATA KULIAH, CPMK.....	xi
I. PENDAHULUAN	
1.1 Capaian pembelajaran.....	1
1.2 Kompetensi Akhir yang diharapkan.....	1
1.3 Pengertian dasar kultur jaringan tumbuhan.....	1
1.4 Faktor-faktor yang mempengaruhi dan manfaat kultur jaringan di bidang pertanian.....	5
1.5 Rangkuman.....	6
1.6 Bahan Diskusi.....	7
1.7 Rujukan Pengayaan.....	7
1.8 Latihan Soal.....	7
II. ORGANISASI LABORATORIUM	
2.1 Capaian Pembelajaran.....	8
2.2 Kompetensi Akhir yang diharapkan.....	8
2.3 Bagian-bagian dan manfaat laboratorium Kultur jaringan tumbuhan.....	8
2.4 Alat-alat laboratorium dan kegunaannya.....	12
2.5 Pengembangan laboratorium.....	19
2.6 Rangkuman.....	20
2.7 Bahan Diskusi.....	20
2.8 Rujukan Pengayaan.....	20
2.9 Latihan soal.....	20
III. TEKNIK ASEPTIK	
3.1 Capaian Pembelajaran.....	21
3.2 Kompetensi Akhir yang diharapkan.....	21
3.3 Maksud dan Tujuan Sterilisasi.....	21
3.4 Sterilisasi bahan tanam.....	22
3.5 Sterilisasi media dan alat.....	24
3.6 Sterilisasi Lingkungan Kerja.....	26
3.7 Rangkuman.....	26

3.8 Bahan Diskusi.....	26
3.9 Rujukan Pengayaan.....	27
3.10 Latihan Soal.....	27
IV. MEDIA KULTUR JARINGAN TUMBUHAN	
4.1 Capaian Pembelajaran.....	28
4.2 Kompetensi Akhir yang diharapkan.....	28
4.3 Media Sebagai penentu dalam pertumbuhan.....	28
4.4 Macam media dasar.....	30
4.5 Stok hara.....	30
4.6 Cara pembuatan media kultur.....	39
4.7 Formulasi media untuk beberapa tanaman.....	42
4.8 Rangkuman.....	45
4.9 Bahan Diskusi.....	45
4.10 Rujukan Pengayaan.....	46
4.11 Latihan Soal.....	46
V. MACAM KULTUR	
5.1 Capaian Pembelajaran.....	47
5.2 Kompetensi akhir yang diharapkan.....	47
5.3 Kultur organ : kultur meristem dan pucuk, Kultur akar dan kultur embrio.....	47
5.4 Kultur kalus dan suspensi sel.....	49
5.5 Kultur haploid.....	53
5.6 Kultur protoplas.....	54
5.7 Kultur embrio.....	54
5.8 Rangkuman.....	60
5.9 Bahan Diskusi.....	60
5.10 Rujukan Pengayaan.....	60
5.11 Latihan Soal.....	61
VI. SUBKULTUR DAN PRODUKSI METABOLIT SEKUNDER	
6.1 Capaian Pembelajaran.....	62
6.2 Kompetensi akhir yang diharapkan.....	62
6.3 Sub kultur.....	62
6.4 Produksi Metabolit Sekunder.....	63
6.5 Rangkuman.....	63
6.6 Bahan Diskusi.....	64
6.7 Rujukan Pengayaan.....	64
6.8 Latihan Soal.....	64
VII. PENGAWETAN PLASMA NUTFAH	
7.1 Capaian Pembelajaran.....	65
7.2 Kompetensi akhir yang diharapkan.....	65

7.3 Dasar Pengamatan.....	65
7.4 Menanam kembali material Plasma Nutfah.....	66
7.5 Rangkuman.....	67
7.6 Bahan Diskusi.....	67
7.7 Rujukan Pengayaan.....	67
7.8 Latihan Soal.....	68
VIII. TANAMAN TAHAN/TOLERAN	
8.1 Capaian Pembelajaran.....	69
8.2 Kompetensi akhir yang diharapkan.....	69
8.3 Toleran Terhadap Air.....	69
8.4 Toleran Terhadap Garam.....	70
8.5 Toleran Terhadap Suhu.....	72
8.6 Rangkuman.....	72
8.7 Bahan Diskusi.....	72
8.8 Rujukan Pengayaan.....	72
8.9 Latihan Soal.....	72
IX. TRANSFORMASI GENETIK	
9.1 Capaian Pembelajaran.....	73
9.2 Kompetensi akhir yang diharapkan.....	73
9.3 Transformasi Genetik di bidang Bioteknologi tanaman.....	73
9.4 Transfer Gen pada tanaman menggunakan <i>Agrobacterium</i>	74
9.5 Promoter dan Gen Penyeleksi.....	77
9.6 Konfirmasi Gen Target.....	79
9.7 Rangkuman.....	80
9.8 Bahan Diskusi.....	80
9.9 Rujukan Pengayaan.....	80
9.10 Latihan Soal.....	81
X. BENIH SINTETIK	
10.1 Capaian Pembelajaran.....	82
10.2 Kompetensi akhir yang diharapkan.....	82
10.3 Somatik Embriogenesis.....	82
10.4 Benih Sintetis.....	83
10.5 Faktor yang mempengaruhi Produksi dan Pertumbuhan benih sintetik.....	84
10.6 Rangkuman.....	87
10.7 Bahan Diskusi.....	87
10.7 Rujukan Pengayaan.....	87
10.8 Latihan Soal.....	87
XI. AKLIMATISASI	
11.1 Capaian Pembelajaran.....	88

11.2 Kompetensiakhir yang diharapkan.....	88
11.3 Tujuan dan cara Aklimatisasi.....	88
11.4 Tahapan Aklimatisasi.....	89
11.5 Faktor yang mempengaruhi keberhasilan Aklimatisasi.....	90
11.6 Induksi Perakaran.....	91
11.7 Rangkuman.....	92
11.8 Bahan Diskusi.....	92
11.9 Rujukan Pengayaan.....	93
11.10 Latihan Soal.....	93
XII. ARTIKEL HASIL-HASIL PENELITIAN	
12.1 Capaian Pembelajaran.....	94
12.2 KompetensiAkhir yang diharapkan.....	94
12.3 Artikel 1.....	94
12.4 Artikel 2.....	104
12.5 Artikel 3.....	111
12.6 Rangkuman.....	120
12.7 Bahan Diskusi.....	120
12.8 Rujukan Pengayakan.....	120
12.9 Latihan Soal.....	120
DAFTAR PUSTAKA.....	121
LAMPIRAN.....	136
DAFTAR ISTILAH/GLOSARIUM.....	147
INDEKS (PENULIS, SUBJEK).....	153
RINGKASAN BUKU.....	156
BIOGRAFI PENULIS.....	157

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.1 Mikropropagasi Tebu.....	2
Gambar 1.2 Perkembangan EksplanTunas sampai menjadi planlet.....	3
Gambar 2.1 Autoclave.....	13
Gambar 2.2 Alat Gelas.....	13
Gambar 2.3 Oven.....	13
Gambar 2.4 Timbangan Digital.....	14
Gambar 2.5 Timbangan Analitik.....	14
Gambar 2.6 pH meter.....	15
Gambar 2.7 Mikropipet.....	15
Gambar 2.8 Pendingin ruangan (AC).....	15
Gambar 2.9 Showcase.....	16
Gambar 2.10 Mikrowave.....	16
Gambar 2.11 Rak Kultur jaringan.....	16
Gambar 2.12 Laminar air flow.....	17
Gambar 2.13 Shaker	17
Gambar 2.14 Bioreaktor	18
Gambar 2.15 Spektrofotometer	18
Gambar 2.16 Vortex	18
Gambar 3.1 Eksplan yang terkontaminasi.....	22
Gambar 3.2 Teknik sterilisasi eksplan tanaman tebu	24
Gambar 5.1 Persiapan pengambilan organ secara in vitro.....	48
Gambar 5.2 Organ tomat yang dapat digunakan sebagai eksplan.....	48
Gambar 5.3 Eksplan tunas basal tebu in vitro umur 1 bulan.....	49
Gambar 5.4 Proses deferensiasi dan deferensiasi pada sel tanaman.....	50
Gambar 5.5 Induksi Kalus pada eksplan gulungan daun muda tebu.....	50
Gambar 5.6 Kultur suspensi sel tebu berbasis bioreactor dan shaker.....	52
Gambar 5.7 Regenerasi eksplan anggrek dalam kultu cair.....	53
Gambar 6.1 Kegiatan Subkultur didalam Laminar Air Flow (LAF).....	63
Gambar 7.1 Pemanfaatan kultur in vitro dan kriopreservasi serta pertukaran plasma nutfah.....	66
Gambar 9.1 Proses Transfer intregasi gen ke genomik tanaman yang dimediasi oleh Agrobacterium.....	76
Gambar 10.1Tahapan perkembangan somatic embryogenesis.....	83
Gambar 10.2 Benih Sintetik Tebu.....	86
Gambar 11.1 Plantlet in vitro siap aklimatisasi.....	91
Gambar11.2 Pengeluaran dari botol kultur & pencucian dengan fungisida	91
Gambar 11.3 Penanaman di media pasir steril.....	91

DAFTAR TABEL

Tabel 1 Komposisi media Murashige and Skoog (MS).....	41
Tabel 2. Media yang cocok untuk kultur.....	42
Tabel 3. Media yang cocok untuk kultur pisang.....	43
Tabel 4. Media yang cocok untuk kultur papaya.....	43
Tabel 5. Media yang cocok untuk kultur nanas.....	44
Tabel 6. Media yang cocok untuk kultur Strawberi.....	44
Tabel 7. Media yang cocok untuk kultur Anggrek.....	45
Tabel 8. Pengaruh tingkat salinitas Terhadap tanaman.....	71
Tabel 9. Kelebihan dan kelemahan metode tranfer gen pada tanaman.....	75
Tabel 10. Gen penyeleksi yang umum dan berpotensi digunakan dalam transformasi.....	79

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.Pembuatan media YEB/LB.....	136
Lampiran 2.Pembuatan Stater Bakteri dalam tabung reaksi.....	138
Lampiran 3.Isolasi Plasmid Bakteri <i>A. tumefaciens</i>	139
Lampiran 4.Isolasi DNA Genom.....	141
Lampiran 5.Elektroforesis hasil PCR Isolasi Genom atau Plasmid.....	143
Lampiran 6. Proses Transformasi Genetik pada tanaman.....	144
Lampiran 7.Komposisi Media Murashige and Skoog (MS)	146

TINJAUAN MATA KULIAH (DISKRIPSI SINGKAT, KEGUNAAN MATAKULIAH, CPMK)

DISKRIPSI SINGKAT

Mata kuliah kultur jaringan menjelaskan tentang Pengertian dan manfaat kultur jaringan, Ilmu yang mendasari kultur jaringan tumbuhan, Ruang lingkup kajian kultur jaringan, Sejarah perkembangan kultur jaringan, Prinsip dasar Kultur Jaringan, Organisasi Laboratorium Kultur Jaringan, Sterilisasi dan Pembuatan media kultur jaringan, Eksplan untuk bahan tanam kultur jaringan, Induksi kalus dan regenerasi menjadi tanaman lengkap, Transformasi DNA, Somatic Embryogenesis (SE), Kultur embrio dan embrio rescue, Induksi tanaman haploid dan double haploid, Induksi keragaman somaklonal (*somaclonal variation*), Induksi tanaman tahan cekaman biotik dan abiotik, Teknik kultur tanaman penghasil metabolit sekunder, Fusi dan Kultur protoplast dan Pemanfaatan kultur jaringan dalam rekayasa genetik tumbuhan.

KEGUNAAN MATAKULIAH

Kegunaan matakuliah ini adalah untuk memberikan bekal ilmu pengetahuan kepada mahasiswa agar mahasiswa mengetahui dan memahami berbagai aspek aplikasi kultur jaringan serta prinsip umum dan metode aplikasi di bidang Bioteknologi Pertanian.

CAPAIAN PEMBELAJARAN MATA KULIAH

Mahasiswa akan mampu menjelaskan tentang kultur jaringan tanaman dan memahami peranan kultur jaringan didalam perkembangan bioteknologi.

I. PENDAHULUAN

1.1 Capaian Pembelajaran

Pembaca mampu menjelaskan tentang maksud kultur jaringan tanaman dan memahami kegunaan dan manfaat kultur jaringan untuk pengembangan bioteknologi di masa mendatang.

1.2 Kompetensi Akhir yang diharapkan

- Pembaca akan memahami arti kultur jaringan
- Pembaca akan mengetahui manfaat kultur jaringan di bidang bioteknologi
- Pembaca memahami tentang kekurangan dan kelebihan kultur jaringan tanaman

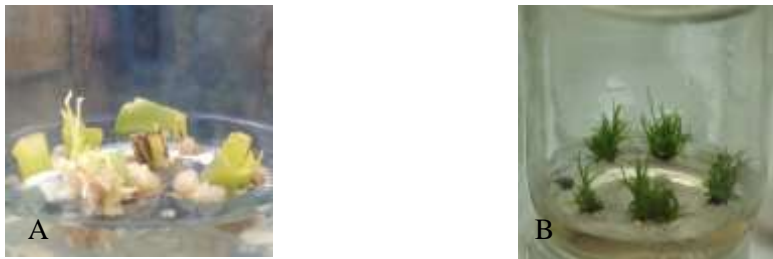
1.3 Pengertian Dasar Kultur Jaringan Tanaman

Perkembangan pertanian di Indonesia cukup pesat, karena produk hasil pertanian memiliki daya tarik yang tinggi, baik pada produk tanaman pangan, perkebunan maupun hortikultura. Budidaya dengan cara perbanyak secara kultur jaringan, menjadi salah satu alternatif yang tepat untuk perbanyak tanaman.

Kultur jaringan merupakan teknik untuk membudidayakan atau menumbuhkan tanaman dengan cara mengisolasi eksplan seperti sel, jaringan, organ maupun protoplas yang kemudian diinduksi dalam kondisi aseptik secara *in vitro* agar dapat memperbanyak diri dan beregenerasi menjadi tanaman dengan organ yang lengkap (sudah terbentuk daun, batang dan akar) (Sukmadjaja dan Mulyana, 2011; Gunawan, 1987). Pada awalnya teknik ini digunakan untuk memperoleh bibit tanaman dalam jumlah besar dan dalam waktu yang relatif singkat, namun sekarang sudah berkembang sehingga teknik ini digunakan untuk mencapai banyak tujuan misalnya untuk menghasilkan tanaman unggul.

Kultur jaringan adalah salah satu usaha pembiakan tanaman secara modern, karena dengan mengisolasi bagian-bagian tanaman seperti daun, batang, tunas, akar dan biji yang ditanam pada media buatan yang kaya akan nutrisi dan zat pengatur tumbuh serta ditumbuhkan dalam kondisi steril akan mampu tumbuh sempurna dan menghasilkan tanaman yang sama dengan induknya. Prinsip teknik kultur jaringan yaitu perbanyak tanaman menggunakan media buatan yang dilaksanakan di tempat steril dan aseptis (Marlina dan Rusnandi, 2007). Perbanyak melalui kultur

jaringan ini sering diistilahkan dengan teknik mikropropagasi tanaman. Contoh mikropropagasi yang paling umum digunakan pada tanaman tebu adalah menggunakan gulungan daun muda sebagai bahan tanam (eksplan) untuk dikulturkan dengan cara merangsang eksplan agar terbentuk tunas-tunas lateral (Gambar 1.1).



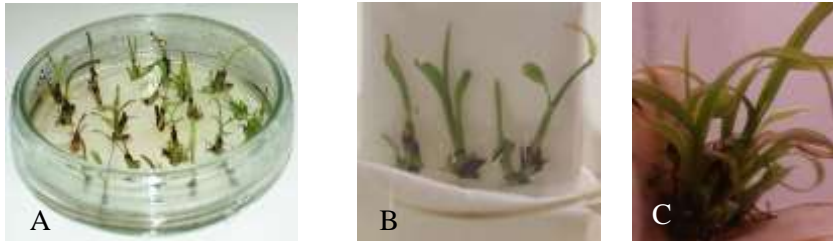
Gambar 1.1 Mikropropagasi tebu dengan menggunakan eksplan gulungan daun. A. Induksi kalus, B. Regenerasi eksplan menjadi tunas.

Terdapat 2 metode yang digunakan untuk produksi tunas lateral yaitu kultur pucuk (*shoot culture*) dan kultur mata tunas (hanya 1 mata tunas: *single-node culture*; lebih dari satu mata tunas: *multiple-node culture*). Perbanyakan dengan kultur pucuk merupakan perbanyakan melalui meristem apikal atau meristem pucuk suatu tanaman. Kultur mata tunas merupakan salah satu teknik yang digunakan untuk perbanyakan tanaman tebu dengan merangsang munculnya tunas lateral dari mata tunas yang dibiakkan. Eksplan yang digunakan dalam kultur mata tunas dapat berasal dari tunas lateral dan bagian dari batang yang mengandung satu atau lebih mata tunas. Mikropropagasi tunas lateral pada prinsipnya adalah perangsangan terbentuknya atau munculnya tunas-tunas samping dengan cara mematahkan dominasi apikal dari meristem apikal (Erwin, 2009).

Prinsip dasar dan kelebihan dari kultur jaringan adalah :

1. Adanya konsep totipotensi yaitu kemampuan sel untuk dapat tumbuh apabila disimpan pada tempat yang sesuai, hal ini didukung dengan teori sel dari Schleiden dan Schwann (1938).
2. Dapat diperbanyak setiap saat tanpa tergantung musim karena dilakukan di ruang tertutup, mempunyai daya multiplikasi yang tinggi, eksplan berasal dari bahan tanaman yang kecil, menghasilkan tanaman seragam serta bebas penyakit terutama bakteri dan jamur.
3. Perbanyakan vegetatif, sehingga sel yang diperbanyak secara kultur jaringan akan sama dengan induknya.

4. Aseptis, bebas kontaminan, karena area kerja, peralatan dan eksplan harus dalam keadaan steril.



Gambar 1.2 Perkembangan eksplan tunas sampai menjadi planlet
A. Eksplan basal tunas tebu, B. Perkembangan tunas umur 2 minggu, C. Planlet umur 4 minggu

Penggunaan metode kultur jaringan mempunyai kelebihan dan kekurangan, oleh karena itu harus mengetahui apa tujuan mikropropagasi. Pada umumnya tujuan pokok kultur jaringan adalah: memperoleh tanaman dalam jumlah banyak dengan waktu relatif singkat, menghasilkan kultivar atau varietas baru dan memperbanyak dari meristem akan menghasilkan tanaman baru yang bebas virus. Namun demikian tidak semua tanaman memerlukan metode kultur jaringan, beberapa tanaman yang memerlukan metode ini adalah tanaman yang mempunyai daya perkecambahan yang rendah, tanaman hibrida dan tanaman yang sulit membentuk biji seperti tanaman pisang, kentang dan strawberi.

Beberapa kelebihan menggunakan kultur jaringan adalah untuk memperbanyak masal, waktu yang dibutuhkan relatif singkat, tidak tergantung musim, bebas penyakit, memudahkan transportasi, dapat digunakan untuk memproduksi senyawa metabolit sekunder dan menyimpan plasma nutfah. Teknik ini dikenal dengan teknik mikropropagasi.

Mikropropagasi merupakan teknik kultur jaringan yang digunakan untuk menghasilkan tanaman secara masal atau memperbanyak klonal dari berbagai jenis tanaman. Jaringan tanaman mampu menghasilkan ribuan tanaman secara terus menerus. Teknik ini telah digunakan dalam skala industri di berbagai negara untuk menghasilkan tanaman secara komersial dari berbagai jenis tanaman seperti tanaman hias (anggrek, bunga potong, dll.), tanaman buah-buahan (seperti pisang), tanaman industri dan metoda ini relatif lebih singkat dibandingkan dengan melalui pemuliaan secara

kehutanan (kopi, jati, dll). Oleh karena itu metoda ini menjadi salah satu alternatif dalam perbanyakan tanaman secara vegetatif.

Upaya perbaikan tanaman melalui pemuliaan tanaman in vitro dapat dilakukan melalui teknik ini. Pemuliaan tanaman in vitro mempunyai kelebihan yaitu untuk mendapatkan galur murni melalui metoda ini relatif lebih singkat dibandingkan dengan melalui pemuliaan secara konvensional. Pemuliaan secara konvensional membutuhkan waktu enam sampai tujuh generasi hasil penyerbukan sendiri maupun persilangan. Melalui teknik kultur jaringan, diperoleh tanaman homosigot haploid dan dihaploid dalam waktu singkat dengan cara memproduksi tanaman haploid melalui kultur polen, antera atau ovarium yang diikuti dengan penggandaan kromosom dengan bahan kimia kemudian diregenerasikan. Tanaman homosigot ini dapat digunakan sebagai bahan pemuliaan tanaman dalam rangka perbaikan sifat tanaman. Selain itu dapat juga digunakan untuk polinasi dan pertumbuhan embrio yang secara normal abortif, tanaman hasil hibridisasi somatik melalui teknik fusi protoplas baik interspesifik maupun intraspesifik dan transfer DNA atau organel untuk memperoleh sifat tertentu.

Teknologi kultur jaringan memberikan kontribusi dalam memproduksi tanaman bebas penyakit (virus). Pada tanaman yang telah terinfeksi virus, sel-sel pada tunas ujung (meristem) merupakan daerah yang tidak terinfeksi virus. Dengan cara mengkulturkan bagian meristem akan diperoleh tanaman yang bebas virus. Seperti kita ketahui bahwa meristem merupakan jaringan yang mudah membelah, jaringan ini belum mengalami diferensiasi menjadi organ transport dimana virus berkembang mengikuti organ transport. Oleh karena itu perbanyakan melalui jaringan meristem akan menghasilkan tanaman bebas virus.

Transformasi genetik dengan teknik kultur jaringan telah menjadi bagian penting dalam membantu keberhasilan rekayasa genetika tanaman (*transfer gen/genetic transformation*). Sebagai contoh 1. transfer gen bakteri ke dalam sel tanaman (seperti : gen cry dari *Bacillus thuringiensis*), 2. transfer gen tanaman ke dalam sel tanaman target (seperti gen *SoSPS* dari tebu). Penggunaan teknik kultur jaringan diharapkan mampu memberikan keuntungan, baik dari segi penghematan waktu, tenaga, maupun ruang. Di bidang bioteknologi, melalui transformasi genetik penggunaan metode kultur jaringan merupakan metode yang dapat menunjang keberhasilan transformasi genetik untuk menghasilkan tanaman transgenik. Selain itu juga dapat digunakan untuk memproduksi senyawa metabolit sekunder.

Senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan melalui kultur sel tanaman juga dapat digunakan untuk memproduksi senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, terpenoid, phenyl propanoid dan pada saat ini sudah banyak tersedia produk metabolit sekunder dalam skala industri.

1.4 Faktor-faktor yang mempengaruhi dan manfaat kultur jaringan di bidang pertanian

Beberapa hal yang perlu dipertimbangkan dalam perbanyak vegetatif melalui kultur jaringan adalah: kecepatan multiplikasi eksplan per satuan waktu, tahapan untuk mencapai tanaman lengkap, nilai ekonomi tanaman yang diperbanyak dan ketersediaan metode konvensional lainnya. Oleh karena itu untuk menunjang perkembangan pertanian di Indonesia maka perlu dilakukan pemilihan komoditas yang sesuai dengan yang dibutuhkan dan mempunyai teknik yang baku. Misalnya pada laboratorium skala komersial yang berkembang di Indonesia seperti kultur biji pada anggrek.

Banyak faktor yang berpengaruh terhadap perkembangan eksplan yaitu media, zat pengatur tumbuh, jenis eksplan, usia eksplan, sterilisasi dan topofisis. Faktor yang berpengaruh terhadap perbanyak tunas secara *in vitro* adalah jenis tunas dan usia tunas baik aksilar maupun lateral. Jenis tunas yang berbeda akan memberikan pengaruh yang berbeda terhadap pertumbuhan tunas adventif. Begitu pula untuk usia tunas yang berbeda juga akan memberikan pengaruh berbeda terhadap pertumbuhannya. Pada umumnya usia tunas lateral yang muda lebih cepat berdeferensiasi daripada usia tunas aksilar atau lateral yang tua (Unud, 2008a). Hal ini dikarenakan pada usia tunas yang lebih muda, sel-sel penyusun tunas bersifat meristematik. Namun untuk sifat ketahanan pada sterilitan, tunas yang berusia lebih muda lebih rentan terhadap sterilitan dibanding dengan tunas yang berusia lebih tua.

Selain jenis dan usia eksplan, topofisis juga berpengaruh terhadap pertumbuhan dan perkembangan tunas tanaman tebu. Pierik (1987) menyatakan bahwa topofisis merupakan posisi atau letak eksplan pada suatu tanaman. Posisi eksplan ini dapat mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan secara *in vitro* setelah tahap isolasi eksplan. Pada umumnya ujung tunas yang baru tumbuh (jaringan yang bersifat meristematik) merupakan eksplan yang terbaik dibandingkan dengan organ atau calon eksplan yang dekat maupun kontak langsung dengan tanah. Hal ini dimungkinkan pada organ atau calon eksplan yang dekat maupun kontak langsung dengan tanah lebih besar terinfeksi oleh penyakit (Unud, 2008b).

Oleh karena itu bahan sterilan untuk sterilisasi juga merupakan faktor penentu dalam keberhasilan kultur.

Sterilisasi merupakan faktor keberhasilan dalam perbanyakan, eksplan yang berasal dari lapang umumnya sering terjadi kontaminasi baik oleh bakteri maupun jamur. Alkohol merupakan sterilitan dasar yang digunakan dalam kegiatan kultur jaringan. Alkohol mampu menghambat pertumbuhan dan perkembangbiakan mikroorganisme. Selain itu, bahan sterilan yang sering digunakan dalam kultur adalah $HgCl_2$. $HgCl_2$ mampu menonaktifkan enzim pada mikroorganisme sehingga metabolisme mikroorganisme tersebut terganggu dan secara tidak langsung akan mematikan sel mikroorganisme tersebut. Bahan kimia lain yang mempunyai fungsi yang sama seperti $HgCl_2$ adalah surfaktan.

Beberapa penelitian menyatakan beberapa perbanyakan tanaman yaitu melalui proses pengkalusan dan kultur suspensi dapat memperbesar resiko terjadinya variasi somaklonal (Lee, 1987). Variasi somaklonal pada kalus dapat terjadi akibat pembelahan sel yang cepat sehingga mampu merubah keadaan genetik tanaman. Oleh karena itu regenerasi langsung pada bagian vegetatif tanpa melalui pembentukan kalus dapat menghindari terjadinya variasi somaklonal. Seperti yang telah dilakukan oleh Manickasavagam *et al.*, (2004) bahwa penggunaan tunas lateral (*axillary buds*) pada tanaman tebu dapat menekan terjadinya resiko variasi somaklonal. Namun demikian, penggunaan tunas lateral tebu juga masih terdapat beberapa permasalahan yang muncul dan menjadi penyebab tidak tercapainya tujuan kegiatan kultur yang dilakukan. Masalah yang sering muncul diantaranya adalah pencoklatan atau *browning*, vitrifikasi yang merupakan keadaan tanaman yang tampak transparan dan lembek akibat tingginya konsentrasi air, menurunnya konsentrasi garam-garam mineral dan tingginya konsentrasi sitokinin dan stagnasi yang merupakan keadaan dimana tanaman tidak mampu tumbuh (Anjar, 2008). Masalah lain dalam kegiatan kultur jaringan tunas lateral tebu yang perlu mendapatkan perhatian antara lain: tidak ada standar untuk sterilisasi sehingga sering terjadinya kontaminasi.

1.5 Rangkuman

Tujuan penggunaan metode kultur jaringan tanaman adalah:

- 1) Produksi tanaman dalam jumlah besar
 - a) Tanaman unggul (tanaman hortikultura, pangan dan perkebunan)
 - b) Tanaman bebas patogen (virus)
- 2) Pemuliaan Tanaman
 - a) Manipulasi jumlah kromosom

- b) Tanaman haploid dan homogenous
- c) Transformasi genetik

1.6 Bahan Diskusi

Kultur jaringan merupakan salah satu cara untuk mencapai tujuan dengan cepat dan menguntungkan, diskusikan tentang:

1. Bagaimana membuat tanaman bebas virus dengan cara metode in vitro?
2. Sebutkan Kelebihan dan kekurangan menggunakan pemuliaan in vitro?
3. Apa manfaat kultur jaringan di bidang pertanian?

1.8 Rujukan Pengayaan

Gunawan, L.W. 1988. *Teknik Kultur Jaringan Tumbuhan*. Laboratorium Kultur Jaringan. Pusat Antar Universitas (PAU) Bioteknologi. IPB. Bogor.

Marlina, N dan D. Rusnandi. 2007. Teknik Aklimatisasi Planlet Anhurium pada Beberapa Media Tanam. *Teknik Pertanian*.12(1):38-40.

Syahid, S. F dan N. N. Kristina.2014. Pengaruh Auksin IBA dan NAA terhadap Induksi Perakaran Inggu (*Rutagraveolens L.*) In Vitro. *Littri*, 20(3):122 – 129.

1.9 Latihan Soal

- a. Mengapa kita membutuhkan teknik kultur jaringan?
- b. Jelaskan masing-masing kelebihan dan kekurangan penggunaan teknik kultur jaringan tanaman?
- c. Apa saja faktor yang mempengaruhi keberhasilan kultur jaringan?, Jelaskan!
- d. Jelaskan bagian dan jenis organ tanaman yang dapat digunakan sebagai eksplan dalam kultur jaringan tanaman?



REPUBLIK INDONESIA
KEMENTERIAN HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA

SURAT PENCATATAN CIPTAAN

Dalam rangka perlindungan ciptaan di bidang ilmu pengetahuan, seni dan sastra berdasarkan Undang-Undang Nomor 28 Tahun 2014 tentang Hak Cipta, dengan ini menerangkan:

Nomor dan tanggal permohonan : EC00201928003, 30 Januari 2019

Pencipta

Nama : **Dr. Ir. Parawita Dewanti, MP.**

Alamat : Perum BTN Baratan Indah No. 15 Lingk. Baratan Timur, Baratan, Patrang, Jember, Jember, Jawa Timur, 68112

Kewarganegaraan : Indonesia

Pemegang Hak Cipta

Nama : **Universitas Jember**

Alamat : Jalan Kalimantan No. 37, Kampus Tegalboto, Jember 68121, Jember, Jawa Timur, 68121

Kewarganegaraan : Indonesia

Jenis Ciptaan : **Buku**

Judul Ciptaan : **Teknik Kultur Jaringan Tanaman : Prinsip Umum Dan Metode Aplikasi Di Bidang Bioteknologi Pertanian**

Tanggal dan tempat diumumkan untuk pertama kali di wilayah Indonesia atau di luar wilayah Indonesia : 10 Mei 2018, di Jember

Jangka waktu perlindungan : Berlaku selama 50 (lima puluh) tahun sejak Ciptaan tersebut pertama kali dilakukan Pengumuman.

Nomor pencatatan : 000133288

adalah benar berdasarkan keterangan yang diberikan oleh Pemohon.
Surat Pencatatan Hak Cipta atau produk Hak terkait ini sesuai dengan Pasal 72 Undang-Undang Nomor 28 Tahun 2014 tentang Hak Cipta.



a.n. MENTERI HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA
DIREKTUR JENDERAL KEKAYAAN INTELEKTUAL

Dr. Freddy Harris, S.H., LL.M., ACCS.
NIP. 196611181994031001