



**MODUL DIKLAT
PROGRAM KEAHLIAN GANDA
SEKOLAH MENENGAH KEJURUAN (SMK)**

**MATA DIKLAT
KULTUR JARINGAN TANAMAN PANGAN DAN
HORTIKULTURA**

**PAKET KEAHLIAN
AGRIBISNIS PERBENIHAN DAN KULTUR JARINGAN
TANAMAN**

**PENYUSUN :
PRIMA AGUNG PRIHANDONO, SP., M.Si.**

**KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
PUSAT PENGEMBANGAN DAN PEMBERDAYAAN
PENDIDIK DAN TENAGA KEPENDIDIKAN PERTANIAN
2017**

Penulis :
Prima Agung Prihandono, SP., M.Si

Copyright © 2017

Pusat Pengembangan dan Pemberdayaan Pendidik dan Tenaga Kependidikan
Bidang Pertanian, Direktorat Jenderal Guru dan Tenaga Kependidikan

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

Dilarang mengcopy sebagian atau keseluruhan isi buku ini untuk
kepentingan komersial tanpa izin tertulis dari Kementerian Pendidikan dan
Kebudayaan

KATA PENGANTAR

Dalam rangka meningkatkan daya saing regional dan melaksanakan Instruksi Presiden Nomor 9 Tahun 2016 tentang Revitalisasi Sekolah Menengah Kejuruan, Direktorat Jenderal Guru dan Tenaga Kependidikan, Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan berupaya meningkatkan jumlah dan kompetensi guru SMK. Ditjen GTK telah melakukan analisis kebutuhan guru produktif SMK. Salah satu upaya pemerintah, untuk memenuhi kebutuhan guru produktif di SMK adalah dengan memberikan pembekalan pengetahuan dan keterampilan kompetensi keahlian baru. Penambahan pembekalan pengetahuan dan keterampilan produktif baru yang dibutuhkan SMK diberikan kepada guru-guru normatif, adaptif, dan produktif dengan tingkat kejenuhan sangat tinggi melalui Program Sertifikasi Keahlian dan Sertifikasi Pendidik bagi Guru SMK/SMA (Keahlian Ganda).

Program Sertifikasi Keahlian dan Sertifikasi Pendidik bagi Guru SMK/SMA (Keahlian Ganda) merupakan program prioritas Direktorat Jenderal Guru dan Tenaga Kependidikan (Ditjen GTK) yang bertujuan untuk mengatasi kekurangan guru produktif di SMK. Guru adaptif, normatif, dan produktif di SMA dan SMK yang kelebihan guru diberikan tambahan pengetahuan dan keterampilan kompetensi keahlian baru melalui pendidikan dan pelatihan di PPPPTK dan LPPPTK KPTK terkait, sesuai bidang tugasnya.

Modul ini disusun sebagai salah satu referensi yang digunakan dalam penyelenggaraan pelatihan bagi calon peserta program sertifikasi keahlian dan sertifikasi pendidik pada Unit Pelaksana Teknis yang melaksanakan program ini. Nara sumber, instruktur, dan semua pihak yang terkait dalam pelaksanaan pembelajaran pada pelatihan program sertifikasi keahlian dan sertifikasi pendidik diharapkan mampu melaksanakan tugas dan perannya dengan baik, dan memanfaatkan modul ini selama proses pelatihan.

Kami mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah berkontribusi dan ikut menyumbangkan tenaga, waktu, dan pemikirannya dalam penyusunan modul ini. Semoga modul ini bermanfaat sebagai daya dukung pelaksanaan Program Sertifikasi Keahlian dan Sertifikasi Pendidik bagi Guru SMK/SMA (Keahlian Ganda) dalam rangka pemenuhan kebutuhan guru SMK untuk mendukung revitalisasi pendidikan vokasi.

Terima kasih.

Cianjur, Maret 2017
Kepala Pusat,

Ir. Siswoyo, M.Si.
NIP. 195801251988031001

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	i1
DAFTAR ISI.....	ivv
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR TABEL	vii
I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Tujuan.....	2
C. Peta Kompetensi.....	3
D. Ruang Lingkup.....	4
E. Cara Penggunaan Modul.....	4
II KEGIATAN PEMBELAJARAN 1	
PERSIAPAN KULTUR JARINGAN TANAMAN PANGAN DAN	
HORTIKULTURA	6
A. Tujuan.....	6
B. Indikator Pencapaian Kompetensi	6
C. Uraian Materi	6
D. Aktivitas Pembelajaran	17
E. Latihan Soal	40
F. Rangkuman	40
G. Umpan Balik dan Tindak Lanjut	41
III KEGIATAN PEMBELAJARAN 2	
PELAKSANAAN KULTUR JARINGAN TANAMAN PANGAN DAN	
HORTIKULTURA	Error! Bookmark not defined.
A. Tujuan.....	Error! Bookmark not defined.
B. Indikator Pencapaian Kompetensi	Error! Bookmark not defined.
C. Uraian Materi	43
D. Aktivitas Pembelajaran	63
E. Latihan Soal	75
F. Rangkuman	76
G. Umpan Balik dan Tindak Lanjut	77
IV KEGIATAN PEMBELAJARAN 3	
PASCA KULTUR JARINGAN TANAMAN PANGAN DAN HORTIKULTURA	
.....	79
A. Tujuan.....	Error! Bookmark not defined.
B. Indikator Pencapaian Kompetensi	Error! Bookmark not defined.
C. Uraian Materi	Error! Bookmark not defined.
D. Aktivitas Pembelajaran	88

E.	Latihan Soal	92
F.	Rangkuman	92
G.	Umpan Balik dan Tindak Lanjut	93
V	EVALUASI	95
VI	KUNCI JAWABAN	97
VII	PENUTUP	100
	DAFTAR PUSTAKA	101
	GLOSARIUM	102

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Diagram Alur Proses Produksi Bibit Tanaman Menggunakan Teknik Kultur Tunas dengan cara proliferasi tunas aksiler	8
Gambar 2.	Diagram Alur Proses Produksi Bibit Tanaman Menggunakan Teknik Kultur Tunas dengan cara kultur nodus.....	9
Gambar 3.	Diagram Alur Proses Produksi Bibit Tanaman Menggunakan Teknik Organogenesis Langsung.....	10
Gambar 4.	Diagram Alur Proses Produksi Bibit Tanaman Menggunakan Teknik Organogenesis Tidak Langsung.....	11
Gambar 5.	Diagram Alur Proses Produksi Bibit Tanaman Menggunakan Teknik Somatik Embryogenesis Langsung.....	12
Gambar 6.	Diagram Alur Proses Produksi Bibit Tanaman Menggunakan Teknik Somatik Embryogenesis Tidak Langsung.....	12
Gambar 7.	Alur Pembuatan Media Kultur.....	27
Gambar 8.	Eksplan Biji Tanaman	44
Gambar 9.	Eksplan Organ Batang, Akar, Daun Tanaman.....	44
Gambar 10.	Eksplan Polen, Ovul, dan Anter Tanaman.....	45
Gambar 11.	Eksplan Protoplas Tanaman	45
Gambar 12.	Eksplan yang Meristematik dan Juvenil ... Error! Bookmark not defined.	
Gambar 13.	Kegiatan Sterilisasi Eksplan Biji Anggrek secara Fisik	49
Gambar 14.	Layout Alat dan Bahan Inokulasi Eksplan	51
Gambar 15.	Tahap Perbanyak Inokulum Tanaman Pisang	61
Gambar 16.	Penataan Letak Botol Kultur	61
Gambar 17.	Media Tanam Arang Sekam, Pasir dan Potongan Pakis	83
Gambar 18.	Penanaman Plantlet Jati pada Media Aklimatisasi	84

Gambar 19. Bibit Pisang Hasil Perbanyakkan secara Kultur Jaringan..... **Error! Bookmark not defined.**

DAFTAR TABEL

Tabel 1.	Komposisi Media Dasar Kultur Jaringan	21
Tabel 2.	Kebutuhan Bahan Larutan Stok Media MS.....	23
Tabel 3.	Komposisi Media Kultur Jaringan Tanaman Pisang	25
Tabel 4.	Bahan Sterilan Eksplan, Konsentrasi, Waktu Sterilisasi dan Fungsinya	48

I PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Salah satu dampak dalam peningkatan ekspor komoditi pertanian adalah kebutuhan bibit yang semakin meningkat. Bibit dari suatu varietas unggul yang dihasilkan jumlahnya sangat terbatas, sedangkan bibit tanaman yang dibutuhkan jumlahnya sangat banyak. Penyediaan bibit yang berkualitas baik merupakan salah satu faktor yang menentukan keberhasilan dalam pengembangan pertanian di masa mendatang. Salah satu teknologi harapan yang banyak dibicarakan dan telah terbukti memberikan keberhasilan adalah melalui teknik kultur jaringan. Teknik kultur jaringan dapat menghasilkan tanaman yang serupa dengan induknya atau tanaman yang mempunyai sifat baru dari tanaman induknya. Hal ini tergantung dari tujuan dan teknik yang dilakukan.

Tanaman yang pertama berhasil diperbanyak secara besar-besaran melalui kultur jaringan adalah tanaman anggrek, menyusul berbagai tanaman hias, sayuran, buah-buahan, pangan dan tanaman hortikultura lainnya. Selain itu juga saat ini telah dikembangkan tanaman perkebunan dan tanaman kehutanan melalui teknik kultur jaringan. Terutama untuk tanaman yang secara ekonomi menguntungkan untuk diperbanyak melalui kultur jaringan, sudah banyak dilakukan secara industrial. Namun ada beberapa tanaman yang tidak menguntungkan bila dikembangkan dengan kultur jaringan, misalnya : kecepatan multiplikasinya terlalu rendah, terlalu banyak langkah untuk mencapai tanaman sempurna atau terlalu tinggi tingkat penyimpangan genetik.

Oleh karena itu teknik kultur jaringan pada tanaman pangan dan hortikultura sangat penting untuk dilakukan terutama pada tanaman-tanaman yang : 1). persentase perkecambahan bijinya rendah; 2). tanaman hibrida yang berasal dari tetua yang tidak menunjukkan *male sterility*; 3).

tanaman hibrida yang mempunyai keunikan di salah satu organnya (bentuk atau warna bunga, buah, daun, batang dan lain-lain); 4). perbanyak pohon-pohon elite dan/atau pohon untuk bahan batang bawah); serta 5). tanaman yang selalu diperbanyak secara vegetatif, antara lain : kentang, pisang, strawberry, nenas, dan lain-lain.

B. Tujuan

Tujuan akhir setelah mengkaji materi dan melakukan aktivitas pembelajaran pada modul diklat ini adalah peserta diklat mempunyai kemampuan untuk :

1. Melakukan persiapan kultur jaringan tanaman pangan dan hortikultura dengan disiplin dan tanggung jawab sesuai kriteria

Peserta diklat untuk mempunyai kemampuan ini harus dapat :

- a. Melakukan pengelolaan tanaman induk pada tanaman pangan dan hortikultura sesuai kriteria
- b. Melakukan penyiapan media kultur jaringan tanaman pangan dan hortikultura sesuai kriteria

2. Melakukan pelaksanaan kultur jaringan tanaman pangan dan hortikultura dengan disiplin dan tanggung jawab sesuai kriteria

Peserta diklat untuk mempunyai kemampuan ini harus dapat :

- a. Melakukan inisiasi bahan tanam/eksplan kultur jaringan tanaman pangan dan hortikultura sesuai kriteria
- b. Melakukan penanaman inokulum kultur jaringan tanaman pangan dan hortikultura sesuai kriteria

3. Melakukan pasca kultur jaringan tanaman pangan dan hortikultura dengan disiplin dan tanggung jawab sesuai kriteria

Peserta diklat untuk mempunyai kemampuan ini harus dapat :

- a. Melakukan aklimatisasi plantlet hasil kultur jaringan tanaman pangan dan hortikultura sesuai kriteria

- b. Melakukan pembesaran bibit hasil kultur jaringan tanaman pangan dan hortikultura sesuai kriteria

C. Peta Kompetensi

<table><tr><td>Paket Keahlian</td></tr><tr><td>Agribisnis Perbenihan dan Kultur Jaringan Tanaman</td></tr></table>	Paket Keahlian	Agribisnis Perbenihan dan Kultur Jaringan Tanaman	<table><tr><td>Kelompok Kompetensi A</td></tr><tr><td>Keselamatan dan Kesehatan Kerja, Pelestarian Lingkungan Hidup dan Pembiakan Tanaman</td></tr><tr><td>Kelompok Kompetensi B</td></tr><tr><td>Alat dan Mesin Agribisnis Perbenihan dan Kultur Jaringan</td></tr><tr><td>Kelompok Kompetensi C</td></tr><tr><td>Teknik Produksi Tanaman</td></tr><tr><td>Kelompok Kompetensi D</td></tr><tr><td>Produksi Benih Tanaman</td></tr><tr><td>Kelompok Kompetensi E</td></tr><tr><td>Pengolahan, Pengemasan dan Penyimpanan Benih Tanaman</td></tr><tr><td>Kelompok Kompetensi F</td></tr><tr><td>Pengujian Mutu Benih Tanaman</td></tr><tr><td>Kelompok Kompetensi G</td></tr><tr><td>Kultur Jaringan Tanaman Pangan dan Hortikultura</td></tr><tr><td>Kelompok Kompetensi H</td></tr><tr><td>Kultur Jaringan Tanaman Perkebunan</td></tr><tr><td>Kelompok Kompetensi I</td></tr><tr><td>Pengelolaan Agribisnis Perbenihan dan Kultur Jaringan</td></tr><tr><td>Kelompok Kompetensi J</td></tr><tr><td>Desain Laboratorium Pengujian Mutu Benih dan Kultur Jaringan</td></tr></table>	Kelompok Kompetensi A	Keselamatan dan Kesehatan Kerja, Pelestarian Lingkungan Hidup dan Pembiakan Tanaman	Kelompok Kompetensi B	Alat dan Mesin Agribisnis Perbenihan dan Kultur Jaringan	Kelompok Kompetensi C	Teknik Produksi Tanaman	Kelompok Kompetensi D	Produksi Benih Tanaman	Kelompok Kompetensi E	Pengolahan, Pengemasan dan Penyimpanan Benih Tanaman	Kelompok Kompetensi F	Pengujian Mutu Benih Tanaman	Kelompok Kompetensi G	Kultur Jaringan Tanaman Pangan dan Hortikultura	Kelompok Kompetensi H	Kultur Jaringan Tanaman Perkebunan	Kelompok Kompetensi I	Pengelolaan Agribisnis Perbenihan dan Kultur Jaringan	Kelompok Kompetensi J	Desain Laboratorium Pengujian Mutu Benih dan Kultur Jaringan
	Paket Keahlian																						
	Agribisnis Perbenihan dan Kultur Jaringan Tanaman																						
	Kelompok Kompetensi A																						
	Keselamatan dan Kesehatan Kerja, Pelestarian Lingkungan Hidup dan Pembiakan Tanaman																						
	Kelompok Kompetensi B																						
	Alat dan Mesin Agribisnis Perbenihan dan Kultur Jaringan																						
	Kelompok Kompetensi C																						
	Teknik Produksi Tanaman																						
	Kelompok Kompetensi D																						
	Produksi Benih Tanaman																						
	Kelompok Kompetensi E																						
	Pengolahan, Pengemasan dan Penyimpanan Benih Tanaman																						
Kelompok Kompetensi F																							
Pengujian Mutu Benih Tanaman																							
Kelompok Kompetensi G																							
Kultur Jaringan Tanaman Pangan dan Hortikultura																							
Kelompok Kompetensi H																							
Kultur Jaringan Tanaman Perkebunan																							
Kelompok Kompetensi I																							
Pengelolaan Agribisnis Perbenihan dan Kultur Jaringan																							
Kelompok Kompetensi J																							
Desain Laboratorium Pengujian Mutu Benih dan Kultur Jaringan																							

D. Ruang Lingkup

Modul diklat ini membahas tentang pengelolaan tanaman induk pada tanaman pangan dan hortikultura, penyiapan media kultur jaringan tanaman pangan dan hortikultura, inisiasi bahan tanam/eksplan kultur jaringan tanaman pangan dan hortikultura, penanaman inokulum kultur jaringan tanaman pangan dan hortikultura, aklimatisasi plantlet hasil kultur jaringan tanaman pangan dan hortikultura, dan pembesaran bibit hasil kultur jaringan tanaman pangan dan hortikultura. Selain mempelajari teori, peserta diklat diberikan berbagai kegiatan praktek yang berkaitan dengan pokok bahasan di atas. Setiap pokok bahasan dalam modul diklat ini diikuti dengan lembar aktifitas pembelajaran, lembar latihan soal serta lembar umpan balik dan tindak lanjut untuk lebih menunjang penguasaan aspek pengetahuan dan keterampilan peserta diklat.

E. Cara Penggunaan Modul

Modul diklat ini membekali peserta diklat dalam memperoleh pengetahuan dan keterampilan untuk melakukan kegiatan Kultur Jaringan Tanaman Pangan dan Hortikultura. Hal ini diperlukan oleh para peserta diklat sebagai Guru Produktif di SMK Pertanian pada paket keahlian Agribisnis Perbenihan dan Kultur Jaringan Tanaman.

Penjelasan bagi peserta diklat tentang tata cara belajar dengan modul diklat ini antara lain :

1. *Langkah-langkah belajar yang ditempuh.* Peserta diklat mendapat penjelasan tentang deskripsi materi, indikator pencapaian kompetensi dan aktifitas pembelajaran diklat yang akan dilaksanakan.
2. *Penguasaan konsep.* Peserta secara berkelompok melakukan diskusi untuk menyamakan persepsi terhadap konsep dasar yang dipelajari dipandu oleh fasilitator.

3. *Pengenalan fakta.* Kegiatan ini untuk mengetahui bagaimana konsep kompetensi dasar yang sedang dipelajari dilaksanakan oleh masyarakat.
4. *Refleksi.* Peserta membuat refleksi apa yang akan dilaksanakan terhadap kompetensi dasar atau kompetensi yang sedang dipelajari.
5. *Menyusun analisis dan síntesis.* Analisis dilakukan terhadap tingkat kesesuaian daya dukung yang ada untuk melaksanakan hasil refleksi. Síntesis dilakukan untuk melakukan rekonstruksi atau modifikasi hasil refleksi dengan memperhatikan potensi dan daya dukung yang tersedia agar kompetensi dapat tercapai.
6. *Mengimplementasikan.* Kegiatan ini merupakan implementasi konsep dasar dalam kegiatan produksi.
7. *Sertifikasi.* Peserta diklat setelah menyelesaikan satu kompetensi dasar akan dilakukan sertifikasi kompetensi. Sertifikasi dilakukan oleh eksternal dan menggunakan portfolio hasil belajar.
8. Fasilitator dalam proses diklat berfungsi memfasilitasi kegiatan belajar peserta diklat dan kegiatan ini berfokus pada aktifitas peserta diklat.
9. Semua aktifitas diklat hasilnya dikelola dalam bentuk portfolio sebagai bukti penguasaan kompetensi.

II KEGIATAN PEMBELAJARAN 1 PERSIAPAN KULTUR JARINGAN TANAMAN PANGAN DAN HORTIKULTURA

A. Tujuan

Tujuan pembelajaran : setelah mengkaji materi dan melakukan aktivitas pembelajaran peserta diklat mampu melakukan persiapan kultur jaringan tanaman pangan dan hortikultura dengan disiplin dan tanggung jawab sesuai kriteria

B. Indikator Pencapaian Kompetensi

Indikator keberhasilan : setelah mengkaji materi dan melakukan aktivitas pembelajaran peserta diklat diharapkan mampu :

1. Melakukan pengelolaan tanaman induk pada tanaman pangan dan hortikultura sesuai kriteria
2. Melakukan penyiapan media kultur jaringan tanaman pangan dan hortikultura sesuai kriteria

C. Uraian Materi

1. Pengelolaan Tanaman Induk pada Tanaman Pangan dan Hortikultura

a. Konsep Kultur Jaringan Tanaman

Teknik kultur jaringan adalah suatu metode untuk mengisolasi bagian tanaman seperti sel, sekelompok sel, jaringan atau organ, serta membudidayakannya dalam lingkungan yang terkendali (secara *in vitro*) dan aseptik, sehingga bagian tanaman tersebut dapat beregenerasi menjadi tanaman lengkap kembali. Prinsip utama dari teknik kultur jaringan adalah perbanyakan tanaman dengan menggunakan bagian vegetatif tanaman menggunakan media buatan yang dilakukan di tempat steril. Penggunaan

kultur jaringan untuk pembiakan klonal didasarkan pada anggapan bahwa jaringan secara genetik tetap stabil jika dipisahkan dari tumbuhan induk dan ditempatkan dalam kultur. Hal ini berlaku jika tumbuhan dibiakkan dengan tunas ketiak atau tunas liar yang secara langsung dipisahkan dari tanaman.

Landasan teknik kultur jaringan tanaman didasarkan atas tiga kemampuan dasar dari tanaman, yaitu :

- Totipotensi

Totipotensi adalah potensi atau kemampuan dari sebuah sel untuk tumbuh dan berkembang menjadi tanaman secara utuh jika distimulasi dengan benar dan sesuai. Implikasi dari totipotensi adalah bahwa semua informasi tentang pertumbuhan dan perkembangan suatu organisme terdapat di dalam sel. Walaupun secara teoritis seluruh sel bersifat totipotensi, tetapi yang mengekspresikan keberhasilan terbaik adalah sel yang meristematik.

- Rediferensiasi

Rediferensiasi adalah kemampuan sel-sel masak (*mature*) kembali menjadi ke kondisi meristematik dan berkembang dari satu titik pertumbuhan baru yang diikuti oleh rediferensiasi yang mampu melakukan reorganisasi membentuk organ tanaman yang baru.

- Kompetensi

Kompetensi menggambarkan potensi endogen dari sel atau jaringan untuk tumbuh dan berkembang dalam satu jalur tertentu. Contohnya kompetensi sel kalus embriogenik adalah kemampuan untuk berkembang menjadi embrio fungsional penuh. Sebaliknya adalah sel kalus yang non-kompeten secara morfogenetik tidak mempunyai kemampuan untuk berkembang menjadi embrio fungsional penuh.

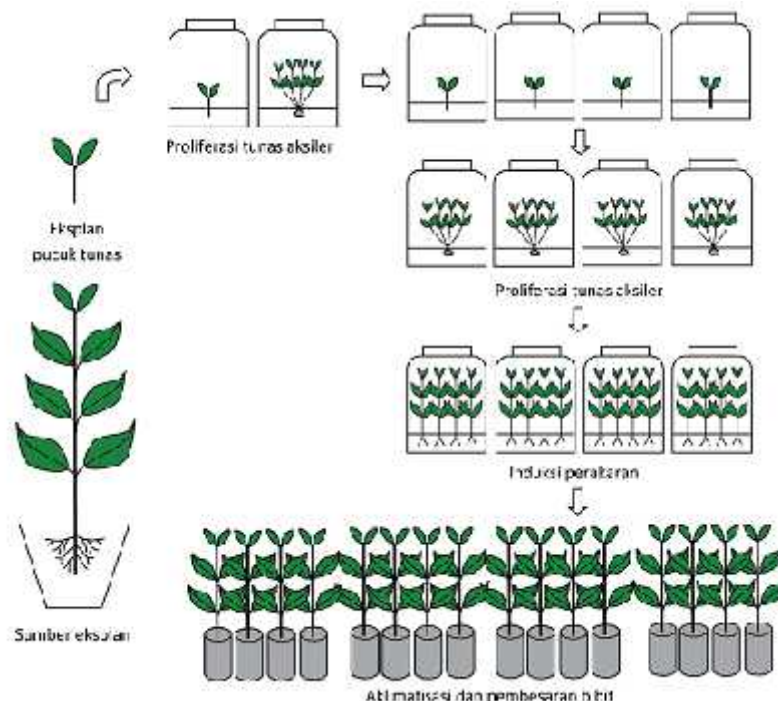
Perbanyakan bibit dengan menggunakan teknik kultur jaringan sering kali disebut mikropropagasi. Mikropropagasi diartikan sebagai perbanyakan tanaman dengan genotipe unggul menggunakan teknik kultur jaringan, tetapi teknik yang sering digunakan untuk produksi bibit tanaman ada tiga, yaitu :

1) Teknik kultur tunas

Teknik kultur tunas yaitu perbanyakan tanaman dengan cara merangsang pertumbuhan (proliferasi) tunas aksiler atau lateral yang sudah ada pada eksplan. Teknik kultur tunas umumnya ada 4 tahap yaitu tahap inisiasi tunas, tahap multiplikasi tunas, tahap induksi perakaran dan aklimatisasi. Kultur tunas sering digunakan untuk produksi bibit secara komersial, karena lebih mudah dilakukan pada banyak jenis tanaman dan lebih menjamin kestabilan genetik pada bibit tanaman yang dihasilkan dibandingkan dengan teknik organogenesis ataupun embriogenesis somatik. Teknik kultur tunas untuk produksi bibit secara komersial dilakukan melalui dua cara, yaitu :

- Proliferasi tunas

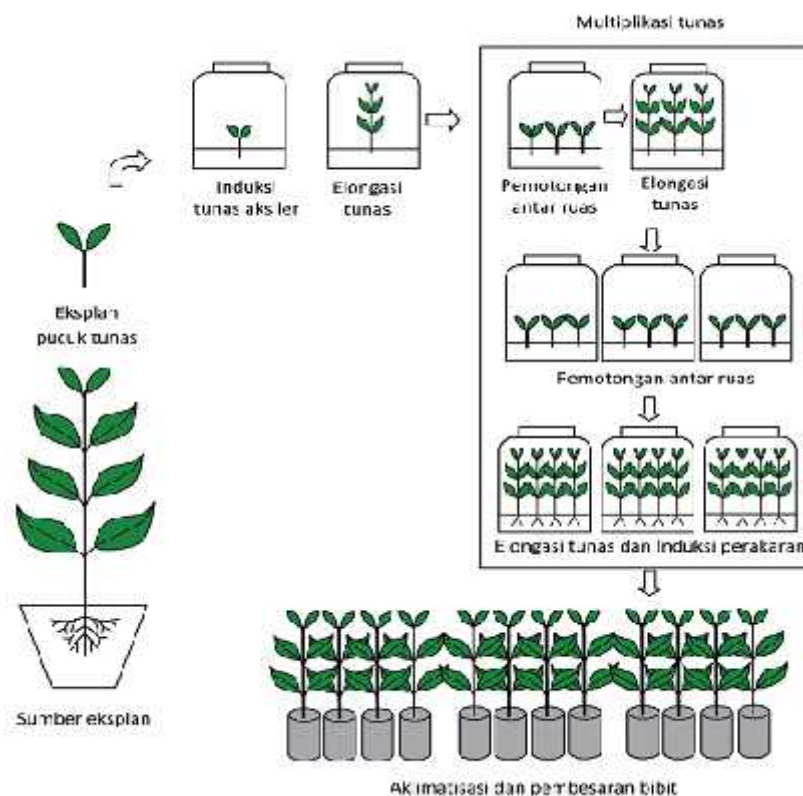
Prinsip proliferasi tunas adalah dengan meningkatkan jumlah pertumbuhan (proliferasi) tunas aksiler dan pada satu buah nodus dirangsang untuk tumbuh banyak tunas aksiler/lateral.



Gambar 1. Diagram Alur Proses Produksi Bibit Tanaman Menggunakan Teknik Kultur Tunas dengan Cara Proliferasi Tunas Aksiler (Sulistiani dan Ahmad Yani, 2012)

Teknik proliferasi tunas dapat dilakukan dengan cara : 1). mematikan dominansi apikal dengan cara memotong/mematikan tunas pucuk serta menginduksi pertumbuhan tunas lateral dengan menggunakan zat pengatur tumbuh sitokinin pada media kultur dan 2). meletakkan eksplan dalam media secara horizontal. Contohnya pada mikropropagasi tanaman pisang, eksplan bonggol pisang dibelah dua secara vertikal, kemudian belahan bonggol tersebut ditanam secara horizontal untuk merangsang pertumbuhan tunas-tunas lateral.

- Kultur nodus



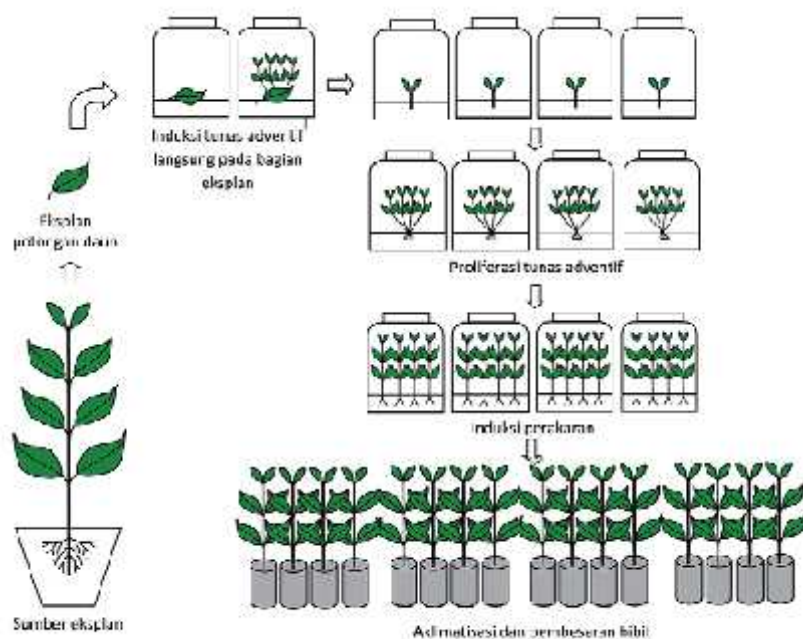
Gambar 2. Diagram Alur Proses Produksi Bibit Tanaman Menggunakan Teknik Kultur Tunas dengan Kultur Nodus (Sulistiani dan Ahmad Yani, 2012)

Prinsip kultur nodus adalah dengan menumbuhkan tinggi tunas hingga 5-10 cm tanpa cabang, mempunyai 4-5 nodus tunas, kemudian batang tunas tersebut dipotong-potong, dengan satu

buah nodus (calon tunas) pada setiap potongan batang tersebut. Kultur nodus sangat penting untuk tanaman dengan tunas yang tumbuh tinggi dan sulit diinduksi tunas lateralnya dengan menggunakan sitokinin, seperti pada mikropopagasi tanaman kentang.

2) Teknik organogenesis

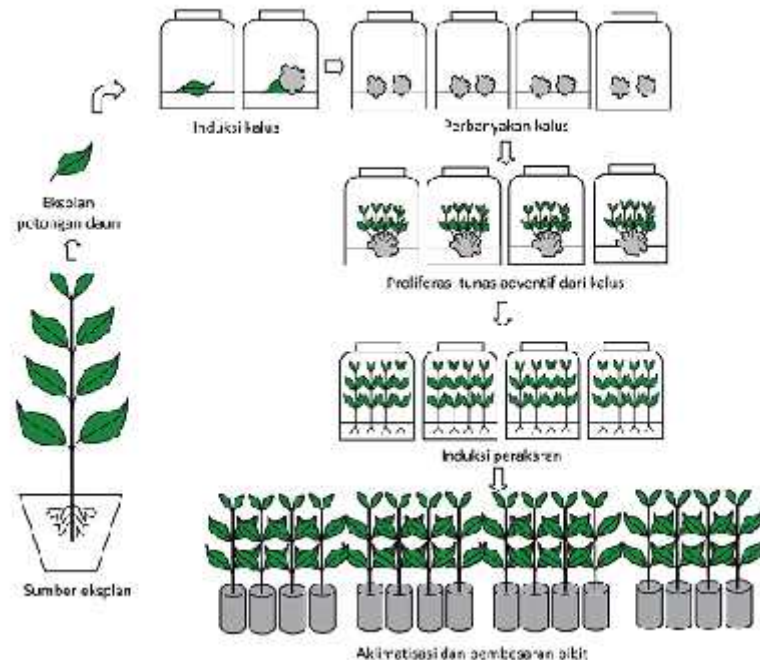
Teknik organogenesis yaitu pembentukan tunas atau akar adventif baik inisiasi langsung dari eksplan maupun inisiasi dari jaringan kalus. Tunas ini tumbuh pada bagian tanaman yang tidak umum, seperti bagian daun, bagian batang antara nodus, kotiledon atau akar. Tunas adventif dapat langsung terbentuk dari jaringan eksplan, misalnya tunas tumbuh langsung dari bagian daun. Hal ini disebut teknik organogenesis langsung.



Gambar 3. Diagram Alur Proses Produksi Bibit Tanaman Menggunakan Teknik Organogenesis Langsung (Sulistiani dan Ahmad Yani, 2012)

Ada pula tunas adventif tumbuh secara tidak langsung dari eksplan, dimana eksplan membentuk kalus terlebih dahulu kemudian dari kalus

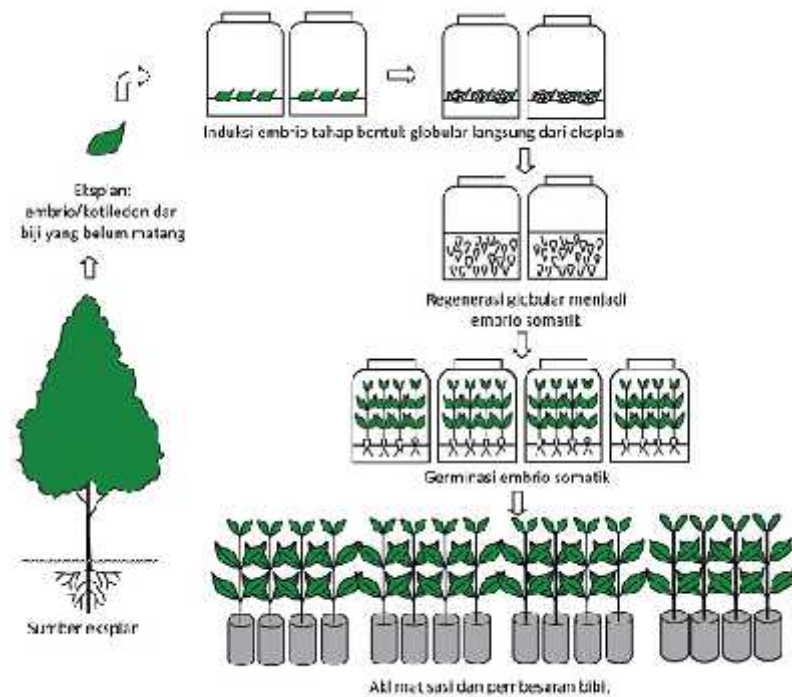
tersebut baru tumbuh tunas adventif. Hal tersebut disebut teknik organogenesis tidak langsung seperti pada Gambar 4.



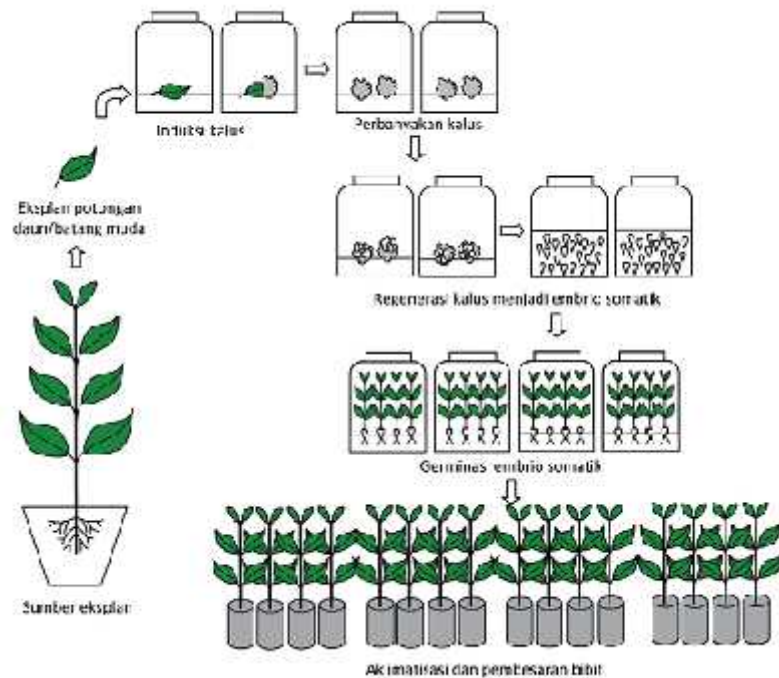
Gambar 4. Diagram Alur Proses Produksi Bibit Tanaman Menggunakan Teknik Organogenesis Tidak Langsung (Sulistiani dan Ahmad Yani, 2012)

3) Teknik somatik embryogenesis

Teknik somatik embryogenesis yaitu pembentukan embrio dari sel-sel somatik baik inisiasi langsung dari organ maupun inisiasi dari jaringan kalus. Sel-sel somatik pada teknik mikropropagasi ini akan berkembang melalui pembelahan sel dan membentuk embrio yang sama dengan embrio zigotik, yaitu mempunyai struktur bipolar yang terdiri dari jaringan meristem tunas dan meristem akar. Embrio somatik ini dapat tumbuh secara langsung dari bagian eksplan atau secara tidak langsung yaitu melalui fase pembentukan kalus kemudian baru terbentuk embryo somatik pada kalus tersebut. Eksplan untuk teknik embriogenesis langsung adalah embrio zigotik yang belum matang karena jaringannya bersifat embriogenik sehingga hanya memerlukan sedikit perlakuan ZPT untuk merubahnya menjadi embrio somatik.



Gambar 5. Diagram Alur Proses Produksi Bibit Tanaman Menggunakan Teknik Somatik Embryogenesis Langsung (Sulistiani dan Ahmad Yani, 2012)



Gambar 6. Diagram Alur Proses Produksi Bibit Tanaman Menggunakan Teknik Somatik Embryogenesis Tidak Langsung (Sulistiani dan Ahmad Yani, 2012)

Beberapa kelebihan dapat diambil dari aplikasi teknik kultur jaringan sebagai produksi bibit tanaman, di antaranya :

- dapat dilakukan dengan cepat dan dalam skala banyak dengan faktor perbanyakan yang sangat tinggi terutama pada tanaman herba
- dapat dihasilkan bibit setiap waktu tanpa harus menunggu musim berbuah
- dapat dihasilkan bibit yang sama dengan induknya sehingga tingkat keseragaman pertumbuhan bibit di lapangan sangat tinggi
- dapat dihasilkan bibit yang bebas penyakit sehingga memudahkan apabila dilakukan pertukaran antar negara
- bahan tanaman yang diperlukan dari pohon induk jauh lebih sedikit dibandingkan dengan perbanyakan secara konvensional
- tempat yang digunakan untuk produksi bibit relatif lebih kecil untuk menghasilkan bibit dalam jumlah yang banyak
- apabila eksplan (bahan tanaman yang ditanam secara kultur jaringan) sudah berhasil dibiakkan dalam botol maka untuk selanjutnya bibit dapat diproduksi secara besar-besaran

Namun ada beberapa kendala aplikasi teknik kultur jaringan sebagai produksi bibit tanaman, antara lain :

- adanya mutasi pada bibit yang dihasilkan sehingga tidak sama dengan pohon induknya yang dapat disebabkan metode perbanyakan, jenis dan konsentrasi zat pengatur tumbuh yang digunakan, penggunaan kumpulan sel somatik yang memang berbeda secara genetis pada tanaman induknya, frekuensi pemindahan biakan pada media baru, dan tipe jaringan yang digunakan
- keberhasilan induksi perakaran dari tunas yang telah dibentuk secara *in vitro* umumnya sedikit terutama pada tanaman tahunan atau berkayu
- aklimatisasi atau adaptasi tanaman hasil kultur jaringan pada lingkungan yang baru di luar botol kultur sering mengalami kegagalan

- kapasitas regenerasi plantlet akan turun turun terutama apabila sering dilakukan sub kultur
- proses sterilisasi bahan tanaman dan kontaminasi pada biakan karena lingkungan yang kurang memadai
- diperlukan tenaga kerja yang intensif, terdidik serta mempunyai keterampilan khusus
- membutuhkan biaya operasional dan fasilitas produksi yang mahal sehingga membuat harga bibit tanaman hasil kultur jaringan lebih mahal

b. Penanaman dan Pemeliharaan Induk pada Tanaman Pangan dan Hortikultura

Tanaman induk adalah tanaman pilihan yang digunakan sebagai sumber bahan tanam/eksplan baik itu tanaman kecil ataupun tanaman besar yang sudah produktif yang berasal dari biji atau hasil perbanyakan vegetatif. Tanaman induk yang digunakan sebagai sumber bahan tanam/eksplan untuk produksi bibit secara kultur jaringan harus memenuhi persyaratan, yaitu :

- memiliki sifat unggul dalam produktifitas dan ketahanan terhadap serangan organisme pengganggu tanaman
- nama varietas tanaman induk dan asal-usulnya (nama pemilik, tempat asal) harus jelas, sehingga memudahkan pelacakannya
- tanaman induk memiliki nilai ekonomis agar biaya investasi alat dan biaya produksi bibit secara kultur jaringan yang cukup tinggi dapat cepat tercapai
- ditanam di tempat yang terpisah dari tanaman lain yang dapat menjadi sumber penularan penyakit atau penyerbukan silang, terutama untuk tanaman induk yang dapat diperbanyak secara generatif.

Tanaman induk ditanam dan dipelihara di kebun induk yang terdiri dari beberapa varietas tanaman unggul untuk sumber penghasil bahan tanam/eksplan untuk perbanyakan dalam jumlah besar. Tanaman

induk yang ditanam umumnya adalah tanaman hasil perbanyakan vegetatif (okulasi, sambung, susuan, cangkok, setek dan anakan) dan memenuhi persyaratan sebagai tanaman induk. Lokasi pohon induk sebaiknya tidak jauh dengan lokasi perbanyakan tanaman untuk memudahkan pelaksanaan perbanyakan bibit secara kultur jaringan.

Prinsip dasar penanaman tanaman induk adalah untuk memperoleh bahan tanam dari bagian tanaman dengan jaringan muda yang sedang aktif tumbuh sehingga diperlukan tahap pemuasaan bahan tanam/eksplan. Hal ini dikarenakan jaringan tanaman yang masih muda mempunyai daya regenerasi yang lebih tinggi. Daya regenerasi yang tinggi disebabkan oleh sel-selnya yang masih aktif membelah diri dan relatif lebih bersih atau mengandung sedikit mikroorganisme kontaminan sehingga memudahkan dalam tahap sterilisasi.

Salah satu contoh tanaman hortikultura yang perlu dilakukan pemuasaan sumber bahan tanam adalah pada tanaman induk pisang. Tanaman induk pisang yang dipilih sebagai pohon induk bisa berupa rumpun dewasa yang sudah berbuah dan menghasilkan anakan atau tanaman hasil kultur jaringan yang bonggolnya sudah berdiameter minimal 15 cm dan harus sehat dan bebas dari hama dan penyakit. Ukuran tunas pisang yang akan dijadikan bahan tanam sangat menentukan keberhasilan. Oleh karena itu, sebaiknya sebaiknya kultur jaringan tanaman pisang dimulai dengan bahan tanam yang muda dengan ukuran yang lebih kecil. Cara pemuasaan bahan tanam pada induk tanaman pisang dapat dilakukan sebagai berikut :



1. Bonggol anakan pisang dewasa diambil dari tanaman induk dengan ukuran diameter bonggol antara 15-25 cm

	2. Pelepah batang pisang dikupas hingga mencapai pelepah yang paling dalam lalu pucuk tunas bagian dalam dibuang memakai pisau
	3. Bonggol anakan pisang ditanam di media tanah dalam polibag besar, tetapi bagian bekas pucuk tunas muncul di permukaan tanah
	4. Anakan-anakan baru yang muncul pada bonggol pisang digunakan untuk bahan tanam perbanyakan secara kultur jaringan

Tanaman induk pisang selama proses pemudaan bahan tanam/eksplan perlu dilakukan pemeliharaan antara lain :

- bonggol pisang disemprot dengan fungisida dan bakterisida sebanyak 2 kali seminggu untuk menghindari pembusukan bonggol terlalu cepat
- pemupukan menggunakan pupuk Urea diberikan untuk mempercepat pertumbuhan tunas baru pada bonggol pisang
- bonggol indukan pisang akan menghasilkan anakan baru selama 2 bulan dan setelah itu bonggol akan busuk sehingga harus dibuat bonggol indukan yang baru

2. Penyiapan Media Kultur Jaringan Tanaman Pangan dan Hortikultura

a. Komponen dan Berbagai Jenis Media Kultur

Media tanam kultur jaringan merupakan media yang diperlukan agar sel atau jaringan tanaman yang diisolasi dapat tumbuh dan berkembang menjadi tanaman yang lengkap. Media tersebut mempunyai komposisi nutrisi yang dapat mendukung pertumbuhan eksplan sesuai dengan yang diinginkan. Kebutuhan nutrisi untuk pertumbuhan bahan tanam/eksplan yang optimal sangat bervariasi antar jenis tanaman, bahkan di antara bagian tanaman yang berbeda.

Komposisi media tanam kultur jaringan terdiri dari sejumlah unsur yang diperlukan untuk pertumbuhan bahan tanam/eksplan dalam lingkungan buatan, dengan pengelompokan sebagai berikut :

1) Unsur hara makro dan mikro

Kebutuhan garam anorganik untuk tanaman yang dikulturkan secara *in vitro* pada dasarnya sama dengan kebutuhan garam anorganik tanaman yang tumbuh normal di lingkungan alamnya. Garam anorganik yang dibutuhkan tanaman dalam jumlah takaran banyak dikenal dengan unsur hara makro, meliputi : unsur N, P, K, Ca, Mg, dan S. Garam anorganik yang dibutuhkan tanaman dalam jumlah kecil dikenal dengan unsur hara mikro, meliputi : unsur Fe, Cu, Mn, Zn, B, Mo dan Co.

2) Vitamin dan bahan organik lain

Kultur tanaman secara *in vitro* memerlukan penambahan vitamin yang berfungsi untuk meningkatkan pertumbuhan sel tanaman. Vitamin yang sering digunakan dari kelompok vitamin B, yaitu thiamin-HCl (Vitamin B1), piridoksin-HCl (Vitamin B6), asam nikotinat, riboflavin (Vitamin B2). Asam amino dan bahan organik yang sering digunakan adalah glutamin, asam aspartat, arginin, mio inositol, adenin sulfat, casein hidrolisat, glisin, dan lain-lain. Mio-inositol atau disebut juga meso-

inositol sering digunakan sebagai salah satu komponen media yang penting, karena terbukti merangsang pertumbuhan jaringan yang dikulturkan.

3) Gula.

Gula digunakan sebagai sumber energi dan karbon dalam media kultur, karena pada umumnya tanaman yang dikulturkan secara *in vitro* tidak melakukan fotosintesis yang sempurna, sehingga memerlukan karbohidrat yang sudah jadi. Gula yang paling sering digunakan berupa sukrosa, seperti, gula pasir yang digunakan sehari-hari dapat dipakai karena mengandung 99.9 % sukrosa. Glukosa dan fruktosa dapat digunakan tetapi hasilnya tidak selalu lebih baik daripada sukrosa. Konsentrasi sukrosa yang digunakan di media kultur jaringan tanaman pada konsentrasi 2-3 %.

4) Bahan suplemen alami.

Bahan-bahan suplemen alami, seperti jus tomat, jus jeruk, air kelapa, ekstrak malt, ekstrak ragi, kentang, bubur pisang kadang-kadang ditambahkan pada media kultur untuk mendapatkan pertumbuhan kultur yang optimal. Bahan-bahan ini dipercaya merupakan sumber asam amino, peptida, vitamin, dan zat pengatur tumbuh alami. Selain itu ada bahan suplemen alami berupa arang aktif yang berfungsi untuk menyerap senyawa toksik yang dihasilkan oleh eksplan sebagai anti oksidan dan juga digunakan untuk memacu pertumbuhan akar.

5) Zat pengatur tumbuh (ZPT)

Zat pengatur tumbuh adalah senyawa organik bukan nutrisi tanaman, yang aktif dalam jumlah kecil (10^{-6} - 10^{-5}), disintesa pada bagian tertentu tanaman dan pada umumnya ditranslokasi ke bagian lain tanaman di mana zat tersebut menimbulkan respon biokimia, fisiologi dan morfologi. Zat pengatur tumbuh pada tanaman ada 5 kelompok, yaitu : auksin, sitokinin, geberelin, asam absisat, dan etilen, tetapi yang paling sering digunakan dalam teknik kultur jaringan tanaman adalah auksin

dan sitokinin. Zat pengatur tumbuh mempunyai peranan penting dalam kegiatan kultur jaringan terutama dalam pengaturan perkembangan eksplan, misalnya organogenesis ataupun embriogenesis dapat dilakukan dengan cara mengatur macam dan konsentrasi zat pengatur tumbuh tertentu pada kombinasi yang optimal.

6) Agar, Bahan pematat media.

Bahan pematat yang digunakan untuk membuat media padat pada umumnya menggunakan agar. Fungsinya untuk memadatkan larutan media supaya eksplan dapat ditanam pada media dan dapat menyerap unsur-unsur hara yang terkandung dalam media dengan baik.

7) Air destilasi (akuades)

Air yang digunakan untuk media kultur harus benar-benar berkualitas baik, karena air meliputi lebih dari 95 % komponen media sehingga rendahnya kualitas air akan menyebabkan pertumbuhan tanaman terhambat. Air sumur atau air ledeng tidak bisa digunakan untuk pembuatan media karena terlalu banyak mengandung kontaminasi bahan organik, anorganik atau mikroorganisme. Air destilasi yang digunakan sebagai pelarut komponen media kultur dihasilkan dari alat penyulingan air. Prosesnya dengan cara mengubah air menjadi uap air, kemudian mengkondensasikan uap air tersebut menjadi air destilasi yang tidak lagi mengandung mineral dan senyawa organik.

Ada banyak formula/resep media tanam kultur jaringan yang pada umumnya diberi nama sesuai dengan nama penemunya, antara lain :

- 1) Media Knop dapat juga digunakan untuk menumbuhkan kalus wortel. Kultur kalus, biasanya ditumbuhkan pada media dengan konsentrasi garam-garam yang rendah seperti dalam kultur akar dengan penambahan suplemen seperti glukosa, gelatine, thiamine, cysteine-HCl dan IAA (Dodds and Roberts, 1983).
- 2) Media White dikembangkan oleh Hildebrandt untuk keperluan kultur jaringan tumor bunga matahari, ditemukan bahwa unsur makro yang

dibutuhkan kultur tersebut, lebih tinggi dari pada yang dibutuhkan oleh kultur tembakau. Konsentrasi NO_3^- dan K^+ yang digunakan Hildebrandt ini lebih tinggi dari media white, tetapi masih lebih rendah dari pada media-media lain yang umum digunakan sekarang.

- 3) Media Knudson dan media Vacin and Went, media ini dikembangkan khusus untuk kultur anggrek. Knudson pada tahun 1922, menemukan penambahan 7.6 mM NH_4^+ disamping 8.5 mM NO_3^- , sangat baik untuk perkembangbiakan dan pertumbuhan biji anggrek. Penambahan NH_4^+ ternyata dibutuhkan untuk perkembangan protocorm.
- 4) Media Nitsch & Nitsch, menggunakan NO_3^- dan K^+ dengan kadar yang cukup tinggi untuk mengkulturkan jaringan tanaman *artichoke Jerusalem*. Pertumbuhan sel dari jaringan suatu organ dibandingkan dengan jaringan tumor tanaman *Venca rosea (Catharanthus roseus)*, menunjukkan bahwa penambahan ammonium ke dalam media White yang sudah dimodifikasi, mempunyai pertumbuhan yang lebih baik. Konsentrasi NO_3^- , NH_4^+ , K^+ dan H_2PO_4^- yang diperoleh, hampir sama dengan yang dikembangkan oleh Miller (Wood & Braun (1961 dalam Gunawan 1988)).
- 5) Media Murashige and Skoog (media MS) merupakan perbaikan komposisi media Skoog, terutama kebutuhan garam anorganik yang mendukung pertumbuhan optimum pada kultur jaringan tembakau. Media MS mengandung 40 mM N dalam bentuk NO_3^- dan 29 mM N dalam bentuk NH_4^+ . Kandungan N ini, lima kali lebih tinggi dari N total yang terdapat pada media Miller, 15 kali lebih tinggi dari media tembakau Hildebrandt, dan 19 kali lebih tinggi dari media White. Kalium juga ditingkatkan sampai 20 mM, sedangkan P 1.25 mM. Unsur makro lainnya konsentrasinya dinaikkan sedikit. Pertama kali unsur-unsur makro dalam media MS dibuat untuk kultur kalus tembakau, tetapi komposisi MS ini sudah umum digunakan untuk kultur jaringan jenis tanaman lain.

- 6) Media Gamborg B5 (media B5) pertama kali dikembangkan untuk kultur kalus kedelai dengan konsentrasi nitrat dan amonium lebih rendah dibandingkan media MS. Media ini dikembangkan dari komposisi PRL-4, media ini menggunakan konsentrasi NH_4^+ yang rendah, karena konsentrasi yang lebih tinggi dari 2 mM menghambat pertumbuhan sel kedelai. Fosfat yang diberikan setelah 1 mM, Ca^{2+} antara 1-4 mM, sedangkan Mg^{2+} antara 0.5-3 mM (Gamborg et al, 1968).

Tabel 1. Komposisi Media Dasar Kultur Jaringan

Bahan kimia	Komp. mg/l	Nitrat & Nitrat mg/l	MS mg/l	B5 mg/l	B5 mg/l	B5 mg/l	B5 mg/l	B5 mg/l	B5 mg/l	B5 mg/l	B5 mg/l	B5 mg/l	B5 mg/l	B5 mg/l
NH_4NO_3	-	-	-	1.25	400	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NH_4Cl	-	770	1550	-	-	-	-	-	-	400	-	-	-	-
$\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	300	300
NaH_2PO_4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	600	-	-	1000	-
$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	30
NaH_2PO_4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	90
KNO_3	250	150	1100	1500	2650	50	-	-	-	500	-	-	1500	-
$\text{Ca(NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	1100	-	-	-	-	100	-	-	-	500	-	-	-	-
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	-	135	110	150	160	75	90	250	-	500	90	250	500	150
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	250	135	370	250	180	720	250	370	250	250	100	250	-	-
Mg_2PO_4	250	110	110	-	400	-	120	110	-	-	-	-	-	-
$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	-	-	-	150	-	160	-	-	-	-	-	-	-	-
Na_2SO_4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	-	250	250	250	250	-	-	250	-	-	-	-	-	-
$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fe_2SO_4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Na_2EDTA	-	37.5	37.5	37.5	37.5	-	-	37.5	-	-	20.0	37.5	-	-
$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	-	-	22.0	-	4.0	10.0	10.0	22.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	-	-	8.0	2.0	1.5	1.0	1.0	1.5	-	0.001	1.0	1.0	1.0	1.0
H_2BO_3	-	-	6.0	3.0	1.3	1.0	1.0	3.2	-	0.001	5.0	3.0	3.0	3.0
KI	-	-	0.05	0.05	0.3	0.05	0.05	-	-	-	0.05	0.05	0.05	0.05
Cu	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	-	0.05	0.05	0.05	-	-	-	0.05	-	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	-	0.005	0.005	0.005	-	-	-	0.005	-	0.005	0.005	0.005	0.005	0.005
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	-	-	0.005	0.005	-	-	-	-	-	-	0.005	0.005	0.005	0.005
$\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
KNO_3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Biotin	-	0.05	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Methylcobalamin	-	100	100	100	-	-	-	100	-	-	100	100	100	100
Nicotin	-	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	-	0.1	-	-	0.1	0.1	0.1	0.1
Pyridoxine HCl	-	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	-	0.1	-	-	0.1	0.1	0.1	0.1
Thiamine HCl	-	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	-	0.1	-	-	0.1	0.1	0.1	0.1
Gibberellins	-	2.0	2.0	-	2.0	2.0	-	-	-	-	-	-	-	-
Folic acid	-	0.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sucrose	-	20000	20000	20000	20000	20000	20000	20000	20000	20000	20000	20000	20000	20000
Gluconic	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

- 7) Media Schenk & Hildebrant (media SH) merupakan media yang juga cukup terkenal, untuk kultur kalus tanaman monokotil dan dikotil (Trigiano & Gray, 2000). Konsentrasi ion-ion dalam komposisi media SH sangat mirip dengan komposisi pada media Gamborg dengan perbedaan kecil yaitu level Ca^{2+} , Mg^{2+} , dan PO_4^{3-} yang lebih tinggi. Schenk & Hildebrant mempelajari pertumbuhan jaringan dari 37 jenis

tanaman dalam media SH dan mendapatkan bahwa : 32 % dari spesies yang dicobakan, tumbuh dengan sangat baik, 19% baik, 30% sedang, 14% kurang baik, dan 5% buruk pertumbuhannya. Media SH ini cukup luas penggunaannya, terutama untuk tanaman legume.

- 8) Media WPM (Woody Plant Medium) yang dikembangkan oleh Lioyd & Mc Coen pada tahun 1981, merupakan media dengan konsentrasi ion yang lebih rendah dari media MS. Media diperuntukkan khusus tanaman berkayu, dan dikembangkan oleh ahli lain, tetapi sulfat yang digunakan lebih tinggi dari sulfat pada media WPM. Saat ini WPM banyak digunakan untuk memperbanyak tanaman hias berperawakan perdu dan pohon-pohon.

b. Teknik Pembuatan Media Kultur

Kebutuhan media dan larutan stok diartikan sebagai kebutuhan akan jumlah bahan media dan larutan stok yang harus dipenuhi pada waktu yang diperlukan pada beberapa macam/tahap kegiatan kultur jaringan. Kebutuhan media ini dapat dibedakan atas kebutuhan per kegiatan kultur jaringan per satuan waktu tertentu dan kebutuhan untuk total kegiatan kultur jaringan per satuan waktu tertentu. Kebutuhan media dan larutan stok ini ditentukan oleh sejumlah faktor :

- 1) Jumlah dan jenis bibit yang akan diproduksi
Semakin banyak bibit yang akan diproduksi, makin banyak kebutuhan media yang harus disediakan per satuan waktu tertentu. Antar jenis bibit tanaman yang satu dengan jenis bibit tanaman yang lainnya akan berbeda dalam hal kebutuhan media.
- 2) Jenis media yang dipilih
Pemilihan formula/resep akan menentukan jumlah dan jenis kebutuhan media, mengingat komposisi formula pada setiap formula tidak sama. Kebutuhan bahan untuk pembuatan media MS relatif lebih besar per komponen media dibandingkan formula yang lain. Formula

media MS juga kadang-kadang disesuaikan dengan kebutuhan kultur, misalnya ada yang memodifikasi menjadi $\frac{1}{2}$ MS, dan lain-lain.

3) Metoda kultur jaringan yang dipilih

Metode kultur jaringan dapat dibedakan atas: metoda perbanyakan tunas samping (aksilar), metoda perbanyakan tunas adventif (langsung dan tidak langsung), dan metoda embriogenesis (langsung dan tidak langsung). Tiap-tiap metode yang dipilih tentu akan berbeda dalam hal penggunaan media.

4) Frekuensi penggandaan propagul

Semakin banyak propagul yang diperbanyak makin banyak kebutuhan media.

5) Cara pengakaran kultur

Ada dua cara pengakaran kultur: cara in-vitro dan ex-vitro. Pengakaran secara in vitro akan membutuhkan media untuk media pengakaran. Pada pengakaran ex vitro, media yang digunakan dapat menggunakan media pembibitan.

Kebutuhan media ini secara rinci dihitung berdasarkan tahapan-tahapan pekerjaan yang berkaitan dengan pemakaian media, yaitu: tahap inisiasi kultur (penumbuhan awal eksplan), tahap penggandaan propagul (tergantung frekuensi penggandaan), tahap pembesaran kultur sampai planlet siap diaklimatisasikan.

Tabel 2. Kebutuhan Bahan Larutan Stok Media MS

Kode Stok	Nama Stok	Bahan yang ditimbang (mg)	Volume wadah stok (ml)	Stok yang diambil untuk 1 liter media
	Stok Makro	10 X		
A	KNO ₃	19.000	100	10
B	NH ₄ NO ₃	16.500	100	10
C	CaCl ₂ .2H ₂ O	4.400	100	10
D	MgSO ₄ .7H ₂ O	3.700	100	10
E	KH ₂ PO ₄	1.700	100	10

Kode Stok	Nama Stok	Bahan yang ditimbang (mg)	Volume wadah stok (ml)	Stok yang diambil untuk 1 liter media
F	Stok mikro 1	100 X	100	1
	H ₃ BO ₃	62		
	Na ₂ MoO ₄ .7H ₂ O	2,5		
	CoCl ₂ .6H ₂ O	0,25		
	KI	8,3		
	MnSO ₄	169		
	ZnSO ₄ .7H ₂ O	86		
	CuSO ₄ .5H ₂ O	0,25		
G	Stok mikro 2	10 X	100	10
	FeSO ₄ .7H ₂ O	278		
	Na ₂ EDTA	373		
H	Stok Vitamin	10 X	100	10
	Glisin	20		
	Asam nikotin	5		
	Piridoksin HCl	5		
	Thiamin HCl	1		
I	Stok Hormon misal :			
	BAP	100	100	1
	NAA	100	100	1

1). Penyiapan Bahan dan Peralatan Media Kultur

Bahan-bahan yang diperlukan untuk pembuatan media MS sebanyak 1 liter sesuai kebutuhan berdasarkan perhitungan di atas adalah :

- larutan-larutan stok :
 - makro : KNO₃, NH₄NO₃, CaCl₂.2H₂O, MgSO₄.7H₂O, dan KH₂PO₄ masing-masing 10 ml
 - mikro 1 (campuran H₃BO₃, Na₂MoO₄.7H₂O, CoCl₂.6H₂O, KI, MnSO₄, ZnSO₄.7H₂O, dan CuSO₄.5H₂O) 1 ml
 - mikro Fe-EDTA (campuran FeSO₄.7H₂O dan Na₂EDTA) 10 ml
 - vitamin (campuran glisin, asam nikotin, piridoksin HCl dan Thiamin HCl) 10 ml.
- komponen media yang lain : gula 30 gram, agar-agar 8 gram, mio-inositol 0,1 gram (bila dipisahkan dari stok vitamin) dan aquades

Tabel 3. Komposisi Media Kultur Jaringan Tanaman Pisang (Sulistiani dan Ahmad Yani, 2012)

No	Tahapan Perbanyakan Tanaman	Komposisi Media Kultur Jaringan
1	Tahap Induksi Tunas	MS tanpa ZPT dan MS Cair +5 mg/l BAP
2	Tahap Multiplikasi Tunas 1	MS + 2 mg/l BAP
3	Tahap Multiplikasi Tunas 2	MS + 2 mg/l BAP + 0.2 mg/l NAA
4	Tahap Elongasi Tunas	MS tanpa ZPT
5	Tahap Induksi Perakaran	½ MS tanpa ZPT

2). Pencampuran Bahan Media Kultur

Ada beberapa prinsip dalam mencampur bahan media kultur jaringan, yaitu :

- Prinsip dalam pencampuran larutan pertama-tama adalah menuang sejumlah aquades kedalam wadah kurang lebih 1/3 volume wadah sebelum melarutkan sejumlah bahan kedalamnya.
- Pencampuran bahan media dilakukan satu per satu setelah bahan satu melarut baru diikuti dengan bahan yang lainnya.
- Diusahakan selalu mencatat setiap mencampur bahan agar tidak terjadi kekeliruan.
- Langkah terakhir adalah menepatkan volume larutan, dengan cara menambah aquades sampai tanda tera pada wadah yang digunakan.

Cara mencampur bahan media untuk pembuatan media 1 liter adalah sebagai berikut : masukkan ke dalam erlenmeyer berukuran 1 liter aquades kira-kira 300 ml, larutkan gula diikuti mio-inositol kedalamnya setelah gula melarut sempurna dengan diaduk secara merata. Larutan-larutan stok dimasukkan satu per satu, setelah satu bahan melarut diikuti bahan yang lainnya. Larutan-larutan stok yang sudah dipakai dikembalikan ke kulkas. Hasil pencampuran media dituangkan dari erlenmeyer ke labu takar atau gelas ukur untuk ditepatkan volumenya menjadi 1 liter, dengan menambah aquades sampai mendekati tanda tera (disisakan sedikit untuk keperluan

pengecekan pH yang biasanya ada penambahan 3-5 tetes atau 3-5 ml). Biasanya untuk keperluan praktis langsung ditera tepat 1 liter.

3). Pengaturan pH Media Kultur

Kisaran nilai pH yang dipandang paling sesuai untuk kebanyakan media kultur jaringan untuk mendukung pertumbuhan dan perkembangan sel-sel tanaman antara 5,5-5,8. Pada nilai pH yang terlalu asam ($< 4,5$) agar akan terhidrolisis dan sulit membentuk gel. Nilai pH harus diatur agar tidak mengganggu membran sel dan pH sitoplasma. Selain itu pengaturan pH juga ditujukan untuk hal-hal berikut :

- Memudahkan kelarutan bahan-bahan kimia dalam pembuatan media
- Memudahkan pengambilan/penyerapan bahan zat pengatur tumbuh dan bahan-bahan kimia yang lain
- Meningkatkan efisiensi pembekuan agar

Pengukuran pH media dilakukan sebelum sterilisasi dengan autoklaf menggunakan pH meter atau kertas pH indikator. Pengukuran dengan kertas indikator sangat sederhana, yaitu dengan mencelupkan kertas pH indikator lalu mencocokkan warnanya setelah dicelupkan dengan warna dan nilai pH yang tersedia pada pak indikator pH dengan nilai lebih bersifat kualitatif. Pengukuran dengan pH meter memerlukan kalibrasi setiap periode waktu dikarenakan menggunakan elektroda gelas dan hasil pengukurannya bersifat kuantitatif. Nilai pH dapat diatur dinaikkan atau diturunkan sesuai dengan nilai yang diharapkan. Apabila nilai pH lebih tinggi dari nilai yang diinginkan dapat ditetesi larutan HCl 1 N, sebaliknya bila nilai pH lebih rendah dari nilai yang diharapkan ditetesi larutan NaOH atau larutan KOH 1 N.

4). Pemasakan Bahan Media Kultur

Bahan dan peralatan yang dipersiapkan meliputi : bahan media, pemanas hot plate dengan pengaduk magnet atau menggunakan kompor dengan pengaduk bahan gelas atau kayu. Hot plate memiliki tombol pengatur besar kecilnya pemanasan dan tombol pengatur besar kecilnya pengocokan dengan pengocok magnet yang menyerupai tablet/kapsul besar.

Media dalam wadah erlenmeyer atau wadah lainnya dimasak pada hot plate atau kompor sambil diaduk-aduk. Ketika media sudah hangat, agar dimasukkan ke dalam media sambil diaduk terus menggunakan pengaduk magnet atau pengaduk biasa pada pemanas kompor. Setelah mendekati keadaan mendidih (sudah mulai keluar titik-titik gelembung sebelum menjadi gelembung besar), pemanasan dihentikan.



Gambar 7. Alur Pembuatan Media Kultur

5). Sterilisasi Bahan Media Kultur

Setelah pembuatan media agar selesai, media dibagi-bagi ke dalam botol-botol penanaman, dalam satu botol tanam berisi kurang lebih 25-30 ml. Selama proses pemindahan media ke dalam botol-botol penanaman sangat memungkinkan terjadinya kontaminasi oleh mikroorganisme, baik bakteri atau jamur. Agar mikroorganisme yang masuk ke dalam media tidak dapat berkembang biak maka perlu dilakukan sterilisasi terhadap media tersebut sebelum digunakan untuk menanam. Sterilisasi media kultur bisa dilakukan dengan menggunakan uap panas pada suhu 121°C , dengan tekanan 15-17 psi, selama 20-30 menit. Sterilisasi media tidak boleh terlalu lama karena

bisa menyebabkan penguraian gula, degradasi vitamin dan asam-asam amino, inaktivasi sitokinin dan zeatine ribosida dan perubahan pH media. Media yang sudah disterilkan bisa digunakan, bisa juga disimpan terlebih dahulu beberapa waktu pada ruang penyimpanan.

D. Aktivitas Pembelajaran

Materi pelatihan ini dirancang untuk dipelajari oleh Guru SMK Paket Keahlian Agribisnis Perbenihan dan Kultur Jaringan Tanaman. Selain disajikan konsep-konsep, prinsip-prinsip, fakta dan prosedur, dilakukan diskusi kelompok, latihan-latihan, dan praktik dalam pendalaman materi yang mendorong kreativitas untuk berinovasi. Pelaksanaan pembelajaran menggunakan pendekatan andragogi, yaitu lebih mengutamakan pengungkapan kembali pengalaman peserta pelatihan, menganalisis, menyimpulkan, dan menggeneralisasi dalam suasana diklat yang aktif, inovatif, kreatif, efektif, menyenangkan, dan bermakna.

Langkah-langkah yang perlu dilakukan dalam mempelajari materi pelatihan ini mencakup aktivitas individual dan kelompok yang meliputi :

1. Memberikan pengantar tentang persiapan kultur jaringan tanaman pangan dan hortikultura.
2. Mendiskusikan tentang pengelolaan tanaman induk pangan dan hortikultura dan penyiapan media kultur jaringan tanaman pangan dan hortikultura.
3. Membahas hasil diskusi bersama peserta.
4. Melakukan praktek tentang pengelolaan tanaman induk pangan dan hortikultura dan penyiapan media kultur jaringan tanaman pangan dan hortikultura.
5. Membahas hasil praktek bersama peserta.
6. Membuat rangkuman bersama peserta.
7. Melakukan refleksi/umpan balik bersama peserta.

LEMBAR KERJA

Penanaman dan Pemeliharaan Induk pada Tanaman Pisang

1. Tujuan Kegiatan

Kegiatan ini bertujuan agar peserta diklat dapat melakukan penanaman dan pemeliharaan induk pada tanaman pisang sesuai prosedur.

2. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan antara lain : pisau, timbangan, dan polybag. Bahan-bahan yang digunakan, yaitu : media campuran kompos dan tanah, pupuk Urea, fungisida, bakterisida, insektisida, bonggol indukan pisang, kertas alas timbang dan air.

3. Keselamatan Kerja

Kegiatan ini harus memperhatikan keselamatan kerja antara lain memakai baju praktek (wearpack), mendengarkan dan memperhatikan penjelasan fasilitator serta berhati-hati dalam mengoperasikan peralatan dan menggunakan bahan kimia.

4. Langkah Kerja

- a. Siapkan alat dan bahan yang dibutuhkan.
- b. Ambil bonggol anakan pisang dewasa dari tanaman induk dengan ukuran diameter bonggol antara 15-25 cm
- c. Kupas pelepah batang pisang hingga mencapai pelepah yang paling dalam lalu pucuk tunas bagian dalam dibuang memakai pisau
- d. Tanam bonggol anakan pisang di media tanah dalam polibag besar, tetapi bagian bekas pucuk tunas muncul di permukaan tanah
- e. Semprot bonggol pisang dengan fungisida dan bakterisida sebanyak 2 kali seminggu untuk menghindari pembusukan bonggol terlalu cepat

- f. Berikan pemupukan dengan menggunakan pupuk Urea untuk mempercepat pertumbuhan tunas baru pada bonggol pisang
- g. Gunakan anakan-anakan baru yang muncul pada bonggol pisang untuk bahan tanam perbanyakkan secara kultur jaringan
- h. Buat bonggol indukan yang baru jika bonggol pisang telah busuk atau sekitar 2 bulan setelah tanam
- i. Bersihkan dan merapikan alat-alat yang habis dipakai

LEMBAR KERJA

Pembuatan Media Dasar MS 0

1. Tujuan Kegiatan

Kegiatan ini bertujuan agar peserta diklat dapat menghitung kebutuhan bahan yang dibutuhkan dan dapat membuat media dasar Murrashige-Skoog (MS 0) sesuai prosedur.

2. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan antara lain : gelas ukur, timbangan, botol kultur, autoclaf, hot plate, erlenmeyer, pipet, bulb, dan cerek ukur. Bahan-bahan yang dibutuhkan antara lain unsur makro NH_4NO_3 , KH_2PO_4 , MgSO_4 , KNO_3 , CaCl_2 masing-masing 10 ml dari stok 10 kali, 10 ml stok besi dari stok 10 kali, 1 ml unsur mikro dari stok 100 kali, piridoxin HCl, thiamin, asam nikotinat, glisin, mio-inositol masing-masing 10 ml dari stok 10 kali, akuades, 7 gram agar-agar, 30 gram sukrosa dan pH indikator.

3. Keselamatan Kerja

Kegiatan ini harus memperhatikan keselamatan kerja antara lain memakai baju praktek (jas laboratorium), mendengarkan dan memperhatikan penjelasan fasilitator serta berhati-hati dalam mengoperasikan peralatan dan menggunakan bahan kimia.

4. Langkah Kerja

- a. Siapkan alat dan bahan yang dibutuhkan.
- b. Timbang mio inositol sebanyak 0,1 gram dan gula sebanyak 30 gram lalu melarutkannya sampai homogen
- c. Pipet stok makro, mikro, besi serta vitamin sesuai volume larutan stoknya ke dalam gelas ukur 1000 ml
- d. Campur larutan gula dan mio-inositol dengan larutan stok dalam gelas ukur 1000 ml

- e. Tera larutan media sampai mencapai volume 1000 ml menggunakan akuades
- f. Pindahkan larutan ke dalam erlenmeyer 1000 ml dan mengaduk dengan hot plate sampai homogen
- g. Ukur pH larutan media dengan pH indikator sampai pHnya 5,5-5,8
- h. Panaskan larutan hingga hangat-hangat kuku lalu memasukan agar ke dalam larutan media sebanyak 7 gram/liter
- i. Panaskan larutan media hingga mendekati mendidih yang ditandai dengan perubahan warna larutan yang jernih dan timbulnya gelembung-gelembung udara
- j. Tuang ke dalam botol kultur masing-masing sebanyak 30 ml/botol kultur
- k. Sterilkan media dalam botol kultur pada autoclaf manual pada suhu 125°C selama 30 menit
- l. Angkat media dari autoklaf setelah tekanan dan suhunya turun serta menyimpannya di ruang penanaman/ inokulasi
- m. Bersihkan dan merapikan alat-alat yang habis dipakai

LEMBAR KERJA

Pembuatan Jus Tomat dan Jus Pisang

1. Tujuan Kegiatan

Kegiatan ini bertujuan agar peserta diklat dapat menghitung kebutuhan bahan yang dibutuhkan dan dapat membuat jus tomat dan pisang sebagai salah satu komponen dalam pembuatan media tanam alternatif untuk tanaman anggrek.

2. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan antara lain : blender, timbangan, pisau, cerek ukur, gelas piala, dan stop watch. Bahan-bahan yang dibutuhkan antara lain 12 kg tomat, 2 sisir pisang raja yang masak, aquadest, kertas timbang dan kantong plastik.

3. Keselamatan Kerja

Kegiatan ini harus memperhatikan keselamatan kerja antara lain memakai jas laboratorium, mendengarkan dan memperhatikan penjelasan fasilitator dan berhati-hati dalam mengoperasikan peralatan.

4. Langkah Kerja

- a. Siapkan alat dan bahan yang diperlukan
- b. Timbang tomat dan pisang yang akan dijus sebanyak 50 gr/100 ml
- c. Blender tomat dan pisang yang telah ditimbang masing-masing selama 2 menit
- d. Tuang jus tomat ke dalam plastik dan beri label konsentrasinya
- e. Simpan jus di dalam lemari es
- f. Bersihkan dan merapikan alat-alat yang habis dipakai

LEMBAR KERJA

Pembuatan Media Penyemaian (Tabur Biji) Anggrek

1. Tujuan Kegiatan

Kegiatan ini bertujuan agar peserta diklat dapat menghitung kebutuhan bahan yang dibutuhkan dan dapat membuat media alternatif untuk perkecambahan biji tanaman anggrek sesuai prosedur.

2. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan : gelas ukur, timbangan, botol kultur, autoclaf, hot plate, erlenmeyer, pipet, bulb, dan cerek ukur. Bahan-bahan yang dibutuhkan : 1,5 gr/l pupuk Growmore, 50 gr/l jus tomat, 150 gr/l air kelapa, 1 ml thiamin dari stok 10^{-6} , akuades, 7 gram agar-agar, 30 gram gula (sukrosa) dan pH indikator.

3. Keselamatan Kerja

Kegiatan ini harus memperhatikan keselamatan kerja antara lain memakai baju praktek, mendengarkan dan memperhatikan penjelasan fasilitator dan berhati-hati dalam mengoperasikan peralatan.

4. Langkah Kerja

- a. Siapkan alat dan bahan yang dibutuhkan
- b. Ambil larutan stok (thiamin, jus tomat, air kelapa) dan memasukannya ke dalam gelas ukur 1000 ml
- c. Timbang gula pasir dan pupuk Growmore serta melarutkannya sampai homogen
- d. Masukkan larutan gula dan growmore ke dalam gelas ukur lalu menara dengan menambahkan akuades 1000 ml
- e. Larutkan media sampai homogen kemudian mengukur pH (apabila pH kurang dari 5,1 maka perlu menambahkan HCl, dan apabila pH lebih

dari 5,1 maka perlu menambahkan NaOH)

- f. Larutkan dan memanaskan media sampai homogen dan hangat, lalu memasukkan agar-agar
- g. Masak media tersebut sampai larut hampir mendidih (terlihat ada gelembung dan warnanya jernih)
- h. Angkat dan menuangkan media ke dalam botol kultur sebanyak 30 ml/botol kultur
- i. Sterilkan media pada autoklaf elektrik pada suhu 121oC selama 30 menit dan tekanan 1,5 kg/cm²,
- j. Angkat media dari dalam autoklaf ketika suhu dan tekanannya telah turun
- k. Simpan media di ruangan penyimpanan media
- l. Bersihkan dan merapikan alat-alat yang habis dipakai

LEMBAR KERJA

Pembuatan Media Sub Kultur 1 (SK 1) Anggrek

1. Tujuan Kegiatan

Kegiatan ini bertujuan agar peserta diklat dapat menghitung kebutuhan bahan yang dibutuhkan dan dapat membuat media alternatif untuk sub kultur 1 tanaman anggrek sesuai prosedur.

2. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan antara lain : gelas ukur, timbangan, botol kultur, autoclaf, hot plate, erlenmeyer, pipet, bulb, dan cerek ukur. Bahan-bahan yang dibutuhkan antara lain 1,5 gr/l pupuk Growmore, 50 gr/l jus pisang, 1 gram arang aktif, 150 gr/l air kelapa, 1 ml thiamin dari stok 10^{-6} , akuades, 7 gram agar-agar, 30 gram gula (sukrosa) dan pH indikator.

3. Keselamatan Kerja

Kegiatan ini harus memperhatikan keselamatan kerja antara lain memakai baju praktek atau jas laboratorium, mendengarkan dan memperhatikan penjelasan fasilitator dan berhati-hati dalam mengoperasikan peralatan.

4. Langkah Kerja

- a. Siapkan alat dan bahan yang dibutuhkan
- b. Ambil larutan stok (thiamin, jus pisang, air kelapa) dan memasukannya ke dalam gelas ukur 1000 ml
- c. Timbang gula pasir, pupuk Growmore, arang aktif serta melarutkannya sampai homogen
- d. Masukkan larutan gula, pupuk Growmore dan arang aktif dalam gelas ukur lalu menara dengan akuades sampai 1000 ml
- e. Larutkan media sampai homogen kemudian mengukur pH (apabila

pH kurang dari 5,1 maka perlu menambahkan HCl, dan apabila pH lebih dari 5,1 maka perlu menambahkan NaOH),

- f. Larutkan dan panaskan media sampai homogen dan hangat, lalu memasukkan agar-agar
- g. Masak media tersebut sampai larut hampir mendidih (terlihat ada gelembung dan warnanya jernih)
- h. Angkat dan menuangkan media ke dalam botol kultur sebanyak 30 ml/botol kultur
- i. Sterilkan media pada autoklaf elektrik pada suhu 121°C selama 30 menit dan tekanan 1,5 kg/cm².
- j. Angkat media dari dalam autoklaf ketika suhu dan tekanannya turun
- k. Simpan media di ruangan penyimpanan media
- l. Bersihkan dan merapikan alat-alat yang habis dipakai

LEMBAR KERJA

Pembuatan Media Sub Kultur 2 (SK 2) Anggrek

1. Tujuan Kegiatan

Kegiatan ini bertujuan agar siswa dapat menghitung kebutuhan bahan yang dibutuhkan dan dapat membuat media alternatif untuk sub kultur 2 tanaman anggrek sesuai prosedur.

2. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan antara lain : gelas ukur, timbangan, botol kultur, autoclaf, hot plate, erlenmeyer, pipet, bulb, dan cerek ukur. Bahan-bahan yang dibutuhkan antara lain 1,5 gr/l pupuk Growmore, 50 gr/l jus pisang, 1 gram arang aktif, 150 gr/l air kelapa, 1 ml thiamin dari stok 10^{-6} , 1 ml NAA dari stok 10^{-6} akuades, 7 gram agar-agar, 30 gram gula (sukrosa) dan pH indikator.

3. Keselamatan Kerja

Kegiatan ini harus memperhatikan keselamatan kerja antara lain memakai baju praktek (jas laboratorium), mendengarkan dan memperhatikan penjelasan fasilitator dan berhati-hati dalam mengoperasikan peralatan.

4. Langkah Kerja

- a. Siapkan alat dan bahan yang dibutuhkan
- b. Ambil larutan stok (thiamin, jus pisang, air kelapa, NAA) dan memasukkannya ke dalam gelas ukur 1000 ml
- c. Timbang gula pasir, pupuk Growmore, arang aktif serta melarutkannya sampai homogen
- d. Masukkan larutan gula, pupuk Growmore dan arang aktif dalam gelas ukur lalu menara dengan akuades sampai 1000 ml

- e. Larutkan media sampai homogen kemudian mengukur pH (apabila pH kurang dari 5,1 maka perlu menambahkan HCl, dan apabila pH lebih dari 5,1 maka perlu menambahkan NaOH),
- f. Larutkan dan memanaskan media sampai homogen dan hangat, lalu memasukkan agar-agar
- g. Masak media tersebut sampai larut hampir mendidih (terlihat ada gelembung dan warnanya jernih)
- h. Angkat dan menuangkan media ke dalam botol kultur sebanyak 30 ml/botol kultur pendek dan 60 ml/botol kultur panjang
- i. Sterilkan media pada autoklaf elektrik pada suhu 121°C selama 30 menit dan tekanan 1,5 kg/cm²,
- j. Angkat media dari dalam autoklaf ketika suhu dan tekanannya telah turun
- k. Simpan media di ruangan penyimpanan media
- l. Bersihkan dan merapikan alat-alat yang habis dipakai

E. Latihan Soal

1. Jelaskan prosedur penanaman untuk pemudaan bahan tanam pada induk tanaman pisang !
2. Jelaskan prosedur pemeliharaan untuk pemudaan bahan tanam pada induk tanaman pisang !
3. Sebutkan pengelompokan komponen media kultur jaringan tanaman !
4. Jelaskan penggunaan jenis media dasar Murhasige dan Skoog dan media dasar Vacin dan Went !
5. Sebutkan faktor penentu kebutuhan media dan larutan stok pada kultur jaringan tanaman !
6. Sebutkan tahapan pembuatan media kultur jaringan secara umum !

F. Rangkuman

Prosedur penanaman untuk pemudaan bahan tanam pada induk tanaman pisang, yaitu : 1) ambil bonggol anakan pisang dewasa dari tanaman induk dengan diameter antara 15-25 cm, 2) kupas pelepah batang pisang hingga mencapai pelepah yang paling dalam dan bunag pucuk tunas bagian dalam memakai pisau dan 3) tanam bonggol anakan pisang di media tanah dalam polibag besar dengan bagian bekas pucuk tunas muncul di permukaan tanah. Prosedur pemeliharaan untuk pemudaan bahan tanam pada induk tanaman pisang, yaitu : 1) semprot bonggol pisang dengan fungisida dan bakterisida sebanyak 2 kali seminggu 2) berikan pemupukan dengan menggunakan pupuk Urea dan 3) buat bonggol indukan baru jika bonggol pisang telah busuk atau sekitar 2 bulan setelah tanam.

Komponen media kultur jaringan dapat dikelompokkan menjadi : unsur hara makro dan mikro, vitamin dan bahan organik lain, gula, bahan suplemen alami, zat pengatur tumbuh (ZPT), bahan pematid media dan air destilasi (akuades). Beberapa media dasar yang banyak digunakan dalam kultur jaringan antara lain : media dasar Murhasige dan Skoog (1962) yang dapat

digunakan untuk hampir semua jenis kultur, media dasar B5 untuk kultur sel kedelai, alfafa, dan legume lain, media dasar White (1934) yang sangat cocok untuk kultur akar tanaman tomat, media dasar Vacin dan Went digunakan untuk kultur jaringan anggrek, media dasar Nitsch dan Nitsch yang biasa digunakan dalam kultur tepung sari (pollen) dan kultur sel, media dasar Schenk dan Hildebrandt (1972) atau media SH yang cocok untuk kultur jaringan tanaman-tanaman monokotil, media khusus tanaman berkayu atau Woody Plant Medium (WPM), dan media N6 untuk sereal terutama padi.

Kebutuhan media dan larutan stok diartikan sebagai kebutuhan akan jumlah bahan media dan larutan stok yang harus dipenuhi pada waktu yang diperlukan pada beberapa macam/tahap kegiatan kultur jaringan. Kebutuhan media dan larutan stok ini ditentukan oleh faktor : jumlah dan jenis bibit yang akan diproduksi, jenis media yang dipilih, metoda kultur, jaringan yang dipilih, frekuensi penggandaan propagul dan cara pengakaran kultur. Tahapan pembuatan media kultur meliputi : penyiapan peralatan dan bahan media kultur, pencampuran bahan media kultur, pengaturan pH media kultur, pemasakan bahan media kultur dan sterilisasi bahan media kultur.

G. Umpan Balik dan Tindak Lanjut

Mata Diklat :, Tanggal

Nama Peserta :

Sekolah Asal :

Setelah kegiatan pembelajaran berakhir Saudara dapat melakukan refleksi dengan menjawab pertanyaan berikut ini secara individu!

1. Apa yang Saudara pahami setelah mempelajari materi ini ?

.....

.....

.....

.....

.....

2. Pengalaman penting apa yang Anda peroleh setelah mempelajari materi ini ?

.....

.....

.....

.....

.....

3. Apa manfaat materi ini terhadap tugas Anda sebagai Guru SMK Paket Keahlian Agribisnis Perbenihan dan Kultur Jaringan Tanaman di sekolah ?

.....

.....

.....

.....

.....

4. Apa rencana tindak lanjut yang akan saudara lakukan setelah kegiatan ini ?

.....

.....

.....

.....

.....

III KEGIATAN PEMBELAJARAN 2

PELAKSANAAN KULTUR JARINGAN TANAMAN

PANGAN DAN HORTIKULTURA

A. Tujuan

Tujuan pembelajaran : setelah mengkaji materi dan melakukan aktivitas pembelajaran peserta diklat mampu melakukan pelaksanaan kultur jaringan tanaman pangan dan hortikultura dengan disiplin dan tanggung jawab sesuai kriteria

B. Indikator Pencapaian Kompetensi

Indikator keberhasilan : setelah mengkaji materi dan melakukan aktivitas pembelajaran peserta diklat diharapkan mampu :

1. Melakukan inisiasi bahan tanam/eksplan kultur jaringan tanaman pangan dan hortikultura sesuai kriteria
2. Melakukan penanaman inokulum kultur jaringan tanaman pangan dan hortikultura sesuai kriteria

C. Uraian Materi

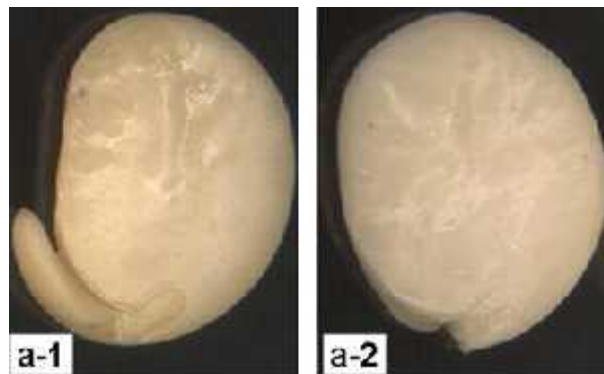
1. Inisiasi Bahan Tanam/Eksplan Kultur Jaringan Tanaman Pangan dan Hortikultura

a. Penentuan Bahan Tanam/Eksplan

Eksplan adalah bagian kecil jaringan atau organ yang diambil atau dipisahkan dari tanaman induknya sebagai bahan tanam *in vitro* kemudian dikulturkan secara *in vitro* dalam kondisi aseptis. Ada beberapa jenis eksplan yang dapat digunakan sebagai bahan tanam *in vitro*, yaitu :

- 1) Eksplan biji biasanya digunakan untuk kultur biji (*seed culture*). Kultur ini biasanya dilakukan pada biji tanaman yang bersertifikat dan dipetik dari tanaman induk yang sudah diketahui keunggulan sifatnya. Hal ini

umumnya pada tanaman semusim yang organ tanamannya sangat sensitif terhadap bahan sterilan kimia. Selain itu biji juga dapat langsung dikecambahkan pada media agar-agar, contoh : biji anggrek yang tidak memiliki cadangan makanan.



Gambar 8. Eksplan Biji Tanaman

- 2) Eksplan organ, seperti : ujung akar, pucuk aksilar, tangkai daun, helaian daun, bunga, buah muda, dan buku batang, biasanya digunakan untuk kultur organ (*organ culture*). Eksplan organ tersebut biasanya digunakan untuk penanaman kultur melalui organogenesis (pembentukan organ tanaman secara langsung maupun tidak langsung) dan embriogenesis (pembentukan embrio tanaman secara langsung maupun tidak langsung). Selain itu akar biasanya digunakan dalam *hairy root culture* yaitu kultur dari eksplan akar untuk memproduksi bahan metabolit sekunder dari akar tanaman.



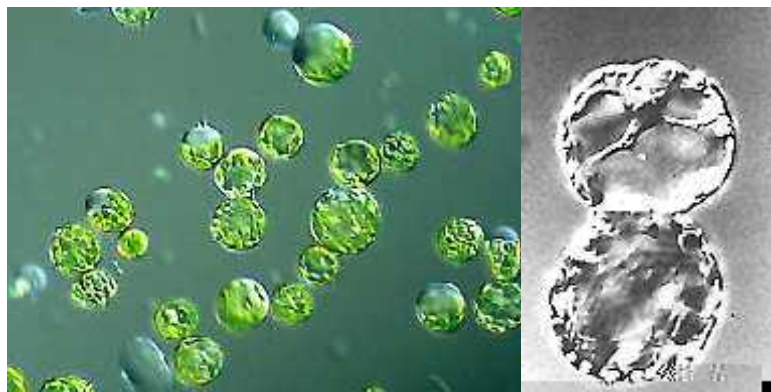
Gambar 9. Eksplan Organ Batang, Akar, Daun Tanaman

- 3) Eksplan bagian reproduktif tanaman, seperti : kepala sari (*anther*), tepungsari (*pollen*), dan bakal buah (*ovule*) biasanya digunakan untuk kultur haploid (*haploid culture*). Eksplan tersebut digunakan dalam kultur untuk menghasilkan tanaman haploid (*haploid culture*), melalui kultur eksplan anter (*anther culture*), kultur eksplan polen (*pollen culture*), dan kultur eksplan ovul (*ovule culture*).



Gambar 10. Eksplan Polen, Ovul, dan Anter Tanaman

- 4) Eksplan protoplas tanaman yang digunakan untuk kultur protoplasma (*protoplast culture*). Eksplan tersebut berupa sel yang telah dilepas bagian dinding selnya menggunakan bantuan enzim. Protoplas diletakkan pada media padat dibiarkan agar membelah diri dan membentuk dinding selnya kembali. Kultur protoplas biasanya untuk keperluan hibridisasi somatik atau fusi sel soma (fusi 2 protoplas baik intraspesifik maupun interspesifik).



Gambar 71. Eksplan Protoplas Tanaman

Ada beberapa kriteria yang harus dipertimbangkan dalam seleksi bahan tanam/eksplan. Kriteria-kriteria tersebut akan sangat menentukan berhasil atau tidaknya pengkulturan bahan tanam/eksplan yang meliputi :

1) Ukuran bahan tanam/eksplan

Ukuran bahan tanam/eksplan dapat berpengaruh terhadap keberhasilan kultur jaringan. Bahan tanam/eksplan yang berukuran besar beresiko kontaminasi lebih besar dibandingkan eksplan berukuran kecil, tetapi kemampuan hidupnya lebih besar dan tumbuhnya lebih cepat. Contohnya eksplan tunas muda beresiko kontaminasi lebih tinggi dibandingkan eksplan jaringan meristem tunas, tetapi tunas lebih mudah dan cepat tumbuh beregenerasi dibandingkan jaringan meristem yang biasanya tumbuh lebih lambat untuk beregenerasi menjadi tanaman utuh kembali.

2). Umur fisiologis bahan tanam/eksplan

Bagian tanaman yang digunakan sebagai bahan tanam/eksplan umumnya adalah jaringan muda yang sedang tumbuh aktif. Hal ini dikarenakan mempunyai daya regenerasi yang lebih tinggi, sel-selnya masih aktif membelah diri dan relatif lebih bersih (mengandung sedikit mikroorganisme kontaminan) sehingga mudah disterilisasi. Jaringan yang sudah tua lebih sulit beregenerasi dan biasanya lebih banyak mengandung mikroorganisme kontaminan.



Gambar 12. Eksplan yang Meristematik dan Juvenil

3). **Umur ontogenetik tanaman induk (sumber eksplan)**

Umur ontogenetik tanaman induk sumber bahan tanam/eksplan sangat mempengaruhi keberhasilan penanaman eksplan. Eksplan yang diambil dari tanaman induk yang masih muda umumnya lebih mudah beregenerasi dibandingkan eksplan yang diambil dari tanaman induk yang sudah dewasa, walaupun jaringan yang diisolasi secara fisiologis masih muda. Contohnya induksi tunas dari eksplan tunas muda dari tanaman induk berupa pohon dewasa, biasanya akan memerlukan waktu yang lebih lama dibandingkan induksi tunas dari eksplan tunas yang diambil dari bibit tanaman yang baru disemai di polibag (tahap pemudaan eksplan).

b. Sterilisasi Bahan Tanam/Eksplan

Sterilisasi eksplan merupakan salah satu prosedur yang digunakan untuk menghilangkan kontaminan mikroorganisme pada eksplan. Pemeliharaan suci hama dan penyakit (keaseptikan) atau kondisi steril sangat esensial untuk keberhasilan dalam prosedur kultur jaringan. Keadaan aseptis ini diperlukan untuk semua botol kultur yang akan digunakan, media kultur, peralatan yang akan digunakan dalam kegiatan penanaman eksplan. Selain itu eksplan yang akan dikulturkan pada media kultur itu sendiri harus steril yang berarti bebas dari berbagai agen/sumber kontaminan hidup. Oleh karena itu tahap sterilisasi sering menjadi kendala utama keberhasilan perbanyakan tanaman secara kultur jaringan. Kontaminan hidup dapat berupa cendawan, bakteri, tungau, serangga dan telurnya. Apabila kontaminan tersebut tidak dihilangkan maka pada media yang mengandung gula, vitamin dan mineral dalam waktu singkat akan dipenuhi kontaminan sehingga mengakibatkan eksplan menjadi mati.

Sterilisasi eksplan dengan bahan sterilan adalah sebatas membersihkan debu, cendawan, bakteri dan kontaminan lain dari bagian permukaan eksplan atau disebut dengan desinfestasi. Ada berbagai macam bahan

sterilan yang memiliki interval konsentrasi penggunaan, waktu sterilisasi dan fungsi berbeda-beda. Pemilihan bahan sterilan untuk setiap eksplan perlu diketahui terlebih dahulu apakah kontaminannya berupa kontaminan eksternal atau kontaminan internal. Bahan tanam yang mengandung kontaminan eksternal dipilih bahan sterilan yang dapat membersihkan permukaan luar eksplan. Sedangkan pada eksplan yang mengandung kontaminan internal yaitu kontaminan yang berasal dari jaringan tanaman itu sendiri perlu diberi perlakuan antibiotik atau fungisida dan bakterisida sistemik. Berbagai bahan sterilan eksplan, konsentrasi, waktu dan fungsinya tercantum pada tabel di bawah ini.

Tabel 4. Bahan Sterilan Eksplan, Konsentrasi, Waktu Sterilisasi dan Fungsinya

Bahan Sterilan	Penggunaan	Waktu Sterilisasi	Fungsi
Detergen	Secukupnya	Secukupnya	Membersihkan kotoran dan getah eksplan
Fungisida	2 gram/liter	30 menit	Sterilisasi eksplan dari cendawan
Bakterisida	2 gram/liter	30 menit	Sterilisasi eksplan dari bakteri
Alkohol	70 - 95 %	1-5 menit	Desinfektan
Sodium hipoklorit (Clorox)	5 - 30 %	5-30 menit	Desinfektan
Mercury khlorida (Sublimat)	0,01 - 0,1 %	2-10 menit	Desinfektan
Tween-20	1 - 3 tetes	Secukupnya	Agen pembasah
Antibiotik	Sesuai dosis	Secukupnya	Anti bakteri dan jamur
Iodine	10 %	15-30 menit	Antiseptik

Teknik sterilisasi yang digunakan untuk sterilisasi eksplan harus selektif dalam pemilihannya. Hal ini bertujuan agar bahan sterilan yang digunakan juga dapat sesuai dengan jenis eksplannya. Setiap eksplan mempunyai tingkat kontaminan permukaan yang berbeda, tergantung jenis tanamannya, bagian tanaman yang dipergunakan, morfologi permukaan (misalnya : berbulu atau tidak), lingkungan tumbuh (*green house* atau lahan),

musim waktu mengambil (musim hujan atau kemarau), umur tanaman (*seedling* atau tanaman dewasa) dan kondisi tanaman (sakit atau sehat).

Oleh karena itu tidak ada prosedur sterilisasi standar dalam sterilisasi eksplan, tetapi yang paling penting adalah kontaminan harus dihilangkan dari eksplan tanpa mematikan sel tanamannya. Teknik sterilisasi eksplan secara umum dapat dilakukan dengan 2 cara yaitu sterilisasi secara fisik (dibakar) dan sterilisasi secara kimia (direndam dalam larutan kimia). Teknik sterilisasi secara fisik (dibakar) tidak dapat diterapkan pada semua jenis eksplan. Eksplan yang dapat disterilisasi secara fisik adalah eksplan yang terbungkus oleh jaringan luar misalnya pelepah, daging buah, atau kulit luar yang sangat tebal sehingga eksplan yang dibakar bagian dalamnya tidak rusak atau mati. Contoh eksplan yang dapat disterilisasi secara fisik yaitu : buah anggrek, bonggol pisang, biji jarak, keiki anggrek dan lain-lain. Proses pembakaran jaringan eksplan yang dilakukan jangan sampai merusak titik tumbuh eksplan yang akan dikulturkan.



Gambar 83. Kegiatan Sterilisasi Eksplan Biji Anggrek secara Fisik

Prosedur sterilisasi eksplan secara fisik dimulai dengan pencucian bagian permukaan eksplan dari kotoran atau getah menggunakan detergen. Eksplan kemudian dicelupkan ke dalam alkohol absolut dan dibakar pada api

lampu bunsen lalu dibiarkan sampai nyala api yang membakar eksplan padam. Eksplan selanjutnya dilakukan inokulasi di media kultur dengan mengecilkan ukurannya terlebih dahulu menggunakan skalpel.

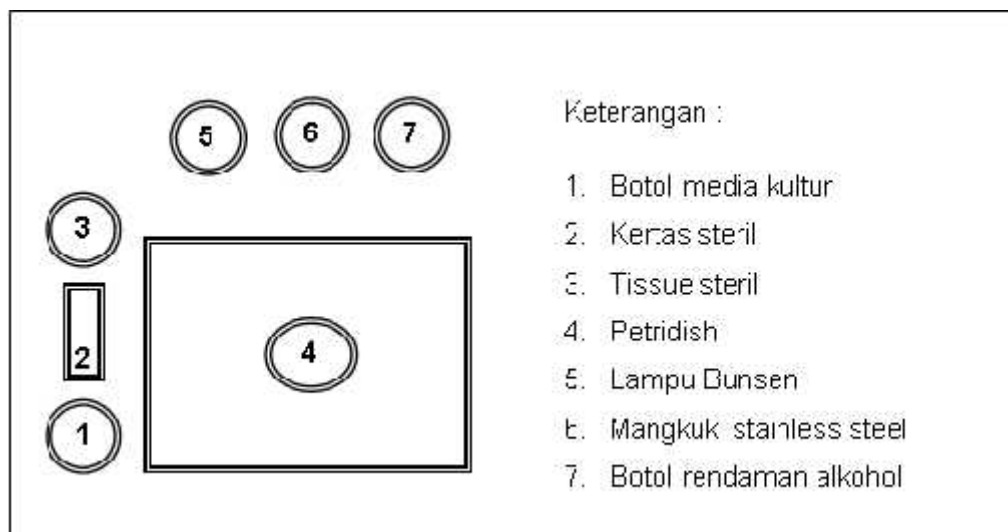
Semua jenis eksplan pada dasarnya dapat disterilisasi secara kimia dengan direndam dalam bahan kimia, tetapi perlu memperhatikan konsentrasi larutan bahan kimia yang digunakan serta lamanya perendaman. Keras lunaknya eksplan dan terlindung tidaknya eksplan oleh jaringan luar berpengaruh terhadap penggunaan konsentrasi larutan dan lamanya perendaman. Eksplan yang lunak dan tidak terlindung jaringan luar sebaiknya disterilisasi menggunakan konsentrasi bahan kimia yang rendah dan waktu yang tidak terlalu lama. Eksplan yang terlindung jaringan luar dapat disterilisasi menggunakan konsentrasi bahan kimia yang lebih tinggi dan waktu perendaman yang lebih lama.

Teknik sterilisasi eksplan secara kimia dengan direndam dalam bahan kimia dimulai dengan mencuci bagian permukaan eksplan dari kotoran atau getah menggunakan detergen dan dibilas menggunakan air bersih. Eksplan kemudian direndam dan digojok dalam larutan fungisida 2 gram/liter selama 30 menit dan dalam larutan bakterisida 2 gram/liter selama 30 menit. Proses sterilisasi kemudian dilanjutkan di dalam Laminar Air Flow Cabinet (LAFC) dimulai dengan membilas sisa larutan fungisida dan bakterisida pada eksplan menggunakan akuades steril. Eksplan selanjutnya dapat direndam dan digojok dalam berbagai larutan desinfektan mulai dengan alkohol 70 atau 95 % dan larutan sodium hipoklorit (Bayclin) dengan konsentrasi 10-30 % secara bertahap. Eksplan lalu dibilas dengan akuades steril sebanyak 3 kali dan direndam dalam larutan antiseptik sampai akhirnya siap untuk dilakukan inokulasi.

c. Inokulasi Bahan Tanam/Eksplan

Inokulasi eksplan adalah kegiatan penanaman bahan tanam (eksplan) ke dalam media inisiasi baik berupa media padat/cair dalam botol kultur di

Laminar Air Flow Cabinet dengan kondisi aseptik. Kondisi aseptik diperlukan untuk keberhasilan inokulasi eksplan sehingga kegiatan inokulasi memerlukan peralatan dan bahan yang mendukung terciptanya kondisi yang aseptik. Laminar atau entkas merupakan meja kerja steril tempat inokulasi eksplan maka untuk menciptakan kondisi aseptik laminar atau entkas perlu disterilisasi terlebih dahulu dengan cara menyalakan lampu ultra violet (UV) minimal 30 menit sebelum dioperasikan. Apabila pada entkas tidak terdapat lampu UV, sterilisasi dapat dilakukan dengan cara menempatkan larutan formalin 5 % atau formalin tablet pada cawan petri yang diletakkan di dalam entkas selama 1 malam.



Gambar 14. Layout Alat dan Bahan Inokulasi Eksplan

Letak peralatan dan bahan yang digunakan dalam inokulasi eksplan diatur dengan mempertimbangkan keselamatan kerja dan terjaganya kondisi yang aseptik. Posisi peralatan dan bahan untuk inokulasi eksplan jangan sampai menghalangi aliran udara dari filter HEPA laminar. Hal ini dikarenakan dapat menyebabkan perubahan arus angin sehingga dapat menyebabkan terjadinya kontaminasi. Lampu bunsen diletakkan di kiri area kerja, tetapi jangan terlalu dekat filter laminar. Mangkuk stainless diletakkan di sebelah kanan lampu bunsen untuk tempat alat-alat diseksi. Botol

rendaman berisi alkohol 95 % untuk merendam alat-alat diseksi sebelum dibakar pada api bunsen. Letak botol alkohol jangan terlalu dekat dengan api karena sifat alkohol yang mudah terbakar. Cawan petri sebagai alas untuk memotong atau menyimpan eksplan posisinya di tengah area kerja dan kertas steril diletakkan di sisi kiri laminar bersama tissue gulung.

Inokulasi eksplan adalah kegiatan penanaman bahan tanam (eksplan) ke dalam media inisiasi baik berupa media padat/cair dalam botol kultur di *Laminar Air Flow Cabinet* dengan kondisi aseptik. Kondisi aseptik diperlukan untuk keberhasilan inokulasi eksplan sehingga kegiatan inokulasi memerlukan peralatan dan bahan yang mendukung terciptanya kondisi yang aseptik. Laminar atau entkas merupakan meja kerja steril tempat inokulasi eksplan maka untuk menciptakan kondisi aseptik laminar atau entkas perlu disterilisasi terlebih dahulu dengan cara menyalakan lampu ultra violet (UV) minimal 30 menit sebelum dioperasikan. Apabila pada entkas tidak terdapat lampu UV, sterilisasi dapat dilakukan dengan cara menempatkan larutan formalin 5 % atau formalin tablet pada cawan petri yang diletakkan di dalam entkas selama 1 malam.

Teknik inokulasi eksplan dimulai dengan mengambil eksplan dari tempat rendamannya dan dipotong secara aseptis menggunakan skalpel sesuai dengan jenis eksplannya. Botol kultur berisi media dibuka secara aseptis dan potongan eksplan ditanam dalam botol kultur secara aseptis sedalam $\pm 0,5-1$ cm. Jumlah eksplan yang ditanam disesuaikan dengan kapasitas media dalam botol. Botol kultur yang telah dilakukan inokulasi eksplan kemudian ditutup secara aseptis hingga rapat dan diberi identitas mengenai : jenis tanaman, jenis media, tanggal penanaman, dan kode kegiatan. Hasil inokulasi eksplan selanjutnya disimpan dalam ruang pertumbuhan dengan kondisi lingkungan yang terkendali. Pemberian identitas pada botol kultur tersebut merupakan hal penting karena identitas awal sangat menentukan dalam tahapan kultur selanjutnya dan kultur yang tanpa identitas akan menyulitkan proses selanjutnya.

2. Penanaman Inokulum Kultur Jaringan Tanaman Pangan dan Hortikultura

a. Tahapan Perbanyakan Inokulum

Sub kultur dalam perbanyakan tanaman secara kultur jaringan diperlukan agar diperoleh populasi pucuk atau anakan yang banyak. Satu pucuk inokulum dapat diperbanyak menjadi 20 pucuk yang dapat dipisahkan menjadi 20 propagul. Sedangkan 20 propagul tersebut masing-masing telah membentuk sejumlah pucuk lagi dan seterusnya. Kelebihan kultur ini adalah pucuk atau hasil perbanyakan pertama dapat langsung dipergunakan untuk perbanyakan selanjutnya.

Kegiatan sub kultur harus dilakukan terhadap inokulum disebabkan oleh beberapa hal antara lain :

- 1) Tumbuhnya eksplan cukup cepat dan telah memenuhi seluruh botol kultur.
- 2) Media tumbuh telah mengering yang ditandai dengan berkurangnya volume agar-agar atau media cairnya sudah habis.
- 3) Eksplan perlu diperbanyak lebih lanjut untuk tujuan tahapan perbanyakan selanjutnya.
- 4) Eksplan memerlukan media yang susunannya baru agar dapat mengalami diferensiasi lebih lanjut.

Eksplan atau kalus yang sudah waktunya dipindahkan ke dalam media kultur yang baru harus segera dilaksanakan dan tidak boleh sampai terlambat. Sub kultur yang terlambat dapat menyebabkan pertumbuhan eksplan atau kalus tersebut akan terhenti atau mengalami pencoklatan atau bahkan terkontaminasi oleh jamur atau bakteri. Keadaan eksplan yang demikian kemungkinan untuk diselamatkan kecil sekali sebab spora jamur atau bakteri dapat menyebar dengan cepat sekali.

Tahap sub kultur inokulum untuk tujuan perbanyakan eksplan selanjutnya dapat dilakukan dengan beberapa cara. Perbanyakan stek satu

buku yang dilanjutkan sub kultur berkali-kali dari buku pada tunas yang dihasilkan, diikuti dengan pengakaran tunas, misalnya pada tanaman krisan, kentang atau jati. Metode yang lain dilakukan dengan mendorong perbanyak tunas samping dari eksplan tunas pucuk atau stek satu buku untuk membentuk tunas-tunas majemuk seperti pada kultur pisang, vanili, nenas dan strowberi. Perbanyak dengan metode percabangan tunas samping sering digunakan karena relatif sederhana, penyimpangan genetik relatif kecil, perbanyakannya berlangsung cepat dan tanaman yang dihasilkan tumbuh dengan baik karena rejuvenasi.

Tahap penggandaan inokulum bertujuan untuk menggandakan bahan eksplan hasil inokulasi yang hidup dengan cara diperbanyak untuk penumbuhan tunas atau embrio serta memeliharanya dalam keadaan tertentu sehingga sewaktu-waktu dapat dilanjutkan untuk tahap berikutnya. Media yang digunakan untuk setiap tahap perbanyak secara kultur jaringan khususnya pada tahap penggandaan tunas umumnya berbeda dalam penggunaan jenis dan konsentrasi zat pengatur tumbuh. Dua golongan zat pengatur tumbuh yang sangat penting dalam kultur jaringan adalah auksin dan sitokinin. Kombinasi auksin dan sitokinin dalam tanaman mendorong pembelahan sel dan menentukan arah terjadinya diferensiasi sel sehingga terbentuk organ tanaman yang baru.

Tahap penggandaan inokulum dengan mendorong penumbuhan dan penggandaan tunas aksilar atau untuk merangsang tunas-tunas adventif sering digunakan sitokinin atau campuran sitokinin dengan auksin rendah. Hal ini dikarenakan penggunaan taraf konsentrasi sitokinin yang relatif tinggi terhadap auksin akan merangsang inisiasi tunas dan sebaliknya penggunaan taraf konsentrasi sitokinin yang relatif rendah terhadap auksin akan merangsang inisiasi akar. Jenis sitokinin yang sering dipakai adalah BA (*Benzil Adenine*) karena efektifitasnya tinggi dan harganya relatif murah. Sedangkan salah satu auksin sintesis yang sering dipakai adalah NAA (*Napthalene Acetic Acid*). NAA mempunyai aktifitas sama dengan IAA (*Indole*

Acetic Acid) namun NAA lebih stabil sehingga sering dipakai sebagai pengganti IAA.

Peralatan yang digunakan untuk kegiatan penggandaan inokulum sama dengan peralatan standar untuk kegiatan inokulasi eksplan. Alat-alat diseksi yang terdiri dari pinset digunakan untuk menjepit inokulum dan untuk menanam inokulum serta scalpel beserta mata pisau digunakan dalam pemotong bagian-bagian inokulum. Cawan petri atau petridish digunakan untuk alas memotong inokulum atau digunakan untuk menyimpan sementara potongan inokulum sebelum diinokulasikan ke dalam media kultur. Lampu bunsen atau lampu spiritus berfungsi untuk membakar atau mensterilkan alat-alat diseksi (pinset dan pisau scalpel) dan eksplan. Mangkuk stainless steel digunakan sebagai tempat meletakkan alat-alat diseksi setelah dibakar di atas api bunsen.

Bahan yang digunakan dalam kegiatan penggandaan inokulum sama dengan kegiatan inokulasi eksplan yaitu : alkohol 70%, alkohol 95%, tissue steril, kertas steril dan mata pisau. Alkohol digunakan untuk mensterilkan laminar/entkas dan mensterilkan tangan pekerja sebelum melakukan inokulasi dalam laminar/entkas. Tissue steril digunakan untuk meniriskan inokulum serta untuk membersihkan peralatan diseksi. Kertas steril digunakan sebagai alas saat dilakukan pemotongan inokulum. Letak peralatan dan bahan yang digunakan dalam kegiatan penggandaan inokulum sama dengan pada kegiatan inokulasi bahan eksplan yang diatur dengan mempertimbangkan keselamatan kerja dan terjaganya kondisi yang aseptik.

Prosedur penggandaan inokulum dimulai dengan pemindahan atau sub kultur eksplan yang hidup dan tidak terkontaminasi (aseptis) dari tahap inisiasi kultur ke media yang mengandung zat pengatur tumbuh sitokinin. Propagul yang dihasilkan dalam jumlah yang berlipat disubkulturkan terus secara berulang-ulang sampai dicapai jumlah propagul yang diharapkan. Tunas mikro atau kalus yang dihasilkan dari tahap ini selanjutnya dilakukan tahap regenerasi sebelum tahap akhir berupa induksi perakaran inokulum.

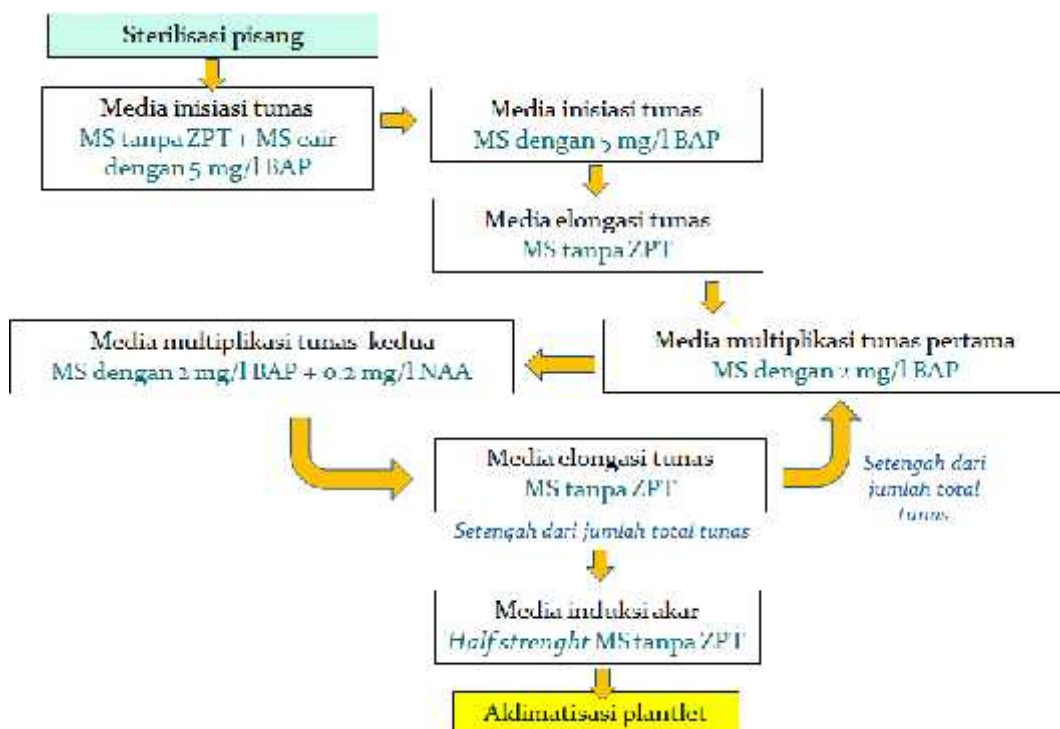
Tunas-tunas yang dihasilkan pada tahap penggandaan inokulum kemudian dilakukan sub kultur atau dipindahkan ke media lain untuk tahap selanjutnya yaitu tahap regenerasi inokulum. Media yang digunakan tahap regenerasi inokulum menggunakan zat pengatur tumbuh sitokinin dengan konsentrasi sangat rendah atau tanpa sitokinin. Contohnya pada tahap regenerasi atau pemanjangan tunas tanaman jati, inokulum ditanam pada media dasar MS tanpa penambahan zat pengatur tumbuh atau dapat ditambahkan sitokinin dengan konsentrasi yang sangat rendah (0,01-0,05 mg/l) bahkan jika perlu dapat ditambah asam giberellin (GA₃) dengan konsentrasi 0,1-1 mg/l untuk tujuan pemanjangan buku tanaman.

Peralatan dan bahan yang digunakan dalam kegiatan regenerasi inokulum sama dengan pada kegiatan penggandaan inokulum. Prosedur penggandaan inokulum dimulai pemotongan tunas-tunas aksilar atau tunas-tunas adventif yang terbentuk pada tahap penggandaan inokulum. Tunas-tunas tersebut dipindahkan atau disubkultur secara individu atau secara kelompok ke media dengan zat pengatur tumbuh sitokinin dengan konsentrasi sangat rendah atau tanpa sitokinin. Regenerasi tunas yang dilakukan secara berkelompok lebih ekonomis daripada secara individu terutama lebih ekonomis dalam volume penggunaan media dan botol/wadah kultur. Tunas yang telah tumbuh baik di media regenerasi selanjutnya dapat dilanjutkan ke tahap berikutnya yaitu tahap induksi perakaran.

Regenerasi tunas dan induksi perakarannya dapat dilakukan sekaligus atau secara bertahap, yaitu setelah tunasnya mengalami pemanjangan baru dilakukan pengakaran. Species-species yang mudah berakar, seperti pisang, stroberi, dan vanili, pemanjangan tunas pada media regenerasi juga sekaligus merangsang pembentukan akar sehingga tidak diperlukan pengakaran tunas secara tersendiri dengan menggunakan media khusus untuk induksi perakaran.

Tunas-tunas yang telah dilakukan tahap regenerasi kemudian dilakukan sub kultur atau dipindahkan ke media lain untuk tahap selanjutnya yaitu

tahap induksi perakaran inokulum. Proses pembentukan akar pada perbanyakan tanaman secara kultur jaringan belum sepenuhnya dimengerti. Faktor-faktor yang berpengaruh terhadap pembentukan akar pada stek telah diketahui memiliki pengaruh hampir sama pada stek mikro antara lain : pengaruh genetik, umur ontogenetik (masa transisi dari fase pertumbuhan juvenil menuju fase dewasa), dan pengaruh zat pengatur tumbuh terutama auksin.



Gambar 15. Tahap Perbanyakan Inokulum Tanaman Pisang

Tahap induksi perakaran tunas seperti yang telah disebutkan di atas biasanya digunakan zat pengatur tumbuh auksin berupa kombinasi NAA dan IBA (*Indole Butiric Acid*). NAA sanggup merangsang pembentukan akar dan memiliki stabilitas kimia yang tinggi tetapi batas konsentrasi optimumnya sangat kecil sehingga harus benar-benar diketahui konsentrasi yang tepat agar tidak meracuni tanaman. IBA bersifat stabil dan relatif lebih lambat dtranslokasikan dalam tanaman sehingga memiliki respon yang baik dalam membentuk akar. Selain itu ditambahkan pula retardan paclobutrazol yang

berkemampuan menghambat biosintesis giberelin. Penambahan paclobutrazol diharapkan mampu menghasilkan plantlet yang memiliki ketegaran tumbuh baik dan membantu inisiasi akar.

Peralatan dan bahan yang digunakan dalam kegiatan induksi perakaran inokulum sama dengan pada kegiatan penggandaan inokulum maupun regenerasi inokulum. Prosedur induksi perakaran tunas dapat dilakukan dengan dua cara baik secara *in vitro* atau *ex vitro*. Prosedur induksi perakaran inokulum secara *in vitro* dilakukan dengan pemindahan atau sub kultur tunas hasil tahap regenerasi yang sudah cukup panjang (4 cm atau lebih) ke media dengan zat pengatur tumbuh auksin berupa NAA atau IBA atau kombinasi keduanya. Kegiatan tersebut bertujuan untuk merangsang pertumbuhan akar pada tunas ketika masih berada dalam botol kultur (secara *in vitro*).

Pengakaran secara *ex vitro* dilakukan dengan menginduksi tunas untuk membentuk akar setelah berada dalam media aklimatisasi yang berupa campuran tanah, pasir, kompos atau campuran pasir dan kompos. Induksi pengakaran tunas dapat digunakan bubuk pengakaran seperti Rootone-F yang mengandung auksin IBA, larutan NAA atau IBA yang cukup pekat. Alternatif lainnya induksi perakaran tunas dapat dilakukan secara *in vitro* lalu dilakukan perkembangan akar yang dilakukan secara *ex vitro*. Prosedurnya dengan cara tunas dipindahkan atau disubkultur dalam media kultur dengan auksin konsentrasi relatif tinggi selama $\pm$ 5-7 hari lalu diaklimatisasi dan dibiarkan tumbuh akar dalam kondisi *ex vitro*.

Prosedur yang digunakan untuk menginduksi perakaran tunas inokulum dalam skala besar dapat berpengaruh signifikan terhadap biaya produksi bibit. Induksi perakaran inokulum secara *in vitro* lebih banyak memerlukan tenaga kerja dan media dibandingkan dengan induksi perakaran secara *ex vitro*, tetapi tingkat keberhasilannya lebih tinggi. Induksi perakaran secara *ex vitro* sangat dianjurkan untuk produksi bibit dalam skala besar, karena sangat menghemat biaya. Plantlet-plantlet dari tunas yang

telah tumbuh organnya secara lengkap terutama telah mengalami induksi perakaran selanjutnya dapat dilakukan tahap aklimatisasi.

b. Pemeliharaan Hasil Perbanyakan Inokulum

Pemeliharaan hasil perbanyakan inokulum mutlak diperlukan untuk memperoleh plantlet dengan pertumbuhan dan perkembangan yang optimal. Untuk itu kondisi lingkungan di ruang inkubasi (tempat memelihara kultur) perlu diperhatikan. Faktor yang berpengaruh terhadap pertumbuhan eksplan di ruang inkubasi adalah suhu, cahaya, dan kelembaban.

1) Kondisi Suhu Ruang Inkubasi

Dalam lingkungan alamnya tanaman tumbuh pada suhu yang berbeda antara siang dan malam hari dengan fluktuasi yang bervariasi. Akan tetapi dalam kultur jaringan tanaman, umumnya kultur dipelihara dalam kondisi suhu yang sama antara siang dan malam hari. Suhu yang sesuai untuk pertumbuhan kultur adalah antara 24–28°C sehingga untuk mengkondisikan ruang inkubasi pada suhu yang diinginkan, maka di dalam ruangan tersebut dipasang *Air Conditioner* (AC). Alat ini diset pada suhu maksimum 20°C.

Suhu yang tidak sesuai dapat mempengaruhi pertumbuhan kultur di ruang inkubasi. Suhu dapat mempengaruhi multiplikasi pucuk, contohnya pertumbuhan tunas aksilar dan tunas adventif pada tanaman *Aloe barbadensis* optimal pada suhu 25°C, akan tetapi pertumbuhannya terhambat pada suhu 30°C. Pada melon, suhu 25 °C pembentukan pucuk dari eksplan kotiledon lebih tinggi dibanding pada suhu 21 °C. Selain itu, suhu yang tidak sesuai selama pemeliharaan kultur dapat berpengaruh pada pertumbuhan tanaman setelah diaklimatisasi yaitu timbulnya tanaman yang abnormal.

2) Kondisi Kelembaban Ruang Inkubasi

Kelembaban ruang inkubasi dijaga pada kisaran 60% - 80%. Selain berpengaruh terhadap pertumbuhan eksplan, kelembaban berpengaruh terhadap kondisi eksplan yang perlu dijaga agar selalu dalam keadaan

aseptik. Tinggi rendahnya kelembaban, dipengaruhi oleh suhu, yaitu berbanding lurus dengan suhu. Pada suhu yang rendah kelembaban juga rendah, dan sebaliknya pada suhu yang lebih tinggi kelembaban juga tinggi.

3) Kondisi Pencahayaan Ruang Inkubasi

Cahaya mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan eksplan. Komponen cahaya yang dapat mempengaruhi pertumbuhan kultur di ruang inkubasi adalah panjang gelombang cahaya, intensitas cahaya dan lama pencahayaan (foto periodisme). Panjang gelombang cahaya tertentu memiliki pengaruh tertentu pada tanaman. Misalnya dalam fotosintesis yang berpengaruh adalah cahaya biru dan merah, sedangkan dalam aktifitas zat pengatur tumbuh cahaya biru dapat meningkatkan biosintesis GA₃ dan menghambat sintesis sitokinin alami.

Intensitas cahaya yang diperlukan oleh eksplan bervariasi tergantung pada tahap mana eksplan tersebut berada. Pada tahap inisiasi memerlukan intensitas cahaya antara 0–1000 lux, tahap multiplikasi 1000–10.000 lux, tahap pengakaran 10.000–30.000 lux dan tahap aklimatisasi 30.000 lux. Cahaya di dalam ruang inkubasi bersumber dari lampu TL yang dipasang pada rak kultur dan intensitas cahaya dapat diukur dengan menggunakan lux meter. Lamanya pencahayaan perlu diatur sesuai kebutuhan eksplan dan jenis tanaman. Umumnya lamanya pencahayaan adalah 12 jam dan untuk mengatur lamanya pencahayaan digunakan timer yang diset sesuai kebutuhan.

Sub kultur dalam perbanyakan tanaman secara kultur jaringan diperlukan agar diperoleh populasi pucuk atau anakan yang banyak. Satu pucuk inokulum dapat diperbanyak menjadi 20 pucuk yang dapat dipisahkan menjadi 20 propagul. Sedangkan 20 propagul tersebut masing-masing telah membentuk sejumlah pucuk lagi dan seterusnya. Kelebihan kultur ini adalah pucuk atau hasil perbanyakan pertama dapat langsung dipergunakan untuk perbanyakan selanjutnya.

Rak-rak kultur di ruang inkubasi dapat diberi nomor berdasarkan kodefikasi yang berlaku di tiap tempat (laboratorium/perusahaan). Kodefikasi ini berfungsi untuk memudahkan pengorganisasian data-data yang dikumpulkan. Penataan botol kultur pada rak, diatur berdasarkan kelompok : jenis tanaman, kultivar/ varietas, tahapan kultur dan perlakuan khusus lainnya. Pengelompokkan diperlukan agar tidak terjadi kekeliruan pada tahap selanjutnya. Botol kultur diatur dengan jarak antar botol tidak terlalu rapat dan jumlah disesuaikan tergantung kapasitas rak.



Gambar 9. Penataan Letak Botol Kultur

Agar kondisi lingkungan di dalam ruang inkubasi tetap stabil sesuai dengan yang dibutuhkan, maka perlu dilakukan pengecekan secara periodik. Untuk memudahkan pengecekan tersebut di dalam ruang inkubasi diletakkan peralatan-peralatan pendukung yaitu termometer maximum-minimum, higrometer dan timer. Termometer maximum-minimum adalah alat untuk mengukur suhu, sedangkan higrometer merupakan alat untuk mengukur kelembaban. Dengan kedua alat tersebut dicek berapa suhu dan kelembaban yang terukur. Apabila suhu dan kelembaban yang terukur kurang dari persyaratan kondisi lingkungan ruang inkubasi maka pertumbuhan eksplan akan terganggu. Timer merupakan alat untuk mengatur lamanya pencahayaan eksplan oleh lampu TL yang terpasang pada rak kultur.

Pengecekan timer dilakukan dengan cara melihat apakah setting alat tersebut sudah sesuai dengan kebutuhan.

Kultur di dalam ruang inkubasi perlu dimonitor secara berkala terutama mengontrol ada tidaknya kontaminasi pada eksplan. Terjadinya kontaminasi pada eksplan dapat disebabkan oleh media eksplan dan kondisi lingkungan. Kontaminan dapat berupa jamur atau bakteri. Ciri-ciri eksplan yang terkontaminasi adalah:

- Apabila kontaminan berupa jamur, akan terlihat koloni jamur, biasanya berwarna putih, abu-abu atau hitam, berbentuk seperti serabut, benang, atau kapas.
- Apabila kontaminan berupa bakteri, terlihat cairan berupa lendir berwarna putih atau merah.

D. Aktivitas Pembelajaran

Materi pelatihan ini dirancang untuk dipelajari oleh Guru SMK Paket Keahlian Agribisnis Perbenihan dan Kultur Jaringan Tanaman. Selain disajikan konsep-konsep, prinsip-prinsip, fakta dan prosedur, dilakukan diskusi kelompok, latihan-latihan, dan praktik dalam pendalaman materi yang mendorong kreativitas untuk berinovasi. Pelaksanaan pembelajaran menggunakan pendekatan andragogi, yaitu lebih mengutamakan pengungkapan kembali pengalaman peserta pelatihan, menganalisis, menyimpulkan, dan menggeneralisasi dalam suasana diklat yang aktif, inovatif, kreatif, efektif, menyenangkan, dan bermakna.

Langkah-langkah yang perlu dilakukan dalam mempelajari materi pelatihan ini mencakup aktivitas individual dan kelompok yang meliputi :

1. Memberikan pengantar tentang pelaksanaan kultur jaringan tanaman pangan dan hortikultura.
2. Mendiskusikan tentang inisiasi bahan tanam kultur jaringan tanaman pangan dan hortikultura dan penanaman inokulum kultur jaringan tanaman pangan dan hortikultura.
3. Membahas hasil diskusi bersama peserta.
4. melakukan praktek tentang inisiasi bahan tanam kultur jaringan tanaman pangan dan hortikultura dan penanaman inokulum kultur jaringan tanaman pangan dan hortikultura.
5. Membahas hasil praktek bersama peserta.
6. Membuat rangkuman bersama peserta.
7. Melakukan refleksi/umpan balik bersama peserta.

LEMBAR KERJA

Sterilisasi Eksplan Tanaman Pisang Secara Fisik (Dibakar)

1. Tujuan Kegiatan

Tujuan kegiatan ini adalah agar peserta diklat mampu melakukan sterilisasi eksplan bonggol anakan tanaman pisang secara fisik (dibakar) dengan benar apabila disediakan peralatan dan bahan yang relevan.

2. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan yaitu : gelas piala, timbangan digital, pinset lurus panjang, lampu spiritus, gelas ukur, *Laminar Air Flow Cabinet*, alas kaca, dan *hand sprayer*. Bahan yang digunakan yaitu : eksplan bonggol anakan tanaman pisang, aquades steril, air kran, tissue gulung, korek api, kertas alas timbang, alkohol 70 %, alkohol 95 detergen, dan kertas label.

3. Keselamatan Kerja

Kegiatan ini harus memperhatikan keselamatan kerja antara lain pakailah jas laboratorium, gunakan alat atau benda-benda yang steril serta berhati-hati dalam menggunakan bahan kimia.

4. Langkah Kerja

- a. Siapkanlah alat dan bahan yang akan digunakan !
- b. Cuci potongan eksplan pisang dalam larutan detergen untuk menghilangkan getah di permukaannya dan bilas dengan air bersih !
- c. Bawa eksplan ke dalam *Laminar Air Flow Cabinet* untuk proses sterilisasi berikutnya !
- d. Celupkan eksplan pisang yang telah digojok dengan larutan fungisida dan bakterisida dalam alkohol 95 % dan membakarnya !
- e. Biarkan api yang membakar eksplan padam lalu lanjutkan dengan proses inokulasi eksplan !

LEMBAR KERJA

Sterilisasi Eksplan Tanaman Pisang Secara Kimia (Direndam Larutan Kimia)

1. Tujuan Kegiatan

Tujuan dilakukannya kegiatan ini adalah agar peserta diklat mampu melakukan sterilisasi eksplan dari bonggol anakan tanaman pisang secara kimia (dengan direndam larutan kimia) dengan benar apabila disediakan peralatan dan bahan yang relevan.

2. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam melakukan kegiatan ini yaitu gelas piala, timer, timbangan digital, pinset lurus panjang, lampu spiritus, gelas ukur, *Laminar Air Flow Cabinet*, alas kaca, dan *hand sprayer*. Bahan yang digunakan dalam melakukan kegiatan yaitu eksplan bonggol anakan tanaman pisang, aquades steril, air kran, tissue gulung, korek api, kertas alas timbang, alkohol 70 %, alkohol 95 %, Betadine, larutan Bayclin, fungisida Dithane M-45, detergen, bakterisida Agrept dan kertas label.

3. Keselamatan Kerja

Kegiatan ini harus memperhatikan keselamatan kerja antara lain pakailah jas laboratorium, gunakan alat atau benda-benda yang steril serta berhati-hati dalam menggunakan bahan kimia.

4. Langkah Kerja

- a. Siapkanlah alat dan bahan yang akan digunakan !
- b. Timbang detergen, fungisida, dan bakterisida masing-masing 2 gr/liter !
- c. Buat larutan detergen, fungisida, dan bakterisida sesuai kebutuhan !
- d. Rendam dan gojok potongan eksplan pisang dalam larutan detergen selama 5 menit dan bilas menggunakan air bersih !

- e. Rendam dan gojok potongan eksplan pisang dalam larutan fungisida dan bakterisida dengan konsentrasi masing-masing 2 gram/liter selama 1 jam !
- f. Bawa eksplan ke dalam Laminar Air Flow Cabinet untuk proses sterilisasi berikutnya !
- g. Buat larutan Bayclin 30 % dan 20 % menggunakan pelarut akuades !
- h. Bilas eksplan pisang yang telah digojok dengan larutan fungisida dan bakterisida menggunakan akuades steril sebanyak 1 kali !
- i. Rendam dan gojok eksplan pisang dalam larutan alkohol 70 % selama 5 menit dan bilas dengan akuades steril sebanyak 1 kali !
- j. Rendam dan gojok eksplan pisang dalam larutan Bayclin 30 % selama 30 menit dan bilas dengan akuades steril sebanyak 1 kali !
- k. Rendam dan gojok eksplan pisang dalam larutan Bayclin 20 % selama 20 menit dan bilas dengan akuades steril sebanyak 3 kali !
- l. Rendam eksplan pisang dalam akuades steril yang diberi beberapa tetes antiseptik Betadine lalu lanjutkan dengan proses inokulasi eksplan !
- m. Bersihkan dan rapikan peralatan dan bahan setelah selesai praktik !

LEMBAR KERJA

Inokulasi Eksplan Tanaman Pisang

1. Tujuan Kegiatan

Tujuan dilakukannya kegiatan ini adalah agar peserta diklat mampu melakukan inokulasi eksplan dari bonggol anakan tanaman pisang dalam media kultur secara aseptis apabila disediakan peralatan dan bahan yang relevan.

2. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam melakukan kegiatan ini yaitu gelas piala, skalpel, mangkuk stainless, pinset lurus panjang, lampu spiritus, ember, *Laminar Air Flow Cabinet*, alas kaca, keranjang plastik, dan *hand sprayer*. Bahan yang digunakan dalam melakukan kegiatan yaitu eksplan anakan tanaman pisang, tissue steril, korek api, kertas steril, alkohol 70 %, alkohol 95 %, mata pisau, media MS 0, dan kertas label.

3. Keselamatan Kerja

Kegiatan ini harus memperhatikan keselamatan kerja antara lain pakailah jas laboratorium, gunakan alat atau benda-benda yang steril, jangan menyalakan api saat tangan masih basah oleh alkohol, serta berhati-hati dalam menggunakan benda tajam.

4. Langkah Kerja

- a. Siapkanlah alat dan bahan yang akan digunakan !
- b. Sterilisasi Laminar Air Flow Cabinet (LAFC) dengan menyalakan lampu ultra violet (UV) selama minimal 30 menit sebelum digunakan !
- c. Cuci tangan sampai bersih menggunakan sabun dan semprot tangan menggunakan alkohol 70 % sebelum bekerja di dalam LAFC !

- d. Matikan lampu UV dan semprotkan alkohol 70 % secara merata pada permukaan di sekitar LAFC dan keringkan dengan tissue !
- e. Masukkan akuades steril, alat-alat diseksi steril, lampu bunsen, dan media kultur yang telah disemprot alkohol 95 % ke dalam LAFC lalu nyalakan lampu TL dan blower !
- f. Bukalah pembungkus alat-alat diseksi dan mangkuk stainless serta petridisk, semprot dengan alkohol 95 % lalu bakar dan biarkan sampai apinya padam !
- g. Nyalakan lampu spiritus dan buka penutup botol alkohol 95 % !
- h. Ambil kertas steril sebanyak 2 lembar, panaskan sebentar di atas api bunsen dan letakkan di atas alas kaca steril !
- i. Ambil eksplan pisang yang telah disterilisasi dengan menggunakan pinset lalu letakkan di atas potongan kertas steril !
- j. Kupas pelepah dan bonggol eksplan pisang sampai berukuran kecil sekitar sebesar 0,5-1 cm menggunakan pisau skalpel steril !
- k. Ambil media MS 0, buka tutupnya, lalu buang air yang berada dalam media kultur tersebut !
- l. Tanam potongan eksplan pisang dalam media MS 0 sebanyak 1 eksplan/ botol media sedalam $\pm 0,5-1$ cm !
- m. Tutup botol kultur hasil inokulasi eksplan serapat mungkin untuk meminimalkan resiko terjadinya kontaminasi !
- n. Beri label (jenis tanaman, bagian tanaman yang diambil, jenis media, tanggal tanam), kemudian menyimpannya di ruang pertumbuhan !
- o. Bersihkan pinset dan pisau skalpel dengan air aquades steril, celupkan pada alkohol 95 %, bakar dan simpan di atas mangkuk stainless !
- p. Buang sampah yang ada di dalam LAFC dan matikan lampu TL dan blower LAFC !
- q. Cuci alat-alat gelas dan diseksi yang telah digunakan untuk inokulasi !

LEMBAR KERJA

Penggandaan Inokulum Tanaman Pisang

1. Tujuan

Tujuan dilakukannya kegiatan ini adalah agar peserta diklat mampu melakukan penggandaan inokulum tanaman pisang pada media kultur yang sesuai secara aseptis apabila disediakan peralatan dan bahan yang relevan.

2. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam melakukan kegiatan ini yaitu scalpel, mangkuk stainless, pinset lurus, lampu spiritus, ember, Laminar Air Flow Cabinet, alas kaca, keranjang plastik, dan hand sprayer. Bahan yang dibutuhkan yaitu inokulum pisang, tissue steril, korek api, kertas steril, alkohol 70 %, alkohol 96 %, mata pisau, media MS+ZPT, dan kertas label.

3. Keselamatan Kerja

Kegiatan ini harus memperhatikan keselamatan kerja antara lain pakailah jas laboratorium, gunakan alat atau benda-benda yang steril, jangan menyalakan api saat tangan masih basah oleh alkohol, serta berhati-hati dalam menggunakan benda tajam.

4. Langkah Kerja

- a. Siapkanlah alat dan bahan yang akan digunakan !
- b. Sterilisasi Laminar Air Flow Cabinet (L AFC) dengan menyalakan lampu UV (ultra violet) selama minimal 30 menit sebelum digunakan !
- c. Cuci tangan sampai bersih menggunakan sabun dan semprot tangan menggunakan alkohol 70 % sebelum bekerja di dalam L AFC !
- d. Matikan lampu UV dan semprotkan alkohol 70 % secara merata pada permukaan di sekitar L AFC dan lap dengan tissue !

- e. Masukkan akuades steril, alat-alat diseksi steril, inokulum pisang, lampu bunsen, dan media kultur ke dalam LAFC !
- f. Bukalah pembungkus alat-alat diseksi dan mangkuk stainless serta petridisk, masukkan alat-alat diseksi ke dalam botol berisi alkohol 96 % dan letakkan mangkuk stainless di antara lampu spiritus dan botol alkohol 96 % !
- g. Nyalakan lampu spiritus, panaskan sekeliling petridisk di atas api bunsen !
- h. Ambil kertas steril sebanyak 3 lembar, panaskan sebentar di atas api bunsen dan letakkan di atas alas kaca steril lalu 1 lembar digunting membulat untuk alas di petridish !
- i. Ambil inokulum pisang yang telah diinisiassi di media MS 0 dengan menggunakan pinset lalu letakkan di atas potongan kertas steril !
- j. Bersihkan inokulum pisang dengan cara memotong bagian sisi permukaan inokulum yang berwarna kecoklatan menggunakan pisau skalpel steril, belah 2 secara simetris dan simpan di dalam petridish !
- k. Ambil media MS+2 ppm BAP, buka tutupnya, lalu buang air yang berada dalam media kultur tersebut, panaskan sekeliling mulut botol di atas api bunsen !
- l. Tanam inokulum pisang dalam media MS+2 ppm BAP sebanyak 2 eksplan/botol media sedalam $\pm 0,5-1$ cm !
- m. Panaskan kembali sekeliling mulut botol dan tutup botol kultur hasil inokulasi serapat mungkin untuk meminimalkan resiko terjadinya kontaminasi !
- n. Beri label (jenis tanaman, bagian tanaman yang diambil, jenis media, tanggal tanam), kemudian menyimpannya di ruang pertumbuhan !
- o. Buang sampah yang ada di dalam LAFC, bersihkan pinset dan pisau skalpel dengan air aquades steril !
- p. Matikan lampu TL dan blower LAFC serta cuci alat-alat gelas dan diseksi yang telah digunakan untuk inokulasi !

LEMBAR KERJA

Induksi Perakaran Inokulum Tanaman Anggrek

1. Tujuan

Tujuan dilakukannya kegiatan ini adalah agar peserta diklat mampu melakukan induksi perakaran inokulum tanaman anggrek pada media kultur yang sesuai secara aseptis apabila disediakan peralatan dan bahan yang relevan.

2. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam melakukan kegiatan ini yaitu gelas piala, scalpel, mangkuk stainless, pinset lurus panjang, pinset lurus, lampu spiritus, ember, Laminar Air Flow Cabinet, alas kaca, keranjang plastik, dan hand sprayer. Bahan yang digunakan dalam melakukan kegiatan yaitu eksplan anakan tanaman anggrek, tissue steril, korek api, kertas steril, alkohol 70 %, alkohol 96 %, mata pisau, media SK II anggrek, dan kertas label.

3. Keselamatan Kerja

Kegiatan ini harus memperhatikan keselamatan kerja antara lain pakailah jas laboratorium, gunakan alat atau benda-benda yang steril, jangan menyalakan api saat tangan masih basah oleh alkohol, serta berhati-hati dalam menggunakan benda tajam.

4. Langkah Kerja

- a. Siapkanlah alat dan bahan yang akan digunakan !
- b. Sterilisasi Laminar Air Flow Cabinet (LAFC) dengan menyalakan lampu UV (ultra violet) selama minimal 30 menit sebelum digunakan !
- c. Cuci tangan sampai bersih menggunakan sabun dan semprot tangan menggunakan alkohol 70 % sebelum bekerja di dalam LAFC !

- d. Matikan lampu UV dan semprotkan alkohol 70 % secara merata pada permukaan di sekitar LAFC dan lap dengan tissue !
- e. Masukkan akuades steril, alat-alat diseksi steril, bahan eksplan anggrek, lampu bunsen, dan media kultur yang telah disemprot alkohol 96 % ke dalam LAFC lalu nyalakan lampu TL dan blower !
- f. Bukalah pembungkus alat-alat diseksi dan mangkuk stainless serta petridisk, masukkan alat-alat diseksi ke dalam botol berisi alkohol 96 % dan letakkan mangkuk stainless di antara lampu spiritus dan botol alkohol 96 % !
- g. Nyalakan lampu spiritus !
- h. Ambil media MS+1 ppm BAP+2 ppm NAA, buka tutupnya, lalu buang air yang berada dalam media kultur tersebut , panaskan sekeliling mulut botol di atas api bunsen !
- i. Ambil inokulum anggrek yang telah diregenerasi di media SK I dengan menggunakan pinset dan tanam inokulum anggrek dalam media SK II tersebut sebanyak 20 eksplan/botol media sedalam $\pm 0,5-1$ cm !
- j. Panaskan kembali sekeliling mulut botol dan tutup botol kultur hasil inokulasi serapat mungkin untuk meminimalkan resiko terjadinya kontaminasi !
- k. Beri label (jenis tanaman, jenis media, tanggal tanam), kemudian menyimpannya di ruang pertumbuhan !
- l. Buang sampah yang ada di dalam LAFC, bersihkan pinset dan pisau skalpel dengan air aquades steril dan letakkan di atas mangkuk stainless, disemprot alkohol 96 % lalu dibakar dan biarkan sampai apinya padam !
- m. Cuci alat-alat gelas dan diseksi yang telah digunakan untuk inokulasi !

LEMBAR KERJA

Pengaturan Kondisi Lingkungan Ruang Inkubasi Kultur

1. Tujuan

Tujuan dilakukannya kegiatan ini adalah agar peserta diklat mampu melakukan pengaturan kondisi lingkungan ruang inkubasi apabila disediakan peralatan dan bahan yang relevan.

2. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam melakukan kegiatan ini yaitu rak kultur, Air Conditioner, thermohigrometer, lux meter, dan timer. Bahan yang digunakan dalam melakukan kegiatan yaitu inokulum kultur dan alat tulis.

3. Keselamatan Kerja

Kegiatan ini harus memperhatikan keselamatan kerja antara lain pakailah jas laboratorium serta pahami pengoperasian peralatan di ruang inkubasi kultur.

4. Langkah Kerja

- a. Siapkanlah alat dan bahan yang akan digunakan !
- b. Lakukan pengecekan terhadap alat pengontrol suhu, kelembaban dan lamanya pencahayaan !
- c. Berdasarkan data dari hasil pengecekan, lakukan pengesetan atau penyetelan terhadap suhu, kelembaban dan lama pencahayaan, sesuai dengan kebutuhan. Suhu 24–28°C. Kelembaban 60-80 %, lamanya pencahayaan 12 jam !
- d. Bersihkan tempat ruangan dan simpan peralatan ke masing-masing tempatnya !
- e. Tutup pintu dan rapikan ruang inkubasi !

LEMBAR KERJA

Monitoring Kondisi Kultur Terkontaminasi

1. Tujuan

Tujuan dilakukannya kegiatan ini adalah agar peserta diklat mampu melakukan monitoring kondisi botol kultur yang terkontaminasi apabila disediakan peralatan dan bahan yang relevan.

2. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam melakukan kegiatan ini yaitu rak kultur, keranjang, dan lup. Bahan yang digunakan dalam melakukan kegiatan yaitu inokulum kultur dan alat tulis.

3. Keselamatan Kerja

Kegiatan ini harus memperhatikan keselamatan kerja antara lain pakailah jas laboratorium serta pahami pengoperasian peralatan di ruang inkubasi kultur.

4. Langkah Kerja

- a. Siapkanlah alat dan bahan yang akan digunakan !
- b. Lakukan identifikasi terhadap eksplan yang terkontaminasi secara sistematis dan teratur agar tidak ada yang terlewat !
- c. Catat data hasil identifikasi pada tabel hasil kegiatan !
- d. Tempatkan botol kultur yang terkontaminasi dalam wadah (ember/ keranjang) !
- e. Lakukan kontrol akhir terhadap semua alat pengatur kondisi di ruang inkubasi !
- f. Bawalah wadah berisi botol kultur yang terkontaminasi ke luar dari ruang inkubasi !
- g. Tutup pintu dan rapikan ruang inkubasi !

Tabel. Hasil Kegiatan Pemeliharaan Kultur

No	Jenis Tanaman	Kultivar/ Varietas	Tahapan Kultur	Jumlah Botol Kontaminasi			Ket
				Steril	Jamur	Bakteri	

E. Latihan Soal

1. Jelaskan pengertian eksplan dan persyaratannya untuk digunakan sebagai bahan tanam secara kultur jaringan !
2. Jelaskan dua teknik sterilisasi eksplan yang sering digunakan dalam kultur jaringan tanaman !
3. Jelaskan pengertian inokulasi eksplan dan teknikny dalam kultur jaringan tanaman !
4. Jelaskan penyebab perlunya dilakukan kegiatan sub kultur inokulum pada kultur jaringan tanaman !
5. Jelaskan tahapan perbanyak inokulum yang dilakukan pada kultur jaringan tanaman !
6. Jelaskan kondisi lingkungan optimum di ruang inkubasi kultur !

F. Rangkuman

Eksplan adalah bagian kecil jaringan atau organ yang diambil atau dipisahkan dari tanaman induknya sebagai bahan tanam *in vitro* kemudian dikulturkan secara *in vitro* dalam kondisi aseptis. Eksplan tersebut harus memenuhi persyaratan antara lain : berasal dari tanaman induk yang sehat, tumbuh baik atau normal dan tentunya memiliki sifat-sifat unggul serta berasal dari tanaman induk yang memiliki nilai ekonomis tinggi. Teknik sterilisasi eksplan secara umum dapat dilakukan dengan 2 cara yaitu sterilisasi secara fisik tidak dapat diterapkan pada semua jenis eksplan dan sterilisasi secara kimia dapat diterapkan pada semua eksplan dengan memperhatikan konsentrasi bahan kimianya dan lamanya perendaman. Inokulasi eksplan adalah kegiatan penanaman bahan tanam (eksplan) ke dalam media inisiasi baik berupa media padat/cair dalam botol kultur di Laminar Air Flow Cabinet dengan kondisi aseptik. Teknik inokulasi eksplan dimulai dengan memotong eksplan secara aseptis menggunakan pinset dan skalpel, menanam eksplan dalam botol kultur secara aseptis dan memberi identitas hasil inokulasi eksplan.

Sub kultur harus dilakukan terhadap inokulum disebabkan oleh beberapa hal antara lain : tumbuhnya eksplan cukup cepat dan telah memenuhi seluruh botol kultur, media tumbuh telah mengering yang ditandai dengan berkurangnya volume agar-agar atau media cairnya sudah habis, eksplan perlu diperbanyak lebih lanjut untuk tujuan tahapan perbanyakannya selanjutnya, dan eksplan memerlukan media yang susunannya baru agar dapat mengalami diferensiasi lebih lanjut. Tahap penggandaan inokulum bertujuan untuk menggandakan bahan eksplan hasil inokulasi yang hidup dengan cara diperbanyak untuk penumbuhan tunas atau embrio. Tunas-tunas yang dihasilkan pada tahap penggandaan inokulum dilakukan sub kultur regenerasi inokulum dengan dipindahkan ke media sitokinin dengan konsentrasi sangat rendah atau tanpa sitokinin. Tahap induksi

perakaran tunas biasanya digunakan zat pengatur tumbuh auksin berupa kombinasi NAA dan IBA (Indole Butiric Acid).

Suhu yang sesuai untuk pertumbuhan kultur adalah antara 24–28° C dengan kelembaban ruang inkubasi dijaga pada kisaran 60-80 %. Intensitas cahaya yang diperlukan oleh eksplan yaitu : tahap inisiasi memerlukan intensitas cahaya antara 0–1000 lux, tahap multiplikasi 1000–10.000 lux, tahap pengakaran 10.000–30.000 lux dan tahap aklimatisasi 30.000 lux. Rak kultur di ruang inkubasi dapat diberi nomor berdasarkan kodefikasi yang berlaku di tiap tempat (laboratorium/perusahaan) untuk memudahkan pengorganisasian data-data yang dikumpulkan. Kultur di dalam ruang inkubasi perlu dimonitor secara berkala terutama mengontrol ada tidaknya kontaminasi pada eksplan.

G. Umpan Balik dan Tindak Lanjut

Mata Diklat :, Tanggal

Nama Peserta :

Sekolah Asal :

Setelah kegiatan pembelajaran berakhir Saudara dapat melakukan refleksi dengan menjawab pertanyaan berikut ini secara individu!

1. Apa yang Saudara pahami setelah mempelajari materi ini ?

.....
.....
.....
.....

2. Pengalaman penting apa yang Anda peroleh setelah mempelajari materi ini ?

.....
.....
.....
.....

3. Apa manfaat materi ini terhadap tugas Anda sebagai Guru SMK Paket Keahlian Agribisnis Perbenihan dan Kultur Jaringan Tanaman di sekolah ?

.....

.....

.....

.....

.....

4. Apa rencana tindak lanjut yang akan saudara lakukan setelah kegiatan ini ?

.....

.....

.....

.....

.....

IV KEGIATAN PEMBELAJARAN 3 PASCA KULTUR JARINGAN TANAMAN PANGAN DAN HORTIKULTURA

A. Tujuan

Tujuan pembelajaran : setelah mengkaji materi dan melakukan aktivitas pembelajaran peserta diklat mampu melakukan pasca kultur jaringan tanaman pangan dan hortikultura dengan disiplin dan tanggung jawab sesuai kriteria

B. Indikator Pencapaian Kompetensi

Indikator keberhasilan : setelah mengkaji materi dan melakukan aktivitas pembelajaran peserta diklat diharapkan mampu :

1. Melakukan aklimatisasi plantlet hasil kultur jaringan tanaman pangan dan hortikultura sesuai kriteria
2. Melakukan pembesaran bibit hasil kultur jaringan tanaman pangan dan hortikultura sesuai kriteria

C. Uraian Materi

1. Aklimatisasi Plantlet Hasil Kultur Jaringan Tanaman Pangan dan Hortikultura

a. Penyiapan Plantlet

Rangkaian tahap kegiatan terakhir dalam perbanyakan tanaman secara kultur jaringan adalah tahap aklimatisasi. Tahap aklimatisasi sangat penting dan tanpa kegiatan ini metode kultur jaringan tidak ada artinya. Hal ini dikarenakan jutaan bibit hasil perbanyakan secara kultur jaringan tidak dapat hidup dan tumbuh di lapangan secara langsung tanpa adanya tahap aklimatisasi. Prinsip dari tahap aklimatisasi adalah tanaman yang terbiasa hidup dan tumbuh pada lingkungan laboratorium yang serba terkendali dan

memiliki pola hidup sebagai tanaman yang heterotrof akan diadaptasi dan dipindahkan ke lingkungan lapangan di mana tanaman harus berpola hidup sebagai tanaman autotrof.

Tahap aklimatisasi merupakan masa yang kritis karena plantlet menunjukkan beberapa sifat yang kurang menguntungkan apabila hidup di lingkungan lapangan, seperti :

- 1) Memiliki lapisan lilin yang tidak berkembang dengan baik.
- 2) Sel-sel palisade daun hanya terbentuk dalam jumlah sedikit.
- 3) Jaringan pembuluh dari akar ke pucuk plantlet kurang berkembang.
- 4) Stomata seringkali tidak berfungsi, yaitu tidak mau menutup pada kondisi laju penguapan yang tinggi.

Keadaan yang kurang menguntungkan tersebut menyebabkan plantlet sifatnya sangat peka terhadap transpirasi, serangan mikroba tanah dan cahaya yang memiliki intensitas tinggi. Plantlet dengan karakteristik tersebut apabila dipindahkan secara langsung pada kondisi lapangan akan mudah menjadi layu atau kering. Oleh karena itu plantlet atau tunas mikro perlu diadaptasikan di lingkungan yang baru terlebih dahulu.

Keberhasilan tahap aklimatisasi plantlet juga tergantung pada tingginya mutu tunas yang dihasilkan pada tahap sebelumnya. Selain itu beberapa perlakuan pengokohan (*hardening off*) plantlet dapat meningkatkan mutu tunas plantlet sehingga plantlet dapat diaklimatisasikan dengan persentase keberhasilan yang tinggi. Beberapa perlakuan pengokohan plantlet yang dapat dilakukan sebagai berikut :

- 1) Mengkondisikan kultur di tempat yang pencahayaannya berintensitas lebih tinggi (misalnya 10.000 lux) dan suhunya tinggi.
- 2) Kultur tanaman jati dapat dikondisikan pada kondisi ruangan dengan suhu 25 ± 2 °C dan periode terang (1000-3000 lux) selama 16 jam per hari (Sukmadjaja dan Mariska, 2003).

- 3) Pemanjangan dan perakaran tunas mikro dilakukan dalam media kultur dengan komposisi hara mineral dan sukrosa lebih rendah serta konsentrasi agar-agar yang lebih tinggi.

Plantlet yang tumbuh di dalam botol kultur pada media agar-agar akan mudah ditumbuhi oleh mikroorganisme, maka sebelum plantlet di tanam harus disiapkan terlebih dahulu yaitu dengan dikeluarkan dari botol kultur, dicuci dan diseleksi. Plantlet dikeluarkan dari dalam botol kultur secara hati-hati dengan cara menarik plantlet keluar dari dalam botol kultur menggunakan pinset dan diusahakan pada saat menjepit jangan terlalu kencang agar plantlet tidak patah atau rusak. Apabila plantlet mengalami patah atau rusak maka pertumbuhan tanaman akan terganggu. Misalnya terganggunya translokasi hasil fotosintesa dan transpotasi unsur hara dan air yang sangat dibutuhkan dalam metabolisme tanaman. Hal ini akan menyebabkan kurang optimalnya aliran energi ke bagian pucuk dan akar tanaman. Selain itu apabila terdapat bagian plantlet yang luka akan mudah terserang oleh patogen terutama patogen rebah semai.

Plantlet yang ditumbuhkan pada media agar-agar saat dikeluarkan dari botol kultur biasanya masih ada agar-agar yang menempel pada akar dan ikut tertarik keluar. Oleh karena itu plantlet harus dicuci menggunakan air bersih sampai tidak ada sisa agar-agar yang tertinggal. Media agar-agar yang mengandung gula (sukrosa) akan mudah sekali ditumbuhi mikroorganisme sehingga apabila ada sisa agar-agar yang menempel pada plantlet maka mikroorganisme akan tumbuh pada daerah tersebut dan kemudian plantlet akan terganggu pertumbuhannya dan akhirnya mengalami kematian. Selain itu plantlet sebelum ditanam di media aklimatisasi juga dapat diberi perlakuan fungisida dan bakterisida untuk mencegah serangan mikroorganisme pada plantlet di tempat aklimatisasi. Pemberian perlakuan pestisida pada plantlet dapat dilakukan dengan perendaman plantlet setelah dicuci pada fungisida dan bakterisida sesuai dosis anjuran selama ± 5 menit dan ditiriskan sebelum ditanam.

Plantlet sebelum ditanam di media aklimatisasi sebaiknya dilakukan seleksi terlebih dahulu berdasarkan kelengkapan organnya, warnanya dan ukurannya. Plantlet yang baik adalah yang memiliki organ akar, daun, batang dengan pucuk yang lengkap, warna pucuknya hijau mantap artinya tidak tembus pandang (*viturus*) dan pertumbuhannya kekar. Pucuk merupakan bagian tanaman yang masih muda sehingga proses metabolismenya lebih tinggi apabila dibandingkan dengan bagian-bagian tanaman yang lebih tua. Salah satu fungsi pucuk adalah untuk proses fotosintesa yang menghasilkan karbohidrat dan energi untuk pertumbuhan dan perkembangan tanaman.

Akar berfungsi untuk menegakkan berdirinya tanaman, menyerap air dan garam-garam mineral dari media tanam serta transpotasi air ke organ lainnya. Oleh karena itu sebaiknya perakaran plantlet diperiksa terlebih dahulu apakah terbentuk dari pucuk atau kalus. Selain itu diperiksa apakah sudah terbentuk bulu-bulu akar atau belum dan juga tentang kemantapan warna dan kekokohan pertumbuhannya. Plantlet yang terpilih baik selanjutnya dikelompokkan berdasarkan ukurannya untuk menunjang diperoleh pertumbuhan bibit yang seragam. Selain itu pengelompokan ukuran bibit berguna untuk memudahkan dan mengoptimalkan pemeliharaan bibit. Bibit yang tidak seragam akan menyebabkan tanaman yang berukuran lebih kecil kalah dalam persaingan mengambil unsur hara, air dan cahaya matahari yang berguna untuk pertumbuhan bibit.

b. Penanaman Plantlet

Media agar-agar dalam botol kultur yang disimpan di laboratorium kultur jaringan merupakan tempat asal kehidupan plantlet. Media agar-agar tempat tumbuh plantlet adalah media tumbuh yang istimewa karena keadaannya steril dengan kelembaban yang tinggi dan mengandung nutrisi dengan jumlah dan jenisnya mencukupi untuk kehidupan plantlet tersebut. Oleh karena itu apabila akan menanam plantlet di lahan yang kondisinya sangat berbeda dengan lingkungan asalnya, maka pada tahap awal

aklimatisasi plantlet harus diberikan kondisi lingkungan yang tidak jauh berbeda dengan kondisi lingkungan asalnya. Kondisi lingkungan yang diharapkan memiliki sterilitas media tumbuh, intensitas penyinaran yang terkendali dan kelembaban lingkungan tumbuh yang terkendali.



Gambar 10. Media Tanam Arang Sekam, Pasir dan Potongan Pakis

Guna mendukung tingkat keberhasilan aklimatisasi yang tinggi maka sebaiknya media tanam untuk aklimatisasi dikukus terlebih dahulu minimal selama 4 jam sehingga media tanam menjadi steril. Adapun macam-macam media tanam untuk aklimatisasi adalah arang sekam, pecahan arang, potongan pakis, kompos dicampur tanah ayakan, dan lain-lain tergantung kesesuaian komoditas yang akan diaklimatisasi. Contohnya, untuk plantlet anggrek cocok ditanam pada media potongan pakis atau sabut kelapa yang dicampur pecahan arang kayu. Plantlet calla lily cocok ditanam pada media arang sekam dan plantlet pisang cocok ditanam pada media kompos yang dicampur tanah ayakan. Plantlet jati menggunakan media aklimatisasi berupa campuran tanah+arang sekam (1:1) atau tanah +serbuk sabut kelapa (1:1) atau tanah+kompos halus (1:1).

Plantlet setelah disiapkan media tanamnya selanjutnya dilakukan penanaman pada media tersebut. Plantlet atau tunas mikro ditanam di media aklimatisasi dalam bak semai, bedengan atau polybag dengan pengaturan intensitas cahaya yang rendah dan kelembaban nisbi tinggi. Penanaman plantlet dimulai dengan penyiapan wadah penanaman berupa bak semai. Media penanaman disiapkan dengan mencuci media pasir dalam bak berisi

air yang bersih sampai air cuciannya menjadi jernih. Jika menggunakan media arang sekam tidak perlu dicuci lagi karena media arang sekam adalah hasil proses pembakaran maka sudah relatif steril. Media pasir juga perlu disterilisasi dengan cara dikukus atau disiram menggunakan air mendidih agar sumber patogen tanamannya bisa dihilangkan atau diminimalkan.



Gambar 18. Penanaman Planlet Jati pada Media Aklimatisasi

Tahap selanjutnya media penanaman berupa pasir atau arang sekam dimasukkan ke dalam bak semai atau pot individu. Plantlet tanaman kemudian ditanam pada media penanaman pada lubang tanam dengan posisi tegak. Bak semai perlu ditutup menggunakan plastik transparan untuk mengendalikan kelembaban media tanamnya. Bak semai penanaman lalu diberi label mengenai jenis tanaman dan tanggal penanaman untuk memudahkan kegiatan selanjutnya yaitu pada saat perlakuan pemeliharaan plantlet. Hasil penanaman kemudian diletakkan di dalam green house yang intensitas sinar matahari terkendali.

2. Pembesaran Bibit Hasil Kultur Jaringan Tanaman Pangan dan Hortikultura

a. Pengaturan Lingkungan Pertumbuhan Bibit

Pengaturan kondisi lingkungan plantlet pada saat aklimatisasi dilakukan dengan cara plantlet tidak langsung terkena sinar matahari tetapi diletakkan di tempat aklimatisasi yang diatur dengan intensitas cahaya 40-50 %. Apabila setelah 5-7 hari plantlet masih dalam keadaan segar maka

intensitas cahayanya dapat ditingkatkan sampai 70 %. Pengadaptasian plantlet dengan cara bertahap menaikkan intensitas cahayanya dan menurunkan kelembabannya dilakukan sampai diperoleh plantlet dapat hidup dan tumbuh normal di kondisi lapangan secara penuh.

Kondisi kelembaban lingkungan saat aklimatisasi erat kaitannya dengan laju transpirasi tanaman. Semakin rendah kelembaban lingkungannya maka kecepatan transpirasi akan semakin meningkat. Plantlet yang baru saja ditanam di media aklimatisasi, bulu-bulu akarnya belum dapat menyerap air dari media secara normal. Apabila laju transpirasi terlalu tinggi maka akan menyebabkan tanaman menjadi layu karena laju penyerapan air dengan transpirasi tidak seimbang. Perlakuan untuk mengkondisikan plantlet pada kelembaban tinggi dapat dilakukan dengan cara memberi sungkup pada plantlet tersebut secara individu atau secara kelompok. Pemberian sungkup tersebut diharapkan dapat melindungi plantlet dari curahan air hujan dan pengaruh sinar matahari langsung.

Plantlet yang telah ditanam di media aklimatisasi agar dapat hidup normal di lingkungan lapangan maka saat pemeliharaan harus dilakukan pengadaptasian secara bertahap. Pengadaptasian dilakukan dengan cara mengurangi secara bertahap kondisi kelembaban lingkungannya dan meningkatkan secara bertahap intensitas cahayanya dengan cara pembukaan sungkup secara bertahap. Perubahan kondisi lingkungan secara bertahap tersebut akan meningkatkan kemampuan plantlet hidup pada kondisi lingkungan lapangan tanpa mengalami stres yang berat.

Proses awal pemeliharaan plantlet di lapangan dilakukan dengan pengaturan intensitas cahaya matahari sekitar 40-50 %. Hal ini berguna untuk mengadaptasikan plantlet yang biasanya hidup di dalam laboratorium yang cahayanya hanya diperoleh dari lampu TL. Perubahan intensitas cahaya yang drastis mencapai 75 % akan menyebabkan stres pada plantlet dan dapat mengakibatkan kematian. Plantlet pada saat umur berkisar antara 5-7 hari setelah penanaman dapat diberikan intensitas cahaya sampai 70 %.

Pengadaptasian plantlet terhadap intensitas cahaya yang tinggi atau penuh dapat dilanjutkan sampai plantlet hidup dan tumbuh normal pada kondisi lapangan.

b. Teknik Pemeliharaan Bibit

Bibit tanaman yang diaklimatisasi dalam bak semai dipelihara dengan cara melakukan penyiraman, pemupukan dan pengendalian hama penyakit. Penyiraman pada plantlet sebaiknya dilakukan dua kali sehari yang berguna untuk melarutkan unsur hara yang dibutuhkan tanaman dan menjaga kondisi kelembaban media. Penyiraman tersebut akan menjaga ketersediaan uap air pada sore hari karena persediaan uap air hasil penyiraman pada pagi hari sudah habis dimanfaatkan tanaman dan sebagian menguap ke lingkungan. Tetapi penyiraman tidak boleh berlebihan karena akan dapat menyebabkan terjadinya kebusukan pada plantlet akibat serangan jamur atau bakteri.



Gambar 19. Bibit Pisang Hasil Perbanyakan secara Kultur Jaringan

Pemupukan bibit tanaman bertujuan memberikan unsur-unsur hara esensial yang diperlukan untuk pertumbuhan vegetatif bibit tanaman menggunakan pupuk dengan kandungan Nitrogen yang tinggi seperti Growmore (32:10:10) atau Vitabloom (30:10:10). Cara pemupukan pada

bibit tanaman hasil aklimatisasi yaitu dengan cara menyemprotkannya pada daun seminggu sekali pada pagi hari atau ditabur di media tanam menggunakan pupuk berbentuk butiran seperti 5 butir/pot pupuk Dekastar Plus setiap 3 bulan sekali atau 2 gram/polybag pupuk NPK (15:15:15) setiap 14 hari sekali. Pengendalian hama yang menyerang bibit tanaman dalam bak semai seperti ulat tanah dilakukan dengan penyemprotan menggunakan insektisida Curacron 250 EC dengan dosis sebanyak 2 ml/liter. Pengendalian penyakit yang menyerang bibit tanam seperti penyakit rebah semai atau busuk akar dilakukan dengan penyemprotan fungisida Dithane M-45 dan bakterisida Agrept dengan dosis masing-masing sebanyak 2 gram/liter.

Transplanting adalah tahap lanjutan dari proses pasca aklimatisasi yaitu penggantian media yang sudah lama ke media yang baru yang berasal dari bak semai ke pot individu atau polybag yang ukurannya sesuai dengan pertumbuhan bibit tanaman. Transplanting yang bermula dalam satu bak semai terdiri dari 25-30 bibit tanaman dijarangkan menjadi 1 tanaman dalam satu pot (tunggal) atau polybag. Transplanting perlu dipersiapkan bahan media berupa tanah dan pupuk kandang atau kompos dengan perbandingan 1 : 1. Bibit tanaman yang akan ditransplanting minimal memiliki 2 daun dan sudah berakar cukup banyak dan kokoh. Bibit tanaman yang telah dipilih tersebut kemudian ditanam pada media pembibitan yang sudah dipersiapkan sebelumnya sehingga tanaman tegak dan tidak roboh serta dapat tumbuh optimal.

D. Aktivitas Pembelajaran

Materi pelatihan ini dirancang untuk dipelajari oleh Guru SMK Paket Keahlian Agribisnis Perbenihan dan Kultur Jaringan Tanaman. Selain disajikan konsep-konsep, prinsip-prinsip, fakta dan prosedur, dilakukan diskusi kelompok, latihan-latihan, dan praktik dalam pendalaman materi yang mendorong kreativitas untuk berinovasi. Pelaksanaan pembelajaran menggunakan pendekatan andragogi, yaitu lebih mengutamakan pengungkapan kembali pengalaman peserta pelatihan, menganalisis, menyimpulkan, dan menggeneralisasi dalam suasana diklat yang aktif, inovatif, kreatif, efektif, menyenangkan, dan bermakna.

Langkah-langkah yang perlu dilakukan dalam mempelajari materi pelatihan ini mencakup aktivitas individual dan kelompok yang meliputi :

1. Memberikan pengantar tentang pasca kultur jaringan tanaman pangan dan hortikultura.
2. Mendiskusikan tentang aklimatisasi plantlet hasil kultur jaringan tanaman pangan dan hortikultura dan pembesaran bibit hasil kultur jaringan tanaman pangan dan hortikultura.
3. Membahas hasil diskusi bersama peserta.
4. Melakukan praktek tentang aklimatisasi plantlet hasil kultur jaringan tanaman pangan dan hortikultura dan pembesaran bibit hasil kultur jaringan tanaman pangan dan hortikultura.
5. Membahas hasil praktek bersama peserta.
6. Membuat rangkuman bersama peserta.
7. Melakukan refleksi/umpan balik bersama peserta.

LEMBAR KERJA

Aklimatisasi Planlet Tanaman Pisang

1. Tujuan Kegiatan

Tujuan kegiatan ini adalah agar peserta diklat mampu melakukan aklimatisasi planlet tanaman pisang dengan benar apabila disediakan peralatan dan bahan yang relevan.

2. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam melakukan kegiatan ini yaitu pinset, gelas piala, bak persemaian plastik, hand sprayer dan nampan plastik. Bahan yang digunakan antara lain : plantlet pisang, kertas label, fungisida, bakterisida, plastik wrapping, media campuran kompos dan pasir, spidol, dan air bersih.

3. Keselamatan Kerja

Kegiatan ini harus memperhatikan keselamatan kerja antara lain pakailah pakaian kerja dan berhati-hatilah pada saat mengeluarkan plantlet karena plantlet yang mengalami kerusakan akan lebih sulit hidup di media aklimatisasi serta berhati-hati dalam menggunakan bahan kimia.

4. Langkah Kerja

- a. Siapkanlah alat dan bahan yang akan digunakan !
- b. Pilihlah plantlet pisang yang telah memiliki kelengkapan organ, mempunyai pucuk dan akar, warna pucuk hijau mantap, dan ukurannya relatif seragam !
- c. Keluarkan plantlet dari botol kultur secara hati-hati menggunakan pinset dan masukkan ke dalam wadah/gelas piala yang bersih !
- d. Cucilah plantlet dari sisa agar-agar yang masih menempel di akarnya di bawah air kran secara hati-hati !

- e. Apabila tidak ada air kran yang mengalir, cucilah di dalam wadah/gelas piala yang bersih !
- f. Rendam plantlet setelah dicuci dalam larutan fungisida atau bakterisida sesuai dosis anjuran selama ± 5 menit !
- g. Tiriskan plantlet pisang yang telah dicuci bersih dalam nampan plastik yang diberi alas kertas koran !
- h. Kelompokkan plantlet sesuai ukurannya untuk memudahkan dan mengoptimalkan dalam pemeliharaannya !
- i. Sterilisasi media campuran kompos dan pasir dengan dikukus dalam tong agar sumber patogen tanamannya bisa dihilangkan !
- j. Masukkan media tanam campuran kompos dan pasir ke dalam bak persemaian plastik !
- k. Tanam plantlet tanaman pisang pada media tanam dengan posisi tegak secara berkelompok sebanyak 50 plantlet per bak !
- l. Tutup bak persemaian menggunakan plastik wrapping dengan cara merekatkannya menggunakan selotif double !
- m. Beri label bak persemaian mengenai jenis tanaman dan tanggal penanaman untuk memudahkan perlakuan pemeliharaan plantlet selanjutnya !
- n. Letakan pot plantlet hasil aklimatisasi di dalam green house yang teduh untuk mengendalikan kelembaban media tanamnya selama sekitar 1 bulan penuh !

LEMBAR KERJA

Pembesaran Bibit Tanaman Pisang Pasca Aklimatisasi

1. Tujuan Kegiatan

Tujuan kegiatan ini adalah agar peserta diklat mampu melakukan pemeliharaan bibit tanaman pisang pasca aklimatisasi dengan benar apabila disediakan peralatan dan bahan yang relevan.

2. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam melakukan kegiatan ini yaitu gelas ukur, ember, hand sprayer, timbangan digital, dan sendok kecil. Bahan-bahan yang digunakan, yaitu : bibit pisang pasca aklimatisasi, media campuran kompos dan pasir, polibag, pupuk NPK (15:15:15), fungisida Dithane M-45, bakterisida Agrept, insektisida Curacron, pupuk daun Growmore (32:10:10), bibit pisang, kertas alas timbang dan air.

3. Keselamatan Kerja

Kegiatan ini harus memperhatikan keselamatan kerja antara lain pakailah pakaian kerja serta berhati-hati dalam aplikasi bahan pestisida.

4. Langkah Kerja

- a. Siapkanlah alat dan bahan yang akan digunakan !
- b. Siram bibit tanaman pisang dengan air yang bersih melalui pengkabutan memakai sprayer sebanyak 1 kali sehari waktu pagi hari !
- c. Lakukan pemupukan bibit tanaman pisang menggunakan pupuk daun Growmore (32:10:10) sebanyak 2 gram/liter setiap 1 minggu sekali melalui penyemprotan dengan sprayer pada pagi hari !
- d. Lakukan pemupukan bibit tanaman pisang menggunakan pupuk Urea (15:15:15) sebanyak 2 gram/pot dengan ditaburkan di media tanamnya !

- e. Lakukan pengendalian penyakit menggunakan fungisida Dithane M-45 (rutin) dan bakterisida Agrept (hanya jika diperlukan) masing-masing sebanyak 2 gr/liter melalui penyemprotan dengan sprayer di pagi hari !
- f. Lakukan pengendalian hama menggunakan insektisida Curacron (hanya jika diperlukan) dengan konsentrasi 2 ml/liter melalui penyemprotan dengan sprayer pada pagi hari !
- g. Lakukan transplanting bibit tanaman pisang ke polybag setelah bibit tanaman pisang berumur sekitar 3 bulan !
- h. Lakukan pengamatan kondisi bibit tanaman pisang secara berkala untuk melihat adanya serangan hama dan penyakit pada bibit tanaman pisang !

E. Latihan Soal

- 1. Jelaskan pengertian aklimatisasi dan teknik penyiapan plantlet pada saat dilakukan aklimatisasi !
- 2. Jelaskan media tanam dan teknik penanaman plantlet pada saat dilakukan aklimatisasi !
- 3. Jelaskan prinsip pengaturan lingkungan tumbuh bibit pasca aklimatisasi !
- 4. Jelaskan teknik pemeliharaan bibit pasca aklimatisasi !

F. Rangkuman

Aklimatisasi plantlet sangat penting dalam perbanyakan tanaman secara kultur jaringan karena jutaan bibit hasil perbanyakan secara kultur jaringan tidak dapat hidup dan tumbuh di lapangan secara langsung tanpa adanya tahap aklimatisasi. Teknik penyiapan plantlet yang akan diaklimatisasi meliputi cara-cara pengeluaran plantlet yang benar dari botol kultur, pembersihan plantlet dari sisa agar-agar, dan seleksi terhadap plantlet yang akan ditanam agar pertumbuhannya seragam.

Macam-macam media tanam untuk aklimatisasi adalah arang sekam, pecahan arang, potongan pakis, kompos dicampur tanah ayakan, dan lain-lain tergantung kesesuaian komoditas yang akan diaklimatisasi. Teknik penanaman plantlet pada media meliputi : penyiapan wadah berupa bak semai, penyiapan, pencucian, dan sterilisasi media tanam, pengisian bak semai dengan media tanam, penanaman plantlet pada media tanam, penutupan bak semai dengan plastik transparan, pemberian label bak semai, dan diletakkan di rumah kaca.

Pengaturan lingkungan pertumbuhan bibit prinsipnya dilakukan dengan cara mengurangi secara bertahap kelembaban lingkungannya dan meningkatkan secara bertahap intensitas cahayanya dengan cara pembukaan sungkup secara bertahap. Pemeliharaan bibit tanaman yang diaklimatisasi dalam bak semai dilakukan dengan cara melakukan penyiraman, pemupukan, pengendalian hama penyakit dan pemindahan plantlet pada pot individu (transplanting).

G. Umpan Balik dan Tindak Lanjut

Mata Diklat :, Tanggal

Nama Peserta :

Sekolah Asal :

Setelah kegiatan pembelajaran berakhir Saudara dapat melakukan refleksi dengan menjawab pertanyaan berikut ini secara individu!

1. Apa yang Saudara pahami setelah mempelajari materi ini ?

.....

.....

.....

.....

.....

.....

2. Pengalaman penting apa yang Anda peroleh setelah mempelajari materi ini ?

.....

.....

.....

.....

.....

3. Apa manfaat materi ini terhadap tugas Anda sebagai Guru SMK Paket Keahlian Agribisnis Perbenihan dan Kultur Jaringan Tanaman di sekolah ?

.....

.....

.....

.....

.....

4. Apa rencana tindak lanjut yang akan saudara lakukan setelah kegiatan ini ?

.....

.....

.....

.....

.....

V EVALUASI

1. Alat pada kegiatan kultur jaringan tanaman pangan dan hortikultura yang berfungsi untuk mensterilisasi media kultur adalah
 - A. hotplate
 - B. autoklaf
 - C. lampu ultraviolet
 - D. entkas
2. Bahan tanam indukan pada kultur jaringan tanaman nenas diambil dari bagian
 - A. tunas anakan dan tunas mahkota bunga
 - B. daun muda dan tunas mahkota buah
 - C. tunas anakan dan tunas mahkota buah
 - D. daun muda dan tunas mahkota bunga
3. Kondisi penanaman bahan tanam sumber eksplan kultur jaringan tanaman yang paling sesuai adalah
 - A. ditanam dari hasil perbanyakan generatif di polibag
 - B. ditanam dari hasil perbanyakan vegetatif di polibag
 - C. ditanam dari hasil perbanyakan vegetatif di bedengan
 - D. ditanam dari hasil perbanyakan generatif di bedengan
4. Tahapan yang bertujuan untuk membuat homogen komponen media kultur adalah.....
 - A. pelarutan bahan media
 - B. pemasakan bahan media
 - C. sterilisasi bahan media
 - D. pencampuran bahan media
5. Teknik sterilisasi yang sesuai untuk bahan tanam berupa buah anggrek dengan bijinya adalah
 - A. sterilisasi secara fisik dan kimia
 - B. sterilisasi secara kimia (direndam bahan kimia)
 - C. sterilisasi secara fisik (dibakar)
 - D. sterilisasi direndam formalin
6. Laminar Air Flow Cabinet sebelum digunakan untuk inokulasi bahan tanam/eksplan setelah sterilisasi dibersihkan permukaan meja kerjanya dengan cara
 - A. menhidupkan lampu ultraviolet selama 30 menit
 - B. menhidupkan lampu blower selama 30 menit
 - C. menyemprot menggunakan alkohol 96 %
 - D. menyemprot menggunakan Na-hipoklorit

7. Teknik mikropropagasi pada kultur jaringan tanaman nenas dilakukan melalui
 - A. kultur nodus
 - B. kultur pucuk
 - C. proliferasi tunas aksiler
 - D. organogenesis langsung
8. Pengaturan kondisi waktu pencahayaan ruang pemeliharaan (inkubasi) kultur dilakukan dengan
 - A. lampu neon
 - B. sakelar
 - C. counter
 - D. timer
9. Pemeliharaan kondisi sterilitas ruang pemeliharaan (inkubasi) kultur secara berkala dilakukan dengan
 - A. menyemprot menggunakan larutan Na-hipoklorit secara berkala
 - B. menyemprot menggunakan larutan formalin 10 % secara berkala
 - C. menyemprot menggunakan larutan alkohol secara berkala
 - D. menyemprot menggunakan larutan fungisida dan bakterisida secara berkala
10. Pembersihan planlet dari sisa agar-agar yang menempel pada akar saat aklimatisasi bertujuan
 - A. untuk mengurangi resiko planlet terserang patogen saat aklimatisasi
 - B. untuk memudahkan pengecekan kelengkapan organ akar dari planlet saat aklimatisasi
 - C. untuk menjaga kebersihan planlet saat aklimatisasi
 - D. untuk memudahkan penanaman planlet saat aklimatisasi

----- Selamat Mengerjakan -----

VI KUNCI JAWABAN

A. Kunci Jawaban Latihan Soal Kegiatan Pembelajaran 1

1. Prosedur penanaman untuk pemudaan bahan tanam pada induk tanaman pisang, yaitu : 1) ambil bonggol anakan pisang dewasa dari tanaman induk dengan diameter antara 15-25 cm, 2) kupas pelepah batang pisang hingga mencapai pelepah yang paling dalam dan bunag pucuk tunas bagian dalam memakai pisau dan 3) tanam bonggol anakan pisang di media tanah dalam polibag besar dengan bagian bekas pucuk tunas muncul di permukaan tanah
2. Prosedur pemeliharaan untuk pemudaan bahan tanam pada induk tanaman pisang, yaitu : 1) semprot bonggol pisang dengan fungisida dan bakterisida sebanyak 2 kali seminggu 2) berikan pemupukan dengan menggunakan pupuk Urea dan 3) buat bonggol indukan baru jika bonggol pisang telah busuk atau sekitar 2 bulan setelah tanam
3. Pengelompokan komponen media kultur jaringan dapat dikelompokkan menjadi : unsur hara makro dan mikro, vitamin dan bahan organik lain, gula, bahan suplemen alami, ZPT, bahan pemadat media dan akuades
4. Media dasar Murhasige dan Skoog digunakan untuk hampir semua jenis kultur dan media dasar Vacin dan Went digunakan untuk kultur jaringan anggrek
5. Kebutuhan media dan larutan stok ini ditentukan oleh faktor : jumlah dan jenis bibit yang akan diproduksi, jenis media yang dipilih, metoda kultur, jaringan yang dipilih, frekuensi penggandaan propagul dan cara pengakaran kultur
6. Tahapan pembuatan media kultur meliputi : penyiapan peralatan dan bahan media kultur, pencampuran bahan media kultur, pengaturan pH media kultur, pemasakan bahan media kultur dan sterilisasi bahan media kultur

B. Kunci Jawaban Latihan Soal Kegiatan Pembelajaran 2

1. Eksplan adalah bagian kecil jaringan atau organ yang diambil atau dipisahkan dari tanaman induknya sebagai bahan tanam *in vitro* kemudian dikulturkan secara *in vitro* dalam kondisi aseptis. Persyarata eksplan : berasal dari tanaman induk yang sehat, tumbuh baik atau normal dan tentunya memiliki sifat-sifat unggul serta berasal dari tanaman induk yang memiliki nilai ekonomis tinggi
2. Teknik sterilisasi eksplan dilakukan dengan 2 cara yaitu sterilisasi secara fisik tidak dapat diterapkan pada semua jenis eksplan dan sterilisasi secara kimia dapat diterapkan pada semua eksplan dengan memperhatikan konsentrasi bahan kimianya dan lamanya perendaman
3. Inokulasi eksplan adalah kegiatan penanaman bahan tanam (eksplan) ke dalam media inisiasi baik berupa media padat/cair dalam botol kultur di Laminar Air Flow Cabinet dengan kondisi aseptik. Teknik inokulasi eksplan dimulai dengan memotong eksplan secara aseptis menggunakan pinset dan skalpel, menanam eksplan dalam botol kultur secara aseptis dan memberi identitas hasil inokulasi eksplan
4. Sub kultur harus dilakukan terhadap inokulum disebabkan oleh beberapa hal antara lain : tumbuhnya eksplan cukup cepat dan telah memenuhi seluruh botol kultur, media tumbuh telah mengering yang ditandai dengan berkurangnya volume agar-agar atau media cairnya sudah habis, eksplan perlu diperbanyak lebih lanjut untuk tujuan tahapan perbanyakan selanjutnya, dan eksplan memerlukan media yang susunannya baru agar dapat mengalami diferensiasi lebih lanjut
5. Tahap penggandaan inokulum bertujuan untuk menggandakan bahan eksplan hasil inokulasi yang hidup dengan cara diperbanyak untuk penumbuhan tunas atau embrio. Tunas-tunas lalu dilakukan sub kultur regenerasi inokulum dengan dipindahkan ke media sitokinin dengan konsentrasi sangat rendah atau tanpa sitokinin. Tahap induksi

perakaran tunas biasanya digunakan zat pengatur tumbuh auksin berupa kombinasi NAA dan IBA (Indole Butiric Acid)

6. Suhu yang sesuai untuk pertumbuhan kultur adalah antara 24–28° C dengan kelembaban ruang inkubasi dijaga pada kisaran 60-80 %. Intensitas cahayanya yaitu : tahap inisiasi memerlukan intensitas cahaya antara 0–1000 lux, tahap multiplikasi 1000–10.000 lux, tahap pengakaran 10.000–30.000 lux dan tahap aklimatisasi 30.000 lux

C. Kunci Jawaban Latihan Soal Kegiatan Pembelajaran 3

1. Aklimatisasi plantlet adalah proses adaptasi plantlet terhadap lingkungan luar dari bersifat heterotropik menjadi autotropik sehingga siap untuk dapat ditanam di lapangan. Teknik penyiapan plantlet yang akan diaklimatisasi meliputi cara-cara pengeluaran plantlet yang benar dari botol kultur, pembersihan plantlet dari sisa agar-agar, dan seleksi terhadap plantlet yang akan ditanam agar pertumbuhannya seragam
2. Macam-macam media tanam aklimatisasi : arang sekam, potongan pakis, kompos dicampur pasir atau sesuai komoditasnya. Teknik penanaman plantlet pada media meliputi : penyiapan wadah berupa bak semai, penyiapan, pencucian, dan sterilisasi media tanam, pengisian bak semai dengan media tanam, penanaman plantlet pada media tanam, penutupan bak semai dengan plastik transparan, pemberian label bak semai, dan diletakkan di rumah kaca
3. Pengaturan lingkungan pertumbuhan bibit prinsipnya dilakukan dengan cara mengurangi secara bertahap kelembaban lingkungannya dan meningkatkan secara bertahap intensitas cahayanya dengan cara pembukaan sungkup secara bertahap
4. Pemeliharaan bibit tanaman yang diaklimatisasi dalam bak semai dilakukan dengan cara melakukan penyiraman, pemupukan, pengendalian hama penyakit dan pemindahan plantlet pada pot individu (transplanting)

VII PENUTUP

Demikian modul mata diklat Kultur Jaringan Tanaman Pangan dan Hortikultura ini dibuat untuk dipergunakan sebagai bahan materi penyelenggaraan Diklat Teknis Program Sertifikasi Pendidik dan Sertifikasi Keahlian Bagi Guru SMK (Keahlian Ganda) Paket Keahlian Agribisnis Perbenihan dan Kultur Jaringan Tanaman. Peserta diklat sebagai Guru Paket Keahlian Agribisnis Perbenihan dan Kultur Jaringan Tanaman setelah memahami pengetahuan dan keterampilan yang ada dalam modul ini diharapkan dapat menerapkannya sebagai bahan pembelajaran di sekolah dan pembelajaran dalam menghadapi Sertifikasi Pendidik dan Sertifikasi Keahlian. Peserta diklat dapat menerapkan materi modul ini dengan memanfaatkan sumber daya di sekolah masing-masing.

DAFTAR PUSTAKA

- Bhojwani and Dantu, 2013. Plant Tissue Culture : An Introductory Text. Springer. India
- Gamborg, O.L. and Philips, G.C. 1995. Plant Cell, Tissue and Organ Culture : Fundamental Methods. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. New York
- George, E.F. and Sherrington. 2000. Plant Propagation by Tissue Culture. 2nd Ed. Exegetic Limited. England
- Gunawan, L.V. 1992. Teknik Kultur Jaringan. Pusat Antar Universitas Bioteknologi. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Pierik. R.L.M. 1997. In Vitro Culture of Higher Plants. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht. Netherlands
- Santoso, U. dan Nursandi, F. 2004. Kultur Jaringan Tanaman. Universitas Muhammadiyah Malang Press. Malang.
- Sukmadjaja. D. dan Mariska, I. 2003. Perbanyak Bibit Abaka Melalui Kultur Jaringan. Balai Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian. Bogor.
- Sulistiani, E. Dan Ahmad Yani, S. 2012. Produksi Bibit Tanaman Menggunakan Teknik Kultur Jaringan. SEAMEO BIOTROP. Bogor
- Smith, R, 2013. Plant Tissue Culture Techniques and Experiments. Academic Press. London
- Tim Biotrain. 2001. Produksi Bibit Unggul Tanaman Melalui Kultur Jaringan. Pusat Antar Universitas Bioteknologi. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Trigano, R.N. and Gray, D.J.G. 2000. Plant Tissue Culture Concepts and Laboratory Exercises. 2nd Edition. CRC Press. Boca Raton. Florida
- Yusnita. 2003. Kultur Jaringan Cara Memperbanyak Tanaman Secara Efisien. Agromedia Pustaka. Jakarta
- Zulkarnain. 2012. Kultur Jaringan Tanaman : Solusi Perbanyak Tanaman Budidaya. Bumi Aksara. Jakarta

GLOSARIUM

- Aklimatisasi : proses adaptasi planlet terhadap lingkungan luar dari bersifat heterotropik menjadi autotropik sehingga siap untuk dapat ditanam di lapangan
- Aseptik : menumbuhkan jaringan tanaman pada kondisi bebas kontaminasi mikroba secara in vitro
- Auksin : salah satu fitohormon yang berperan mengendalikan pembentangan sel sehingga berpengaruh terhadap pertumbuhan tumbuhan
- Browning : gejala perubahan warna eksplan menjadi coklat yang terjadi sebagai akibat terbentuknya senyawa fenolik
- Dediferensiasi : kemampuan sel-sel masak (mature) kembali ke kondisi meristematik dan berkembang dari satu titik pertumbuhan baru yang diikuti oleh dediferensiasi yang mampu melakukan reorganisasi menjadi organ baru
- Diferensiasi : suatu perubahan sel dimana sel yang telah mencapai volume pertumbuhan akhir menjadi terspesialisasi sesuai fungsinya menghasilkan jenis jaringan, organ atau organisme baru
- Disinfestasi : proses menghilangkan kontaminan permukaan eksplan yang kemungkinan dapat tumbuh di lingkungan kultur jaringan dan berakibat mematikan eksplan
- Eksplan : bagian dari tanaman yang digunakan sebagai bahan induksi/inisiasi pada kultur jaringan tanaman
- Embriogenesis somatik : proses terbentuknya embrio bukan berasal dari zigot melalui regenerasi dari eksplan yang ditanam pada media tumbuh yang sesuai
- Embrio somatik : embrio yang terbentuk bukan berasal dari zigot, tetapi dari sel tubuh tanaman
- Heterotrofik : teknik kultur in vitro yang hanya menggunakan energi eksternal berupa gula dari medium

- Inokulasi/induksi : tahapan awal dari kultur jaringan berupa penanaman eksplan yang sudah melalui proses sterilisasi ke dalam media kultur jaringan
- Intensitas cahaya : besaran yang menentukan jumlah foton atau energi yang dipancarkan yang ditunjukkan dengan satuan lux atau $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$
- In vitro : kultur organ atau sel pada medium pertumbuhan yang mengandung nutrisi, di dalam suatu wadah terbuat dari kaca/gelas dalam kondisi lingkungan yang terkontrol
- Juvenile : fase perkembangan tumbuhan yang hanya membentuk organ-organ vegetatif
- Kalus : sekumpulan sel amorphous yang terbentuk dari sel-sel yang membelah secara terus menerus secara in vitro
- Kompetensi : kemampuan suatu jaringan maupun organ untuk ditumbuhkan kembangkan dalam kultur in vitro menjadi tanaman yang lengkap
- Kontaminasi : adanya mikroorganisme biasanya jamur dan bakteri yang hidup dalam media kultur
- Larutan stok : larutan konsentrat dari media kultur yang dipekatkan beberapa kali lipat
- Lingkungan fisik : faktor-faktor lingkungan di dalam ruang kultur yang mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan eksplan, meliputi cahaya, kelembaban relatif dan temperatur
- Makronutrien : nutrisi anorganik yang dibutuhkan tumbuhan dalam jumlah relatif besar dan pada umumnya berfungsi sebagai penyusun sel
- Meristematik : sifat sel/jaringan yang berpotensi melakukan pembelahan sel terus menerus
- Mikronutrien : nutrisi anorganik yang dibutuhkan tumbuhan dalam jumlah relatif kecil yg umumnya berfungsi sebagai aktivator enzim
- Organogenesis : proses terbentuknya organ-organ seperti pucuk dan akar melalui regenerasi dari eksplan yang ditanam pada media tumbuh yang sesuai

- Planlet : tanaman mini lengkap hasil regenerasi/perbanyak kultur jaringan yang memiliki batang, daun, dan akar
- Propagul/inokulum : bahan perbanyak in vitro yang diambil pada setiap sub-kultur
- Proliferasi : pertumbuhan yang luar biasa dari sel, tunas, atau embrio hasil perbanyak in vitro
- Regenerasi : tahap perkembangan menjadi tumbuhan utuh melalui pembentukan tunas dan akar
- Sterilisasi : proses membebaskan alat/bahan/eksplan/lingkungan agar terbebas dari mikroorganisme kontaminan
- Sub kultur : proses pemindahan atau transfer inokulum tanaman hasil kultur jaringan ke media yang baru untuk mempertahankan ketersediaan nutrisi
- Totipotensi sel : kemampuan setiap individu sel hidup dari bagian mana saja diambil untuk dapat tumbuh menjadi suatu makhluk individu yang sempurna
- Tunas adventif : tunas yang terbentuk pada tempat yang bukan jaringan asalnya yang biasa seperti tunas yang terbentuk dari kalus, hipokotil, kotiledon dan akar
- Tunas aksilar/lateral : tunas yang terbentuk pada bagian ketiak daun yang pertumbuhannya akan membentuk cabang atau bunga
- Tunas apikal : tunas yang terbentuk pada ujung batang/cabang yang pertumbuhannya akan membentuk cabang atau bunga