

# KULTUR JARINGAN TANAMAN



Susilo, M.Si



BUKU AJAR

2025

# KULTUR JARINGAN TANAMAN





# KULTUR JARINGAN TANAMAN

Oleh  
Susilo, M.Si

2025



UHAMKA PRESS



# KULTUR JARINGAN TANAMAN

**Penulis:**

Susilo

**Editor:**

Susilo

**Design Cover:**

Arimbi

Ukuran: 17,6 cm x 25.01 cm

Tebal: vii + 117 halaman

Penerbit: UHAMKA PRESS

Redaksi:

Jl. Gandaria IV, Kramat Pela, Kebayoran Baru, Jakarta Selatan

Email: press@uhamka.ac.id

Anggota IKAPI: 493/DKI/VII2014



Cetakan ke-I, November 2025

**ISBN. 978-623-7724-59-9**



Hak cipta oleh penulis dilindungi Undang-Undang Republik Indonesia Nomor 19 Tahun 2022 tentang Hak Cipta, Pasal 72. Dilarang memperbanyak karya tulis dalam bentuk dan dengan cara apapun tanpa ijin tertulis dari penerbit.



## Kata Pengantar

Puji syukur ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa, karena atas rahmat dan karunia-Nya, buku ajar ini yang berjudul "*Kultur Jaringan Tanaman*" dapat diselesaikan dengan baik. Buku ini disusun untuk memenuhi kebutuhan bahan ajar bagi mahasiswa program sarjana (S1) yang menempuh mata kuliah Kultur Jaringan Tanaman pada program studi Biologi, Pendidikan Biologi, Agronomi, dan Bioteknologi.

Kultur jaringan merupakan salah satu bidang penting dalam bioteknologi modern yang berperan besar dalam perbanyaktan tanaman unggul, pelestarian plasma nutfah, produksi metabolit sekunder, serta pengembangan industri berbasis sumber daya hayati. Oleh karena itu, pemahaman tentang prinsip-prinsip dasar, komponen media, zat pengatur tumbuh, hingga aplikasi lanjut seperti embriogenesis somatik, variasi somaklonal, dan teknologi transgenik menjadi kompetensi yang wajib dikuasai oleh mahasiswa biologi dan pertanian masa kini.

Buku ini disusun secara sistematis berdasarkan pendekatan Outcome-Based Education (OBE), dimulai dari konsep dasar dan prinsip totipotensi sel, jenis eksplan, komposisi media kultur, hingga penerapan teknologi kultur jaringan dalam berbagai bidang seperti pertanian, kehutanan, farmasi, dan bioindustri. Setiap bab disertai dengan tujuan pembelajaran, uraian teori yang ringkas namun mendalam, studi kasus nyata, serta latihan esai analitis yang dirancang untuk mengasah kemampuan berpikir kritis dan aplikatif mahasiswa.

Selain itu, buku ini juga memuat glosarium istilah, daftar singkatan, serta ringkasan hasil-hasil penelitian terbaru, sehingga dapat menjadi jembatan antara pembelajaran di kelas dan perkembangan riset kultur jaringan tanaman di tingkat global maupun nasional.

Penulis menyadari bahwa penyusunan buku ini masih memiliki kekurangan dan keterbatasan. Oleh karena itu, kritik dan saran dari dosen, mahasiswa, serta pembaca sangat diharapkan untuk penyempurnaan edisi berikutnya. Semoga buku ini dapat menjadi sumber belajar yang inspiratif, aplikatif, dan relevan dalam membekali mahasiswa menghadapi tantangan ilmu pengetahuan dan teknologi di bidang bioteknologi tanaman.

Akhir kata, penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah memberikan dukungan, masukan, dan semangat dalam penyusunan buku ini. Semoga karya ini bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan dan pendidikan di Indonesia.

Jakarta, November 2025  
Penulis



## DAFTAR ISI

Kata Pengantar .....	iv
Daftar Isi .....	v
<b>BAB I. RUANG LINGKUP DAN SEJARAH KULTUR JARINGAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 PENGERTIAN DAN RUANG LINGKUP .....	2
1.2 PERAN KULTUR JARINGAN DALAM BIOTEKNOLOGI MODERN .....	2
1.3 SEJARAH DAN PERKEMBANGAN KULTUR JARINGAN .....	3
1.4 MANFAAT DAN ARAH PENGEMBANGAN KULTUR JARINGAN .....	6
1.5 LATIHAN SOAL .....	6
<b>BAB II. PRINSIP DAN JENIS KULTUR JARINGAN TANAMAN .....</b>	<b>10</b>
2.1. PRINSIP DASAR KULTUR JARINGAN TANAMAN .....	11
2.2. KONSEP TOTIPOTENSI .....	12
2.3. FAKTOR KEBERHASILAN TOTIPOTENSI .....	13
2.4. JENIS DAN KARAKTERISTIK EKSPLAN TANAMAN .....	15
1. <i>Pengertian Eksplan</i> .....	15
2. <i>Sumber Eksplan</i> .....	16
3. <i>Jenis-Jenis Eksplan</i> .....	16
4. <i>Faktor yang Mempengaruhi Respons Eksplan</i> .....	17
5. <i>Kriteria Eksplan yang Baik</i> .....	17
6. <i>Hubungan Eksplan dengan Totipotensi</i> .....	17
2.5. DASAR-DASAR KULTUR SEL DAN JARINGAN TUMBUHAN.....	17
2.6. KESIMPULAN .....	18
2.7. LATIHAN SOAL .....	19
<b>BAB III. LABORATORIUM KULTUR JARINGAN .....</b>	<b>23</b>
1.1. FUNGSI DAN PERAN LABORATORIUM KULTUR JARINGAN .....	24
1.2. TATA RUANG DAN ZONASI LABORATORIUM .....	24
1. <i>Ruang Persiapan</i> .....	24
2. <i>Ruang Inokulasi (Transfer Room)</i> .....	25
1.3. PERALATAN UTAMA LABORATORIUM .....	26
1.4. PROSEDUR UMUM DAN STANDAR OPERASIONAL (SOP) .....	27
1.5. ETIKA DAN KESELAMATAN KERJA LABORATORIUM .....	27
1.6. LATIHAN SOAL .....	28
<b>BAB IV. MEDIA KULTUR JARINGAN .....</b>	<b>31</b>
4.1. PENDAHULUAN .....	32
4.2. KOMPOSISI MEDIA DASAR .....	32
1. <i>Makronutrien</i> .....	32
2. <i>Mikronutrien</i> .....	32
3. <i>Sumber Karbon Dan Energi</i> .....	33
4. <i>Vitamin</i> .....	33



5.	<i>Asam Amino</i> .....	34
6.	<i>Suplemen Organik Yang Tidak Ditentukan</i> .....	34
7.	<i>Agen Pemadatan</i> .....	34
4.3.	MEDIA MURASHIGE DAN SKOOG (MS).....	36
4.4.	ZAT PENGATUR TUMBUH (ZPT).....	36
1.	<i>Auksin</i> .....	36
2.	<i>Sitokinin</i> .....	38
3.	<i>Giberelin</i> .....	39
4.	<i>Inhibitor Pertumbuhan</i> .....	40
4.5.	RASIO HORMON TERHADAP ARAH PERTUMBUHAN.....	40
4.6.	MEDIA KULTUR JARINGAN KOMERSIAL .....	41
4.7.	PEMILIHAN MEDIA.....	42
4.8.	LATIHAN SOAL .....	44
<b>BAB V. TEKNIK STERILISASI DAN PERSIAPAN EKSPLAN</b> .....		<b>47</b>
5.1.	PENDAHULUAN .....	48
5.2.	TUJUAN DAN PRINSIP STERILISASI .....	48
1.	<i>Tujuan Sterilisasi</i> .....	48
2.	<i>Prinsip Dasar Sterilisasi</i> .....	49
3.	<i>Metode sterilisasi</i> .....	49
5.3.	JENIS-JENIS KONTAMINAN DALAM KULTUR JARINGAN .....	49
1.	<i>Bakteri</i> .....	50
2.	<i>Jamur (Fungi)</i> .....	50
3.	<i>Ragi (Yeast)</i> .....	50
4.	<i>Endofit</i> .....	50
5.	<i>Pentingnya Identifikasi Kontaminan</i> .....	51
5.4.	TEKNIK STERILISASI ALAT DAN MEDIA.....	51
5.5.	PROSEDUR STERILISASI EKSPLAN.....	52
5.6.	FAKTOR KEBERHASILAN STERILISASI.....	53
5.7.	KESALAHAN UMUM DAN PEMECAHAN MASALAH.....	54
5.8.	LATIHAN SOAL .....	55
<b>BAB VI. TEKNIK SUBKULTUR DAN AKLIMATISASI</b> .....		<b>58</b>
6.1.	PENGERTIAN DAN TUJUAN SUBKULTUR .....	59
6.2.	WAKTU DAN FREKUENSI SUBKULTUR.....	60
6.3.	PROSEDUR SUBKULTUR .....	61
6.4.	PENGERTIAN DAN TUJUAN AKLIMATISASI .....	63
6.5.	TAHAPAN DAN TEKNIK AKLIMATISASI.....	64
6.6.	FAKTOR KEBERHASILAN AKLIMATISASI .....	66
6.7.	SOAL LATIHAN .....	67
<b>BAB VII. EMBRIOGENESIS, ORGANOGENESIS SOMATIK, DAN VARIASI SOMAKLONAL</b> 70		
7.1.	PENDAHULUAN .....	71
7.2.	EMBRYOGENESIS SOMATIK .....	71



1.	<i>Pengertian Embriogenesis Somatik</i> .....	71
2.	<i>Tahapan dan Induksi Embriogenesis</i> .....	72
7.3.	ORGANOGENESIS SOMATIK .....	73
7.4.	PERBANDINGAN EMBRIOGENESIS DENGAN ORGANOGENESIS.....	73
7.5.	APLIKASI EMBRIOGENESIS DAN ORGANOGENESIS .....	74
7.6.	VARIASI SOMAKLONAL .....	75
1.	<i>Pengertian Variasi somaklonal</i> .....	75
2.	<i>Penyebab dan Karakteristik</i> .....	76
3.	<i>Manfaat dan Dampak</i> .....	76
4.	<i>Contoh Kasus</i> .....	76
5.	<i>Deteksi dan Seleksi Varian Somaklonal</i> .....	77
7.7.	TRANSGENESIS .....	78
1.	<i>Pengertian dan Pendekatan Transgenik</i> .....	78
2.	<i>Mekanisme dan Gen Kunci yang Terlibat</i> .....	78
3.	<i>Pendekatan Molekuler Lain dalam Pemuliaan Modern</i> .....	79
4.	<i>Keterkaitan dengan Kultur Jaringan</i> .....	79
5.	<i>Contoh Tanaman Transgenik Toleran Cekaman Abiotik</i> .....	80
7.8.	KESIMPULAN .....	81
7.9.	SOAL LATIHAN .....	82
<b>BAB VIII. KULTUR JARINGAN DAN PRODUKSI METABOLIT SEKUNDER .....</b>		<b>84</b>
8.1.	PENDAHULUAN .....	85
8.2.	KONSEP METABOLIT SEKUNDER .....	85
8.3.	JALUR BIOSINTETIK METABOLIT SEKUNDER .....	86
1.	<i>Jalur Shikimat (Shikimic Acid Pathway)</i> .....	87
2.	<i>Jalur Mevalonat (MVA) dan Jalur Metil Eritritol Fosfat (MEP)</i> .....	87
3.	<i>Jalur Asam Amino-Derived (Alkaloid Pathway)</i> .....	88
8.4.	KETERKAITAN DENGAN KULTUR JARINGAN .....	88
8.5.	TEKNIK KULTUR UNTUK PRODUKSI METABOLIT SEKUNDER.....	89
8.6.	KULTUR JARINGAN SEBAGAI SISTEM PRODUKSI .....	89
8.7.	FAKTOR YANG MEMPENGARUHI PRODUKSI METABOLIT.....	90
8.8.	STUDI KASUS .....	90
8.9.	TANTANGAN DAN PROSPEK.....	90
8.10.	KESIMPULAN.....	91
8.11.	SOAL LATIHAN.....	91
<b>BAB IX. PERAN KULTUR JARINGAN TANAMAN .....</b>		<b>93</b>
9.1.	PENDAHULUAN .....	94
9.2.	KULTUR JARINGAN DALAM PERTANIAN .....	94
9.3.	KULTUR JARINGAN DALAM KEHUTANAN .....	96
9.4.	KULTUR JARINGAN DALAM BIDANG FARMASI .....	96
9.5.	KULTUR JARINGAN UNTUK KONSERVASI DAN KETAHANAN PANGAN .....	98
9.6.	KONSERVASI PLASMA NUTFAH.....	99
9.7.	STUDI KASUS .....	100



9.8.	ARAH PENGEMBANGAN KULTUR JARINGAN MASA DEPAN.....	106
9.9.	SOAL LATIHAN .....	106
<b>Daftar Istilah.....</b>		<b>108</b>
<b>Daftar Singkatan.....</b>		<b>110</b>
<b>Daftar Pustaka .....</b>		<b>114</b>



## BAB I. RUANG LINGKUP DAN SEJARAH KULTUR JARINGAN

<b>Sub CPMK</b>	1. Mahasiswa mampu menjelaskan prinsip dasar, sejarah, dan ruang lingkup kultur jaringan. 2. Mahasiswa mampu menguraikan konsep totipotensi dan jenis-jenis eksplan tanaman.
<b>Tujuan</b>	Mahasiswa memahami dasar ilmiah, sejarah dan perkembangan ilmu kultur jaringan tanaman serta perannya dalam bioteknologi pertanian.



## 1.1 Pengertian dan Ruang Lingkup

**Kultur jaringan tanaman** adalah teknik menumbuhkan bagian tanaman seperti sel, jaringan, atau organ (misalnya tunas, daun, atau akar) di luar tubuh tanaman aslinya pada media buatan yang mengandung nutrisi dalam kondisi aseptik dan steril (bebas mikroba).

Kultur jaringan adalah istilah yang diberikan untuk metode *in vitro* untuk membudidayakan sel, organ, dan jaringan (baik hewan maupun tumbuhan) dengan larutan nutrisi dalam kondisi laboratorium yang ketat. Wadah kaca biasanya digunakan untuk metode ini. Salah satu ciri khas teknik ini adalah sel-sel hidup dapat dipertahankan untuk beberapa waktu di luar tubuh organisme.

**Tujuan utamanya** adalah untuk mendapatkan tanaman baru yang identik dengan induknya, atau untuk mempelajari bagaimana sel dan jaringan tumbuh serta berfungsi di bawah kondisi yang terkontrol. Secara sederhana, teknik ini meniru cara tanaman tumbuh di alam, tetapi dalam wadah tertutup seperti tabung kultur atau botol kaca. Semua faktor pertumbuhan seperti cahaya, suhu, nutrisi, dan hormon tanaman (zat pengatur tumbuh) diatur secara hati-hati agar jaringan dapat berkembang menjadi tanaman lengkap. Berkat kultur jaringan tanaman, kita dapat menumbuhkan tanaman baru di luar tubuh inang aslinya. Media buatan biasanya diambil dari ujung tunas dan akar, serta bagian-bagian kecil biji, kalus, bakal biji, sel, serbuk sari, atau embrio.

## 1.2 Peran Kultur Jaringan dalam Bioteknologi Modern

Kultur jaringan tanaman merupakan salah satu cabang penting dalam bioteknologi modern yang memberikan kontribusi besar terhadap kemajuan pertanian, kehutanan, farmasi, dan konservasi sumber daya hayati. Bioteknologi modern memanfaatkan prinsip-prinsip biologi sel, genetika, dan biokimia untuk menghasilkan produk, proses, dan organisme yang bermanfaat bagi manusia. Dalam konteks tersebut, kultur jaringan menjadi teknologi dasar yang mendukung berbagai aplikasi lanjutan, mulai dari perbanyaktan tanaman, produksi senyawa bioaktif, hingga rekayasa genetik.

Kultur jaringan berperan sebagai **platform biologis** untuk mempelajari dan memanipulasi pertumbuhan serta diferensiasi sel tanaman dalam kondisi terkendali. Teknologi ini menyediakan sistem eksperimental yang memungkinkan peneliti memahami mekanisme fisiologis dan biokimia tanaman secara lebih spesifik, termasuk respon terhadap hormon, stres lingkungan, dan aktivitas genetik. Melalui pendekatan ini, berbagai inovasi bioteknologi dapat dilakukan dengan efisien dan aman tanpa harus bergantung sepenuhnya pada proses alami di lapangan.

Salah satu kontribusi utama kultur jaringan dalam bioteknologi adalah kemampuannya dalam **memperbanyak tanaman unggul secara massal** dan **mempertahankan kemurnian genetik**. Teknologi ini memungkinkan reproduksi klonal tanaman dari satu sumber genetik yang berkualitas tinggi, sehingga hasilnya seragam dan stabil. Selain itu, teknik **kultur meristem** dapat menghasilkan tanaman bebas patogen, terutama virus, yang sangat berguna untuk komoditas penting seperti pisang, kentang, dan tebu.



Kultur jaringan juga berperan dalam **produksi metabolit sekunder** bernilai ekonomi tinggi, seperti alkaloid, flavonoid, minyak atsiri, dan senyawa antioksidan. Melalui sistem **kultur sel suspensi** atau **kultur kalus**, senyawa-senyawa tersebut dapat diproduksi dalam jumlah besar tanpa harus menanam tanaman secara utuh. Pendekatan ini mendukung industri farmasi dan kosmetik berbasis bahan alam yang berkelanjutan karena tidak merusak populasi tanaman di habitat aslinya.

Dalam bidang **rekayasa genetik tanaman**, kultur jaringan merupakan tahapan yang tidak dapat dipisahkan. Proses transformasi genetik, baik menggunakan *Agrobacterium tumefaciens* maupun metode biolistik, memerlukan kemampuan jaringan tanaman untuk beregenerasi menjadi individu baru setelah menerima gen asing. Dengan demikian, keberhasilan rekayasa genetik sangat bergantung pada efektivitas sistem kultur jaringan yang digunakan.

Selain itu, kultur jaringan berperan penting dalam **konservasi plasma nutfah dan pelestarian spesies langka**. Melalui teknik **kriopreservasi**, jaringan tanaman disimpan pada suhu sangat rendah (-196 °C) dalam nitrogen cair untuk jangka waktu yang panjang tanpa kehilangan viabilitas. Metode ini membantu menjaga keberlanjutan keanekaragaman genetik tanaman, terutama spesies endemik dan tanaman obat yang terancam punah.

Kultur jaringan juga menjadi sarana penting dalam **pemuliaan tanaman berbasis bioteknologi**. Variasi somaklonal yang muncul selama proses kultur dapat dimanfaatkan untuk menghasilkan genotipe baru dengan sifat unggul, seperti toleransi terhadap kekeringan, salinitas, atau penyakit. Melalui pendekatan ini, pengembangan varietas unggul dapat dilakukan dengan lebih cepat dibandingkan metode konvensional.

Secara keseluruhan, peran kultur jaringan dalam bioteknologi modern dapat diringkas ke dalam lima bidang utama, yaitu:

1. Perbanyakan tanaman unggul secara massal dan seragam.
2. Produksi tanaman bebas patogen melalui kultur meristem.
3. Produksi metabolit sekunder bernilai tinggi untuk industri farmasi dan kosmetik.
4. Fasilitasi dalam rekayasa genetik dan transformasi gen.
5. Konservasi plasma nutfah dan pengembangan varietas tahan stres lingkungan.

Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa kultur jaringan tanaman merupakan **fondasi utama bagi berbagai teknologi bioteknologi modern**. Keberhasilannya dalam menyediakan sistem pertumbuhan tanaman yang efisien, terkontrol, dan dapat dimanipulasi menjadikan teknologi ini tidak hanya penting bagi riset ilmiah, tetapi juga sebagai pendorong utama inovasi pertanian berkelanjutan dan bioindustri masa depan.

### 1.3 Sejarah dan Perkembangan Kultur Jaringan

Ilmu kultur jaringan berakar dari penemuan dan pemahaman tentang sel sebagai unit dasar kehidupan. Pada awal abad ke-19, konsep ini masih sangat baru dan bahkan terdengar mustahil. Tahun 1832, Theodor Schwann menyatakan gagasan berani bahwa sel dapat tumbuh di luar tubuh organisme asalkan diberikan kondisi lingkungan yang steril dan terkendali. Tiga tahun kemudian, Wilhelm Roux (1835) membuktikan



kemungkinan tersebut dengan menumbuhkan sel embrio ayam dalam larutan garam sederhana, percobaan pertama yang menunjukkan bahwa sel dapat bertahan hidup di luar jaringan asalnya.

Empat tahun sesudahnya, Reichinger (1839) menambahkan temuan penting bahwa potongan jaringan harus memiliki ketebalan minimal 1,5 mm agar bisa tumbuh dengan baik, karena jaringan yang terlalu tipis tidak mampu mempertahankan fungsi vitalnya. Namun setelah itu, selama hampir 50 tahun, penelitian tentang kultur jaringan sempat terhenti dan kurang mendapat perhatian.

Kebangkitan kembali muncul pada tahun 1885, ketika peneliti berhasil mengamati pertumbuhan sel leukosit salamander dalam kondisi buatan. Temuan ini menjadi jembatan menuju era percobaan modern. Kemudian pada 1907, Ross Granville Harrison, seorang ahli zoologi dari Amerika Serikat, berhasil menumbuhkan sel saraf katak dalam getah bening yang dipadatkan. Percobaannya dianggap sebagai keberhasilan pertama kultur jaringan hewan dan menjadikannya dikenal sebagai "Bapak Kultur Jaringan".

Pada waktu yang hampir bersamaan, perkembangan serupa terjadi pada dunia tumbuhan. Tahun 1838, Matthias Schleiden dan Theodor Schwann (yang juga dikenal karena teori selnya) mengemukakan bahwa setiap sel hidup bersifat otonom dan memiliki potensi untuk membentuk organisme utuh bila diberi lingkungan yang sesuai. Ide inilah yang kemudian menjadi dasar bagi konsep totipotensi sel tumbuhan.

Teori itu dibuktikan oleh Gottlieb Haberlandt pada tahun 1902, seorang ahli fisiologi tanaman asal Jerman yang mencoba menumbuhkan sel palisade tunggal dari daun menggunakan larutan garam Knop yang diperkaya sukrosa. Meskipun sel-sel tersebut tidak berhasil membelah, eksperimennya menunjukkan bahwa sel tanaman mampu tetap hidup dalam kondisi *in vitro* selama beberapa minggu. Karena kontribusinya, Haberlandt dikenal sebagai Bapak Kultur Jaringan Tanaman.

Selanjutnya, penelitian berkembang pesat. Peneliti lain mulai menemukan hormon tumbuh, vitamin, dan teknik regenerasi yang membuat kultur jaringan semakin efisien. Di tahun-tahun berikutnya muncul berbagai pencapaian penting: penemuan auksin (1926), penggunaan vitamin B oleh White (1934), penemuan kinetin (1955), hingga pengembangan media Murashige dan Skoog (1962) yang hingga kini masih menjadi standar laboratorium.

Pada dekade 1970–1980-an, ilmu ini memasuki fase bioteknologi modern: fusi protoplas (1970), transformasi genetik menggunakan *Agrobacterium* (1977–1984), hingga pengembangan metode biolistik (1987). Akhirnya, pada tahun 2005, proyek pemetaan genom padi menandai era baru, di mana kultur jaringan berperan sebagai platform utama untuk rekayasa genetik, pemuliaan tanaman, dan produksi metabolit sekunder bernilai tinggi.

Kini, kultur jaringan tanaman tidak lagi sekadar teknik laboratorium, tetapi menjadi fondasi utama bioteknologi pertanian modern, membuka jalan bagi produksi tanaman unggul, konservasi sumber daya genetik, dan pengembangan industri berbasis metabolit alami.



Tabel 1.1. Ringkasan Sejarah Kultur Jaringan Tanaman

Tahun	Tokoh/Peneliti	Peristiwa Penting	Kontribusi terhadap Kultur Jaringan
1832	Theodor Schwann	Mengusulkan sel dapat tumbuh di luar tubuh organisme	Awal gagasan kultur jaringan
1835	Wilhelm Roux	Menumbuhkan sel embrio ayam dalam larutan garam	Pembuktian awal kultur sel hewan
1838	Schleiden & Schwann	Teori sel: sel sebagai unit dasar kehidupan	Landasan konsep totipotensi
1839	Reichinger	Menetapkan parameter ketebalan jaringan minimal 1,5 mm	Syarat fisik keberhasilan kultur jaringan
1885	Peneliti tak disebut	Mengamati pertumbuhan sel leukosit salamander	Kebangkitan minat penelitian kultur jaringan
1902	Gottlieb Haberlandt	Mengkultur sel palisade daun dalam larutan Knop + sukrosa	Eksperimen pertama kultur jaringan tanaman
1904	Hannig	Kultur embrio beberapa spesies silangan	Awal teknik kultur embrio
1907	Ross Granville Harrison	Menumbuhkan sel saraf katak dalam medium buatan	Bapak kultur jaringan hewan
1922	Kolte & Robbins	Kultur akar dan ujung batang	Awal perbanyakkan organ tanaman
1926	Peneliti tak disebut	Ditemukan hormon tumbuh (IAA)	Dasar pengaturan pertumbuhan
1934	White	Menambahkan vitamin B ke media akar tomat	Peningkatan nutrisi kultur jaringan
1939	Gautheret, White & Nobécourt	Membentuk kultur kalus tanpa batas	Awal konsep kultur kalus
1941	Overbeek	Menambahkan santan ke media Datura	Meningkatkan pembelahan sel
1955	Skoog & Miller	Menemukan kinetin	Penemuan sitokinin pertama
1957	Skoog & Miller	Menjelaskan rasio auksin:sitokinin	Konsep kontrol hormonal organogenesis
1962	Murashige & Skoog	Mengembangkan media MS	Media standar kultur jaringan modern
1970	Kekuasaandkk.	Fusi protoplas berhasil dilakukan	Awal teknik hibridisasi somatik
1977	Chilton dkk.	Transfer DNA Ti plasmid Agrobacterium	Dasar rekayasa genetik tanaman
1981	Larkin & Scowcroft	Memperkenalkan istilah variasi somaklonal	Penemuan variasi genetik dari kultur



1987	Klein dkk.	Mengembangkan metode biolistik	Transformasi genetik tanpa Agrobacterium
2005	IRGSP	Genom padi berhasil diurutkan	Puncak integrasi bioteknologi & kultur jaringan
2012	Jennifer Doudna & Emmanuelle Charpentier	Penemuan sistem CRISPR-Cas9	Revolusi gene editing dalam kultur jaringan tanaman

## 1.4 Manfaat dan Arah Pengembangan Kultur Jaringan

Teknologi kultur jaringan memiliki manfaat yang luas, baik dalam bidang pertanian, kehutanan, farmasi, maupun konservasi keanekaragaman hayati. Melalui teknik ini, tanaman unggul dapat diperbanyak dalam jumlah besar secara cepat dan seragam tanpa bergantung pada musim tanam. Kultur jaringan juga memungkinkan perbanyak tanaman bebas patogen melalui kultur meristem, sehingga menghasilkan bibit yang lebih sehat dan produktif. Di sektor farmasi dan industri bioaktif, teknologi ini digunakan untuk memproduksi metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, dan senyawa antioksidan dengan nilai ekonomi tinggi tanpa harus mengeksplorasi tanaman dari alam.

Dalam bidang konservasi, kultur jaringan menjadi alat penting untuk pelestarian plasma nutrimental spesies langka melalui teknik kriopreservasi atau mikropropagasi. Kemampuannya untuk memperbanyak tanaman dari jaringan yang sangat kecil menjadikan teknologi ini efisien dalam upaya penyelamatan genetik tanaman endemik. Selain itu, dalam pemuliaan tanaman modern, kultur jaringan digunakan untuk memperoleh variasi somaklonal dan memfasilitasi rekayasa genetik yang bertujuan menghasilkan varietas unggul dengan toleransi terhadap cekaman lingkungan.

Arah pengembangan teknologi kultur jaringan di masa depan semakin berorientasi pada efisiensi, otomatisasi, dan integrasi dengan bioteknologi molekuler. Penggunaan sistem bioreaktor otomatis, kultur skala mikro berbasis sensor, dan teknik transformasi genetik presisi tinggi diharapkan mampu meningkatkan produktivitas, menurunkan biaya, serta mempercepat pengembangan varietas tanaman baru. Dengan kemajuan ini, teknologi kultur jaringan tidak hanya berperan sebagai alat penelitian, tetapi juga menjadi fondasi utama dalam pertanian presisi, industri biofarmasi, dan konservasi sumber daya hayati berkelanjutan.

## 1.5 Latihan Soal

### Kisi-Kisi Konseptual

Aspek Kompetensi	Indikator HOTS	Jenis Soal	Level Kognitif (C4–C6)
Pemahaman konsep dasar	Menjelaskan definisi, ruang lingkup, dan konsep totipotensi	1, 2, 5	C4



Aspek Kompetensi	Indikator HOTS	Jenis Soal	Level Kognitif (C4-C6)
Analisis historis dan fungsional	Menganalisis peran tokoh dan faktor sejarah	2, 7, 8	C5
Aplikasi dan sintesis	Menghubungkan prinsip dengan penerapan nyata	3, 6, 9	C5-C6
Kreasi dan prediksi	Merancang solusi/innovasi	10-12	C6

#### A. Pilihan Ganda Beralasan

(Setiap soal menuntut alasan logis atau konseptual, bukan sekadar jawaban benar/salah)

1. **Kultur jaringan tanaman dianggap sebagai salah satu tonggak bioteknologi modern karena...**

- A. Menghasilkan tanaman dalam jumlah banyak tanpa biji
- B. Dapat mengubah struktur genetik tanaman secara langsung
- C. Menggunakan prinsip totipotensi sel untuk regenerasi tanaman utuh
- D. Mengandalkan teknik kimia murni dalam memperbanyak tanaman

→ Jelaskan alasan ilmiah Anda memilih jawaban tersebut.

2. **Pada awal abad ke-20, eksperimen Gottlieb Haberlandt gagal menghasilkan tanaman utuh dari sel tunggal. Namun, eksperimen itu tetap dianggap monumental karena...**

- A. Menunjukkan bahwa semua sel tumbuhan identik
- B. Menjadi dasar teori totipotensi yang terbukti kemudian hari
- C. Berhasil mengembangkan media padat kultur pertama
- D. Membuktikan pentingnya hormon tanaman dalam kultur

→ Jelaskan mengapa gagalnya eksperimen justru penting dalam kemajuan sains.

3. **Seorang peneliti menemukan protokol kultur jaringan yang memungkinkan regenerasi tanaman langka dalam jumlah besar. Secara ilmiah, temuan ini termasuk dalam ruang lingkup...**

- A. Mikrobiologi tanaman
- B. Bioteknologi reproduktif
- C. Kultur in vitro dan konservasi sumber daya genetik
- D. Bioteknologi molekuler

→ Berikan penjelasan hubungan antara kultur jaringan dan konservasi.

4. **Jika Anda membandingkan perkembangan kultur jaringan di Indonesia dan negara maju, perbedaan paling mencolok biasanya terdapat pada...**



- A. Sumber genetik tanaman
- B. Inovasi media kultur dan sistem produksi
- C. Jenis hormon tanaman yang digunakan
- D. Prinsip dasar totipotensi yang berbeda

→ Jelaskan analisis Anda.

---

### B. Soal Uraian Terbuka

- 5. Jelaskan dengan bahasa Anda sendiri bagaimana konsep **totipotensi** mengubah cara manusia memahami regenerasi tumbuhan. Sertakan satu contoh penerapannya dalam bioteknologi.
  - 6. Bandingkan **kultur jaringan secara in vitro** dengan **perbanyakan konvensional (stek/biji)** dari segi efisiensi, risiko kontaminasi, dan potensi genetik.  
→ Gunakan format tabel perbandingan singkat.
  - 7. Dalam konteks sejarah, mengapa penelitian kultur jaringan baru berkembang pesat setelah ditemukannya **zat pengatur tumbuh (ZPT)** seperti auksin dan sitokinin? Jelaskan mekanismenya secara logis.
- 

### C. Soal Studi Kasus

- 8. Seorang mahasiswa menemukan protokol kultur jaringan yang sukses untuk tanaman hias langka, tetapi setelah dua bulan, semua tanaman hasil kultur mati saat dipindahkan ke tanah.
    - Analisis kemungkinan penyebab dari sisi **biologis dan teknis**.
    - Usulkan **dua perbaikan langkah praktis** agar keberhasilan aklimatisasi meningkat.
  - 9. Lembaga penelitian sedang merancang program **konservasi tumbuhan endemik Kalimantan** menggunakan teknik kultur jaringan.
    - Identifikasi **tujuan utama** penggunaan kultur jaringan dalam konteks ini.
    - Jelaskan **dua tantangan etis atau ekologis** yang perlu dipertimbangkan.
  - 10. Dalam sejarahnya, teknologi kultur jaringan menjadi dasar bagi lahirnya berbagai bidang bioteknologi modern seperti **rekayasa genetik dan kultur protoplas**.
    - Jelaskan **hubungan logis dan ilmiah** antara ketiganya.
    - Prediksi **arah perkembangan masa depan** teknologi ini dalam 10 tahun ke depan.
- 

### D. Soal Cipta (Kreasi)

(Mengukur kemampuan mencipta dan merancang gagasan baru)

- 12. Rancanglah sebuah **infografis atau poster edukatif** sederhana yang menjelaskan perjalanan sejarah kultur jaringan dari Haberlandt hingga penerapannya saat ini di bidang pertanian.



- Tuliskan poin-poin utama dan alur kronologinya.
13. Buat **narasi singkat (150–200 kata)** seolah-olah Anda seorang ilmuwan di tahun 1902 yang baru saja menemukan potensi sel tumbuhan untuk tumbuh menjadi tanaman utuh. Ceritakan pandangan Anda tentang masa depan teknologi ini.



## BAB II. PRINSIP DAN JENIS KULTUR JARINGAN TANAMAN

<b>Sub CPMK</b>	Mahasiswa mampu menguraikan konsep dan prinsip, serta jenis-jenis kultur jaringan tanaman.
<b>Tujuan</b>	Mahasiswa memahami dasar ilmiah, prinsip totipotensi, jenis-jenis kultur, peran kultur jaringan dalam bioteknologi tanaman.



## 2.1. Prinsip Dasar Kultur Jaringan Tanaman

Kultur jaringan tanaman merupakan salah satu cabang penting dalam bioteknologi yang berlandaskan pada kemampuan sel tanaman untuk tumbuh dan berkembang menjadi individu baru apabila diberi kondisi lingkungan yang sesuai. Teknik ini dilakukan dengan menumbuhkan bagian tanaman, baik berupa sel, jaringan, maupun organ, secara *in vitro* (di luar tubuh tanaman) pada media buatan yang steril dan mengandung nutrisi lengkap.

Secara prinsip, keberhasilan kultur jaringan ditentukan oleh dua hal utama, yaitu kemampuan sel tanaman untuk bersifat totipoten dan kondisi lingkungan yang mendukung ekspresi kemampuan tersebut. Totipotensi merupakan kemampuan setiap sel hidup untuk mengembangkan diri menjadi tanaman utuh apabila diberi zat hara, hormon, dan kondisi lingkungan yang sesuai. Prinsip ini pertama kali dikemukakan oleh Gottlieb Haberlandt pada tahun 1902, yang dikenal sebagai *Bapak Kultur Jaringan Tanaman*.

Kultur jaringan dilakukan dalam kondisi aseptik, yaitu keadaan bebas dari mikroorganisme yang dapat mengganggu pertumbuhan jaringan tanaman. Oleh karena itu, semua alat, bahan, dan media harus disterilisasi terlebih dahulu, dan seluruh proses dilakukan di ruang kerja steril seperti *laminar air flow cabinet* (LAF). Sterilisasi menjadi aspek yang sangat penting, karena keberhasilan kultur jaringan sangat bergantung pada kemampuan mencegah kontaminasi.

Media kultur jaringan harus mengandung unsur-unsur esensial yang dibutuhkan oleh tanaman untuk tumbuh, meliputi **makronutrien**, **mikronutrien**, **vitamin**, **sumber karbon**, dan **zat pengatur tumbuh (ZPT)**. Media yang paling umum digunakan adalah **media Murashige dan Skoog (MS)**, yang dikembangkan pada tahun 1962 dan hingga kini menjadi standar dalam berbagai penelitian kultur jaringan.

Selain media, **komposisi hormon** juga sangat menentukan arah pertumbuhan jaringan. Auksin dan sitokinin merupakan dua jenis ZPT yang paling berperan dalam proses ini. Rasio antara keduanya akan memengaruhi hasil akhir kultur, apakah jaringan akan membentuk akar, tunas, atau kalus (massa jaringan belum berdiferensiasi). Auksin dalam konsentrasi tinggi mendorong pembentukan akar, sedangkan sitokinin dalam konsentrasi tinggi mendorong pembentukan tunas. Jika keduanya seimbang, maka akan terbentuk kalus.

Kondisi lingkungan seperti suhu, cahaya, dan pH media juga harus diatur secara tepat. Umumnya, suhu optimal untuk kultur jaringan tanaman berkisar antara  $25 \pm 2$  °C, dengan pencahayaan sekitar 1000–3000 lux dan pH media antara 5,4–5,8. Faktor-faktor tersebut memengaruhi aktivitas enzim dan ketersediaan unsur hara bagi jaringan yang sedang tumbuh.

Prinsip dasar lainnya yang penting dalam kultur jaringan adalah pengendalian genetik dan fisiologis tanaman donor. Setiap spesies tanaman memiliki respons yang berbeda terhadap kondisi kultur. Faktor genetik, umur jaringan, serta posisi jaringan yang diambil sebagai eksplan sangat memengaruhi keberhasilan kultur. Eksplan yang berasal dari jaringan muda atau bagian meristem biasanya memiliki tingkat keberhasilan yang lebih tinggi karena aktivitas pembelahan selnya masih aktif.



Melalui penerapan prinsip-prinsip dasar tersebut, kultur jaringan mampu menghasilkan tanaman baru secara cepat, seragam, dan bebas penyakit. Teknik ini menjadi dasar bagi berbagai aplikasi bioteknologi modern, seperti mikropropagasi massal, produksi tanaman bebas virus, konservasi plasma nutfah, serta penelitian genetika dan fisiologi tanaman.

## 2.2. Konsep Totipotensi

Prinsip kerja kultur jaringan berlandaskan pada kemampuan alami sel tanaman yang disebut totipotensi, yaitu kemampuan setiap sel hidup untuk tumbuh dan berkembang menjadi individu tanaman yang sempurna apabila diberi kondisi lingkungan yang sesuai. Dari konsep ini muncul dua proses penting yang menjadi dasar regenerasi tanaman, yaitu dediferensiasi dan rediferensiasi.



Gambar 2.1. Prinsip totipotensi sel tanaman.

### Dediferensiasi

Dediferensiasi merupakan proses ketika sel tanaman dewasa yang telah memiliki fungsi tertentu kembali menjadi sel muda yang bersifat meristematik, yaitu sel yang mampu membelah diri secara aktif. Dalam proses kultur jaringan, kondisi ini terjadi ketika jaringan tanaman diberi rangsangan hormonal, umumnya berupa auksin dalam konsentrasi tinggi. Sel-sel hasil dediferensiasi akan membentuk jaringan yang belum berdiferensiasi yang dikenal sebagai **kalus**.

### Rediferensiasi

Rediferensiasi adalah proses pembentukan kembali jaringan atau organ dengan fungsi tertentu dari kalus. Proses ini dipengaruhi oleh rasio antara dua hormon utama, yaitu auksin dan sitokinin. Jika konsentrasi auksin lebih tinggi daripada sitokinin, maka sel akan cenderung membentuk akar. Sebaliknya, apabila konsentrasi sitokinin lebih tinggi daripada auksin, maka sel akan membentuk tunas. Apabila konsentrasi keduanya seimbang, jaringan akan tetap berada dalam bentuk kalus.

## Konseptual Prinsip Dasar Kultur Jaringan

### 1. Prinsip Totipotensi



Setiap sel tanaman memiliki seluruh informasi genetik yang diperlukan untuk mengembangkan diri menjadi individu tanaman yang utuh apabila diberikan kondisi lingkungan yang mendukung. Prinsip ini pertama kali dikemukakan oleh Gottlieb Haberlandt pada tahun 1902 dan menjadi landasan utama bagi seluruh teknik kultur jaringan modern.

## 2. **Prinsip Kultur Aseptik**

Seluruh kegiatan kultur jaringan dilakukan dalam kondisi steril untuk mencegah kontaminasi oleh mikroorganisme. Proses sterilisasi mencakup pembersihan alat, media, dan bahan tanaman (eksplan), serta pelaksanaan kultur di ruang kerja steril, seperti *laminar air flow cabinet*. Kontaminasi yang terjadi, meskipun sedikit, dapat menyebabkan kegagalan pertumbuhan jaringan tanaman.

## 3. **Prinsip Nutrisi dan Media**

Jaringan tanaman yang dikultur tidak dapat memperoleh nutrisi dari sistem vaskular tanaman induk. Oleh karena itu, media harus mengandung unsur makro, unsur mikro, vitamin, sumber karbon seperti sukrosa, serta zat pengatur tumbuh. Nilai pH media yang ideal berkisar antara 5,4 hingga 5,8, karena pH di luar rentang tersebut dapat menghambat penyerapan unsur hara dan mengganggu aktivitas enzim.

## 4. **Prinsip Regulasi Hormon atau Zat Pengatur Tumbuh**

Perbandingan konsentrasi antara auksin dan sitokinin menentukan arah perkembangan jaringan. Konsentrasi auksin yang lebih tinggi merangsang pembentukan akar, sedangkan konsentrasi sitokinin yang lebih tinggi mendorong pembentukan tunas. Jika keduanya seimbang, akan terbentuk jaringan kalus.

## 5. **Prinsip Lingkungan Terkendali**

Keberhasilan kultur jaringan dipengaruhi oleh faktor lingkungan seperti suhu, cahaya, dan fotoperiode. Suhu yang ideal berkisar pada  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , dengan intensitas cahaya sekitar 1000 hingga 3000 lux dan fotoperiode 16 jam terang serta 8 jam gelap. Lingkungan yang stabil membantu mempertahankan aktivitas fisiologis jaringan yang dikultur.

## 6. **Prinsip Genotipe dan Jenis Eksplan**

Setiap spesies tanaman memiliki respons yang berbeda terhadap perlakuan kultur jaringan. Faktor genotipe, umur fisiologis, serta jenis jaringan yang digunakan sebagai eksplan sangat menentukan kemampuan regenerasi tanaman. Jaringan muda biasanya memiliki daya regenerasi yang lebih tinggi karena aktivitas meristematisnya lebih besar.

### 2.3. Faktor Keberhasilan Totipotensi

Meskipun semua sel tanaman pada dasarnya bersifat totipoten, tidak semua sel dapat mengekspresikan kemampuan ini dengan mudah. Keberhasilan penerapan totipotensi dalam kultur jaringan sangat bergantung pada sejumlah faktor fisiologis, genetik, dan lingkungan yang memengaruhi respons sel terhadap kondisi *in vitro*.



Beberapa faktor penting yang menentukan keberhasilan totipotensi dijelaskan sebagai berikut.

## 1. Faktor Genetik (Genotipe Tanaman)

Setiap spesies tanaman memiliki kemampuan yang berbeda dalam merespons kultur jaringan. Perbedaan ini disebabkan oleh variasi genetik yang menentukan potensi fisiologis dan metabolisme sel. Tanaman yang memiliki aktivitas meristematis tinggi dan jaringan muda umumnya menunjukkan respons lebih baik terhadap proses regenerasi *in vitro*. Sebaliknya, beberapa tanaman berkayu (seperti tanaman hutan atau buah tropis) cenderung sulit dikulturkan karena selnya telah mengalami diferensiasi yang kompleks. Sebagai contoh, *Arabidopsis thaliana* dan *Nicotiana tabacum* dikenal sangat responsif terhadap kultur jaringan, sedangkan tanaman berkayu seperti mangga (*Mangifera indica*) atau jati (*Tectona grandis*) memerlukan perlakuan hormonal dan media khusus agar dapat beregenerasi.

## 2. Jenis dan Umur Jaringan (Eksplan)

Jenis jaringan yang digunakan sebagai eksplan sangat menentukan kemampuan regenerasi. Jaringan muda, seperti pucuk meristem, daun muda, atau embrio yang belum matang, memiliki aktivitas pembelahan sel yang tinggi sehingga lebih mudah mengalami dediferensiasi dan membentuk kalus. Sebaliknya, jaringan tua yang telah mengalami lignifikasi atau memiliki dinding sel yang tebal akan sulit merespons perlakuan hormonal karena kemampuan fisiologisnya menurun. Selain jenis jaringan, **umur fisiologis tanaman induk** juga berpengaruh. Tanaman yang lebih muda atau masih dalam fase vegetatif memiliki potensi totipotensi lebih besar dibanding tanaman yang sudah memasuki fase generatif.

## 3. Komposisi Media dan Ketersediaan Nutrisi

Media kultur berfungsi menyediakan unsur hara yang dibutuhkan sel untuk tumbuh. Keberhasilan totipotensi sangat dipengaruhi oleh ketersediaan makronutrien (seperti nitrogen, fosfor, kalium, dan kalsium) serta mikronutrien (seperti besi, mangan, dan seng). Selain unsur hara, **vitamin** (misalnya tiamin, piridoksin, dan nikotinat) juga penting untuk mendukung aktivitas enzimatis selama pembelahan sel. Sumber karbon, biasanya berupa **sukrosa (2–3%)**, menjadi komponen utama media karena jaringan tanaman *in vitro* tidak mampu melakukan fotosintesis sempurna. Ketidakseimbangan nutrisi atau pH media di luar kisaran optimal (5,4–5,8) dapat menghambat pembelahan sel dan menyebabkan kalus tidak tumbuh dengan baik.

## 4. Zat Pengatur Tumbuh (Hormon Tanaman)

Keseimbangan antara dua hormon utama, yaitu **auksin** dan **sitokinin**, menjadi faktor kunci dalam menentukan arah perkembangan jaringan hasil dediferensiasi.

- Rasio **auksin tinggi dan sitokinin rendah** mendorong pembentukan akar.
- Rasio **sitokinin tinggi dan auksin rendah** mendorong pembentukan tunas.



- **Konsentrasi seimbang** antara keduanya menyebabkan terbentuknya kalus (jaringan belum berdiferensiasi).

Selain auksin dan sitokin, hormon lain seperti **giberelin** dapat meningkatkan pemanjangan tunas dan pertumbuhan jaringan, sedangkan **asam absisat (ABA)** berperan dalam mengatur dormansi dan pembentukan embrio somatik. Pemilihan jenis hormon (misalnya 2,4-D, NAA, IAA, BAP, atau kinetin) dan konsentrasi harus disesuaikan dengan jenis tanaman dan tujuan kultur.

## 5. Kondisi Lingkungan Kultur

Lingkungan tempat kultur tumbuh memiliki pengaruh langsung terhadap ekspresi totipotensi. Faktor-faktor penting yang harus dikendalikan antara lain:

- **Suhu:** Umumnya optimal pada  $25 \pm 2$  °C. Suhu yang terlalu tinggi dapat menyebabkan pencokelatan jaringan, sedangkan suhu terlalu rendah menghambat pembelahan sel.
- **Pencahayaan:** Intensitas cahaya sekitar 1000–3000 lux dengan fotoperiode 16 jam terang dan 8 jam gelap.
- **Kelembapan:** Harus dijaga stabil untuk mencegah dehidrasi jaringan.
- **pH Media:** Dijaga antara 5,4–5,8 untuk menjaga ketersediaan unsur hara dan aktivitas enzim.

Ketidakstabilan faktor lingkungan sering kali menjadi penyebab utama kegagalan kultur jaringan dalam mengekspresikan potensi totipotensi.

## 6. Keadaan Fisiologis Sel dan Kondisi Aseptik

Keadaan fisiologis jaringan, seperti kandungan air, tingkat diferensiasi, dan aktivitas metabolismik, sangat menentukan kemampuan sel untuk kembali ke fase meristematik. Selain itu, kondisi aseptik (bebas kontaminasi) mutlak diperlukan. Kontaminasi oleh bakteri atau jamur tidak hanya merusak media, tetapi juga menghasilkan metabolit toksik yang dapat menghambat pertumbuhan sel tanaman. Oleh karena itu, prosedur sterilisasi alat, bahan, dan ruang kerja harus dilakukan dengan cermat sebelum kultur dimulai.

Secara umum, keberhasilan totipotensi dipengaruhi oleh interaksi kompleks antara **faktor genetik, fisiologis, hormonal, dan lingkungan**. Penguasaan terhadap seluruh faktor ini memungkinkan perancang kultur jaringan untuk menyesuaikan kondisi pertumbuhan agar sel tanaman mampu mengekspresikan potensi genetiknya secara maksimal dan membentuk individu tanaman yang sempurna.

## 2.4. Jenis dan Karakteristik Eksplan Tanaman

### 1. Pengertian Eksplan

Secara umum, eksplan adalah bagian tanaman yang digunakan sebagai bahan awal (inokulum) dalam proses kultur jaringan. Bagian ini dapat berupa sel tunggal, jaringan, atau organ tanaman yang memiliki kemampuan untuk tumbuh dan beregenerasi menjadi tanaman lengkap jika diberi lingkungan dan nutrisi yang sesuai. Eksplan dapat berasal dari organ tanaman seperti daun, batang, akar, biji, embrio, maupun jaringan meristematik. Eksplan yang baik adalah jaringan yang masih aktif membelah, tidak terinfeksi patogen, dan memiliki potensi fisiologis tinggi untuk beregenerasi. Pemilihan



jenis eksplan merupakan salah satu faktor penentu keberhasilan kultur jaringan karena setiap jenis jaringan memiliki kemampuan regenerasi yang berbeda.

## 2. Sumber Eksplan

Eksplan dapat diperoleh dari berbagai bagian tanaman tergantung pada tujuan kultur, antara lain:

- a) **Bagian vegetatif** – seperti pucuk, daun muda, batang, dan akar, biasanya digunakan untuk perbanyakannya klonal.
- b) **Bagian generatif** – seperti embrio, kotiledon, dan antera, digunakan untuk pembentukan tanaman haploid atau penelitian genetik.
- c) **Jaringan meristem** – diambil dari ujung tunas atau akar, digunakan untuk memperoleh tanaman bebas virus karena jaringan ini umumnya steril secara alami.

Selain itu, eksplan dapat berasal dari **tanaman muda** (juvenile) maupun **tanaman dewasa** (mature). Eksplan dari jaringan muda umumnya memberikan hasil lebih baik karena aktivitas pembelahannya masih tinggi dan respons terhadap hormon lebih peka.

## 3. Jenis-Jenis Eksplan

Pemilihan jenis eksplan merupakan bagian penting dalam proses kultur jaringan. Sehingga jenis eksplan juga sering disebut jenis kultur jaringan. Hal ini dikarenakan jenis-jenis kultur jaringan hanya dibedakan berdasarkan jenis sumber eksplannya. Berikut beberapa jenis eksplan yang umum digunakan dalam kultur jaringan tanaman:

### 1. Eksplan meristem

Berasal dari ujung batang atau ujung akar yang mengandung sel-sel meristematik aktif. Jenis ini sering digunakan untuk memperoleh tanaman bebas virus karena jaringan meristem biasanya tidak terinfeksi patogen.

*Contoh:* kultur meristem pada pisang, tebu, dan kentang untuk menghasilkan bibit bebas virus.

### 2. Eksplan daun

Diambil dari daun muda yang masih lunak. Jaringan daun banyak digunakan dalam kultur kalus atau induksi regenerasi tunas. Responsnya sangat tergantung pada rasio hormon auksin dan sitokinin.

*Contoh:* induksi kalus pada daun *Nicotiana tabacum* atau *Camellia sinensis*.

### 3. Eksplan batang atau nodus (ruas batang)

Sering digunakan dalam mikropropagasi karena setiap ruas batang memiliki tunas aksiler yang dapat tumbuh menjadi tanaman baru.

*Contoh:* perbanyak *Solanum tuberosum* (kentang) atau *Cymbidium* (anggrek).

### 4. Eksplan akar

Kurang umum digunakan untuk regenerasi karena aktivitas meristematiknya rendah, tetapi berperan penting dalam pembentukan kultur akar atau akar berbulu.

*Contoh:* kultur akar *Atropa belladonna* untuk produksi alkaloid.

### 5. Eksplan biji atau embrio



Digunakan dalam teknik penyelamatan embrio (*embryo rescue*) dan pembentukan tanaman hibrida. Embrio yang belum matang dapat tumbuh menjadi individu baru dengan bantuan media kultur buatan.

*Contoh:* kultur embrio pada *Datura innoxia* atau *Citrus sp.*

#### 6. Eksplan antera atau serbuk sari

Sering digunakan untuk menghasilkan tanaman haploid melalui proses embriogenesis gametofitik.

*Contoh:* kultur antera pada padi dan gandum untuk pemuliaan varietas unggul.

#### 7. Eksplan kalus

Kalus merupakan massa sel yang belum berdiferensiasi yang dapat digunakan untuk subkultur, pembentukan organ, atau produksi metabolit sekunder.

### 4. Faktor yang Mempengaruhi Respons Eksplan

Keberhasilan pertumbuhan eksplan sangat bergantung pada beberapa faktor berikut:

- **Genotipe tanaman:** setiap spesies memiliki kemampuan regenerasi yang berbeda.
- **Umur fisiologis jaringan:** jaringan muda lebih responsif terhadap hormon.
- **Posisi jaringan asal:** bagian tanaman yang dekat dengan meristem lebih mudah beregenerasi.
- **Kondisi fisiologis tanaman induk:** tanaman sehat dan bebas stres menghasilkan eksplan yang lebih baik.
- **Sterilitas dan teknik penanganan:** proses pengambilan dan sterilisasi harus dilakukan hati-hati agar jaringan tetap hidup dan bebas kontaminasi.

### 5. Kriteria Eksplan yang Baik

Eksplan yang ideal memiliki beberapa ciri:

1. Diambil dari tanaman induk yang sehat dan bebas penyakit.
2. Masih dalam fase pertumbuhan aktif.
3. Berukuran kecil agar mudah mengalami dediferensiasi.
4. Tidak mengalami luka berat atau stres fisiologis.
5. Mempunyai permukaan yang bersih dan mudah disterilkan.

### 6. Hubungan Eksplan dengan Totipotensi

Kemampuan eksplan untuk tumbuh dan membentuk tanaman baru sepenuhnya bergantung pada prinsip totipotensi sel. Jika eksplan memperoleh kombinasi nutrisi dan hormon yang tepat, sel-sel di dalamnya dapat mengalami dediferensiasi menjadi kalus, kemudian berdiferensiasi kembali menjadi organ-organ baru. Oleh karena itu, jenis eksplan yang dipilih harus memiliki keseimbangan fisiologis yang memungkinkan proses regenerasi tersebut berlangsung optimal.

## 2.5. Dasar-Dasar Kultur Sel Dan Jaringan Tumbuhan

Kultur sel dan jaringan tumbuhan merupakan teknik menumbuhkan jaringan atau organ tanaman secara *in vitro*, yaitu di luar tubuh tanaman aslinya, pada media buatan yang steril dan terkendali. Proses ini didasarkan pada konsep totipotensi sel



tanaman, yakni kemampuan setiap sel hidup untuk mengekspresikan seluruh potensi genetiknya dan membentuk individu tanaman yang lengkap melalui proses pembelahan dan diferensiasi sel. Selain totipotensi, keberhasilan kultur jaringan juga bergantung pada kemampuan sel untuk menyesuaikan metabolisme, pola pertumbuhan, dan proses perkembangannya. Semua faktor tersebut sangat penting untuk mencapai regenerasi tanaman secara utuh dari potongan jaringan kecil (eksplan).

Media kultur jaringan tanaman harus mengandung semua unsur hara dan zat esensial yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangan normal tanaman. Komponen utama media meliputi makronutrien, mikronutrien, vitamin, senyawa organik, zat pengatur tumbuh (ZPT), sumber karbon, serta agen pembentuk gel (bila digunakan dalam bentuk padat). Di antara berbagai formulasi yang tersedia, media Murashige dan Skoog (MS) merupakan yang paling umum digunakan untuk perbanyak vegetatif berbagai spesies tanaman secara *in vitro*.

Faktor lain yang tak kalah penting adalah pH media, karena sangat memengaruhi ketersediaan unsur hara dan aktivitas ZPT. Umumnya, pH media diatur antara 5,4–5,8 sebelum disterilisasi. Baik media padat maupun cair dapat digunakan, tergantung pada tujuan percobaan dan jenis jaringan yang dikultur. Komposisi media, terutama konsentrasi hormon tanaman dan sumber nitrogen, akan sangat menentukan respons awal eksplan terhadap proses kultur.

Zat pengatur tumbuh (ZPT) memegang peran kunci dalam menentukan arah perkembangan jaringan selama kultur. Auksin, sitokinin, dan giberelin adalah kelompok ZPT yang paling sering digunakan. Jenis dan konsentrasi hormon yang diberikan disesuaikan dengan spesies tanaman, jenis jaringan, serta tujuan eksperimen. Rasio antara auksin dan sitokinin menentukan arah pertumbuhan jaringan. Konsentrasi auksin yang tinggi mendorong pembentukan akar, sedangkan konsentrasi sitokinin yang tinggi merangsang pembentukan tunas. Jika keduanya seimbang, akan terbentuk kalus, yaitu massa sel yang belum berdiferensiasi. Sebagai contoh:

- Pada *Stevia rebaudiana*, pertumbuhan akar maksimal diperoleh pada media yang mengandung 0,5 mg/L NAA (naftalen asam asetat).
- Pada *Piper nigrum* (lada hitam), induksi dan proliferasi tunas tertinggi dicapai pada media yang mengandung 0,5 mg/L BA (benziladenin).
- Sementara pada *Phalaenopsis* (anggrek), pemanjangan tunas optimal diamati pada media yang dilengkapi 0,5 mg/L GA<sub>3</sub> (asam giberelat).

Kombinasi dan keseimbangan berbagai faktor tersebut yaitu media, pH, hormon, dan kondisi aseptic sangat menentukan keberhasilan kultur jaringan dalam menghasilkan tanaman baru yang sehat, seragam, dan stabil secara genetik.

## 2.6. Kesimpulan

Kultur jaringan tanaman merupakan fondasi penting dalam bioteknologi modern yang didasarkan pada prinsip totipotensi, yaitu kemampuan sel tanaman untuk tumbuh menjadi individu utuh apabila diberikan kondisi dan nutrisi yang sesuai. Melalui penerapan konsep ini, berbagai bagian tanaman seperti meristem,



daun, batang, akar, dan embrio dapat digunakan sebagai eksplan untuk menghasilkan tanaman baru yang identik dengan induknya. Keberhasilan proses ini bergantung pada keseimbangan hormon auksin dan sitokinin, kondisi fisiologis jaringan, serta pengelolaan lingkungan kultur secara aseptik.

Pemahaman terhadap dasar-dasar kultur sel dan jaringan tumbuhan membuka peluang besar dalam pengembangan pertanian modern. Teknologi ini memungkinkan perbanyaktan tanaman unggul dalam jumlah besar secara cepat, seragam, dan bebas penyakit. Selain itu, teknik *in vitro* juga berperan penting dalam konservasi plasma nutfah, pemuliaan tanaman, serta produksi senyawa bioaktif bernilai ekonomi tinggi seperti metabolit sekunder dan zat farmasi alami.

Meskipun kultur jaringan memiliki keunggulan dibandingkan metode konvensional, seperti kemampuan berproduksi sepanjang tahun tanpa terpengaruh musim, tantangan efisiensi biaya dan pengendalian kontaminasi masih menjadi perhatian utama. Penggunaan bioreaktor, peningkatan efisiensi media, dan penerapan sistem kultur berbiaya rendah menjadi langkah strategis untuk mengoptimalkan produksi komersial.

Keberhasilan kultur jaringan tidak hanya ditentukan oleh teknik, tetapi juga oleh kontrol kualitas bahan tanaman. Pemilihan eksplan yang sehat, penggunaan bahan bebas patogen, serta pengawasan terhadap variasi somaklonal merupakan bagian penting untuk menjaga kemurnian genetik dan mutu bibit.

Dengan landasan ilmiah yang kuat dan penerapan yang terus berkembang, kultur jaringan tanaman kini menjadi bagian integral dari pertanian berkelanjutan dan bioteknologi terapan. Teknologi ini tidak hanya mempercepat perbanyaktan tanaman unggul, tetapi juga mendukung pelestarian sumber daya genetik serta produksi bahan alam bernilai tinggi. Ke depan, peran kultur jaringan akan semakin strategis sebagai jembatan antara riset dasar biologi sel dan penerapan industri pertanian modern.

## 2.7. Latihan Soal

### A. Pilihan Ganda

Pilihlah satu jawaban yang paling tepat.

1. Prinsip utama yang mendasari seluruh teknik kultur jaringan tanaman adalah ...
  - a. Dominansi apikal
  - b. Totipotensi sel
  - c. Fotosintesis
  - d. Adaptasi fisiologis

→ Jawaban: b
2. Istilah *dediferensiasi* dalam konteks kultur jaringan mengacu pada ...
  - a. Pembentukan akar dari kalus
  - b. Kembalinya sel dewasa menjadi sel muda yang aktif membelah
  - c. Proses pemanjangan sel akibat hormon giberelin
  - d. Penurunan aktivitas sel akibat stres

→ Jawaban: b



3. Rasio hormon auksin dan sitokinin berperan penting dalam pengaturan pertumbuhan *in vitro*. Bila konsentrasi sitokinin lebih tinggi dibandingkan auksin, maka jaringan akan cenderung ...
  - a. Membentuk akar
  - b. Tetap menjadi kalus
  - c. Membentuk tunas
  - d. Mengalami nekrosis

→ Jawaban: c
4. Salah satu faktor penting agar eksplan dapat tumbuh dengan baik di media adalah ...
  - a. Kandungan alkohol dalam media
  - b. Kondisi aseptik selama penanaman
  - c. Paparan langsung cahaya matahari
  - d. Kelembaban rendah

→ Jawaban: b
5. Eksplan yang paling sering digunakan untuk menghasilkan tanaman bebas virus adalah ...
  - a. Daun muda
  - b. Jaringan meristem
  - c. Kalus tua
  - d. Akar lateral

→ Jawaban: b
6. Proses pembentukan kembali jaringan atau organ dari kalus disebut ...
  - a. Dediferensiasi
  - b. Rediferensiasi
  - c. Fusi protoplas
  - d. Regenerasi genetik

→ Jawaban: b
7. Media Murashige dan Skoog (MS) merupakan media kultur yang banyak digunakan karena ...
  - a. Mengandung unsur nitrogen dan fosfor tinggi
  - b. Hanya cocok untuk tanaman monokotil
  - c. Tidak memerlukan vitamin
  - d. Bersifat padat alami tanpa agar

→ Jawaban: a
8. Eksplan yang berasal dari daun muda umumnya digunakan untuk ...
  - a. Produksi tanaman haploid
  - b. Induksi kalus dan regenerasi tunas
  - c. Kultur akar berbulu
  - d. Produksi tanaman bebas virus

→ Jawaban: b
9. Faktor yang **tidak memengaruhi** keberhasilan kultur jaringan tanaman adalah ...
  - a. Genotipe tanaman
  - b. Umur jaringan
  - c. Warna bunga tanaman



d. Kondisi fisiologis tanaman induk

→ **Jawaban:** c

10. Kultur jaringan disebut *in vitro* karena ...

a. Dilakukan di tanah steril

b. Berlangsung di dalam tubuh tanaman induk

c. Dilakukan di luar tubuh organisme, pada kondisi terkendali

d. Melibatkan tanaman dalam pot kaca

→ **Jawaban:** c

## B. Soal Uraian Singkat

1. Jelaskan dengan kalimat Anda sendiri apa yang dimaksud dengan **totipotensi sel tanaman**, dan bagaimana konsep ini diaplikasikan dalam kultur jaringan!

**Arahan jawaban:** Totipotensi adalah kemampuan sel tanaman untuk tumbuh menjadi individu lengkap jika diberi kondisi dan nutrisi yang sesuai. Prinsip ini memungkinkan setiap bagian tanaman (eksplan) diregenerasi menjadi tanaman baru secara *in vitro*.

2. Mengapa proses **dediferensiasi** penting dalam pembentukan kalus pada kultur jaringan tanaman?

**Arahan jawaban:** Karena dediferensiasi mengubah sel dewasa menjadi sel meristematik yang dapat membelah aktif, membentuk massa kalus yang menjadi dasar regenerasi organ baru.

3. Sebutkan dan jelaskan **tiga jenis eksplan** yang sering digunakan dalam kultur jaringan beserta fungsinya!

**Arahan jawaban:**

- Meristem: menghasilkan tanaman bebas virus.
- Daun muda: untuk pembentukan kalus dan regenerasi tunas.
- Nodus batang: untuk mikropropagasi tanaman klonal.

4. Mengapa kondisi **aseptik** sangat penting dalam kultur jaringan?

**Arahan jawaban:** Karena kultur dilakukan pada media kaya nutrisi yang mudah terkontaminasi mikroorganisme. Kontaminasi akan menghentikan pertumbuhan jaringan tanaman.

5. Bagaimana pengaruh rasio **auksin dan sitokinin** terhadap arah pertumbuhan jaringan?

**Arahan jawaban:**

- Auksin tinggi → pembentukan akar
- Sitokinin tinggi → pembentukan tunas
- Seimbang → pembentukan kalus

6. Jelaskan hubungan antara **jenis eksplan** dengan **tingkat keberhasilan regenerasi tanaman!**

**Arahan jawaban:** Jenis eksplan yang berasal dari jaringan muda dan aktif membelah (seperti meristem atau daun muda) memiliki tingkat keberhasilan regenerasi lebih tinggi dibandingkan jaringan tua.

7. Sebutkan **tiga faktor utama** yang menentukan keberhasilan kultur jaringan tanaman selain hormon!



**Arahan jawaban:** Sterilitas, genotipe tanaman, umur fisiologis eksplan, dan kondisi lingkungan (suhu, cahaya, pH).

8. Mengapa tanaman hasil kultur jaringan kadang menunjukkan **variasi somaklonal**?

**Arahan jawaban:** Karena terjadi perubahan genetik atau epigenetik selama fase kultur kalus atau subkultur yang berulang-ulang.

9. Apa keunggulan utama kultur jaringan dibandingkan dengan perbanyakan konvensional melalui biji atau stek?

**Arahan jawaban:** Dapat menghasilkan banyak tanaman dalam waktu singkat, seragam, bebas penyakit, dan tidak bergantung pada musim.

10. Jelaskan bagaimana **kultur jaringan berkontribusi terhadap konservasi plasma nutfah tanaman!**

**Arahan jawaban:** Melalui teknik kriopreservasi atau penyimpanan *in vitro* jangka panjang, jaringan tanaman dapat disimpan tanpa kehilangan viabilitas dan digunakan untuk pelestarian spesies langka.

#### C. Soal Analisis Kasus (Opsional untuk Tugas Individu)

Sebuah laboratorium kultur jaringan mengalami kegagalan pertumbuhan kalus pada eksplan daun *Camellia sinensis*. Eksplan berubah warna menjadi cokelat dan mati setelah 10 hari.

- a. Identifikasi kemungkinan penyebabnya.
- b. Usulkan langkah perbaikan untuk percobaan berikutnya.



### BAB III. LABORATORIUM KULTUR JARINGAN

Sub CPMK	Mahasiswa mampu menganalisis fungsi tiap komponen media (MS, hormon, vitamin).
Tujuan	Mahasiswa mampu menjelaskan fungsi masing-masing komponen media serta menganalisis pengaruh hormon terhadap pertumbuhan jaringan tanaman.



## 1.1. Fungsi Dan Peran Laboratorium Kultur Jaringan

Laboratorium kultur jaringan tanaman merupakan fasilitas vital dalam pengembangan bioteknologi pertanian, khususnya dalam perbanyakan tanaman secara *in vitro*. Peran utama laboratorium ini adalah menyediakan lingkungan steril yang memungkinkan pertumbuhan dan perkembangan eksplan (bagian tanaman) di luar tubuh induknya. Kultur jaringan membutuhkan kondisi lingkungan yang sangat terkendali, termasuk suhu, kelembaban, cahaya, dan kebersihan mikrobiologis. Oleh karena itu, fasilitas laboratorium yang dirancang khusus menjadi keharusan.

Fungsi laboratorium kultur jaringan meliputi:

1. Menyediakan sarana untuk propagasi tanaman secara massal, seragam, dan bebas penyakit.
2. Memfasilitasi kegiatan penelitian dan pengembangan di bidang fisiologi tanaman, perbanyakan mikro, dan produksi metabolit sekunder.
3. Mendukung konservasi plasma nutfah melalui kultur *in vitro* dan penyimpanan jangka panjang.
4. Menyediakan ruang pembelajaran praktik bioteknologi tanaman untuk mahasiswa dan peneliti.

Kehadiran laboratorium yang lengkap dan sesuai standar menjadi kunci keberhasilan kegiatan kultur jaringan. Laboratorium tidak hanya sebagai tempat bekerja, tetapi juga sebagai pusat pembelajaran keterampilan teknis dan berpikir ilmiah.

## 1.2. Tata Ruang dan Zonasi Laboratorium

Untuk menjaga efektivitas kerja dan meminimalisir risiko kontaminasi, laboratorium kultur jaringan dibagi ke dalam beberapa zona kerja fungsional. Tata ruang yang baik mendukung alur kerja yang logis, mulai dari persiapan bahan hingga aklimatisasi hasil kultur. Zonasi ini meliputi:

### 1. Ruang Persiapan

- Digunakan untuk menimbang bahan kimia, melarutkan komponen media, mengatur pH, dan mensterilkan media menggunakan autoklaf. Ruang ini harus memiliki ventilasi baik dan peralatan cuci yang memadai.



- **Alat utama yang harus tersedia:** timbangan analitik, hot plate & magnetic stirrer, gelas ukur, pH meter, waterbath, autoklaf, dan rak pengering alat.
- **Fasilitas tambahan:** meja kerja tahan panas, wastafel, lemari bahan kimia.

## 2. Ruang Inokulasi (*Transfer Room*)

- Merupakan ruang paling steril di laboratorium. Transfer eksplan dilakukan di dalam *laminar air flow* (LAF) untuk menjaga kondisi aseptik. Ruang ini idealnya bertekanan udara positif dan dilengkapi dengan penyaringan HEPA. Ruang ini tertutup dan memiliki penerangan cukup.
- **Alat utama:** laminar air flow, sprayer alkohol 70%, pinset steril, scalpel, bunsen listrik atau spiritus, timer, dan kotak sterilisasi alat.
- **Fasilitas tambahan:** meja tahan kontaminan, rak alat, dan kursi ergonomis.

### 1. Ruang Kultur (*Growth Room*)

- Tempat penyimpanan botol atau tabung kultur. Dilengkapi dengan rak bersusun, sistem pencahayaan buatan (16 jam terang, 8 jam gelap), dan suhu ruang stabil ( $\pm 25^{\circ}\text{C}$ ). Cahaya berpengaruh besar pada morfogenesis eksplan. Ruang ini harus bersih, minim debu, dan bersuhu stabil.
- **Alat utama:** rak kultur, lampu fluoresen putih/kuning dengan timer, termometer ruangan, dan higrometer.
- **Fasilitas tambahan:** kipas sirkulasi udara, tirai penutup cahaya, dan alat pencatat data pertumbuhan.

### 2. Ruang Aklimatisasi (*Greenhouse/Net House*)

- Digunakan untuk memindahkan plantlet dari media in vitro ke media tanah atau pot. Bertujuan menyesuaikan tanaman terhadap kondisi luar secara bertahap. Aklimatisasi dilakukan dalam lingkungan lembab dan teduh secara bertahap.
- **Alat utama:** sprayer kabut, rak tanam, tray semai, sungkup plastik transparan, dan alat monitoring kelembaban.
- **Fasilitas tambahan:** sistem irigasi manual, penutup paronet, dan shading. Zonasi ruang ini harus dipatuhi dengan ketat untuk mencegah perpindahan kontaminan antar ruang. Setiap zona memiliki protokol sterilisasi tersendiri. Alat dan personel sebaiknya tidak lintas zona tanpa prosedur dekontaminasi yang



benar. Pemisahan fisik dan logistik antar ruang menjadi standar yang tidak bisa diabaikan dalam desain laboratorium kultur jaringan modern.

### 1.3. Peralatan Utama Laboratorium

Keberhasilan kultur jaringan sangat dipengaruhi oleh kelengkapan dan fungsi optimal dari peralatan laboratorium. Setiap alat memiliki peran yang spesifik dan saling menunjang dalam proses kultur jaringan. Berikut adalah peralatan utama yang harus tersedia, beserta fungsi dan contohnya:

Alat	Fungsi dan Contoh Penggunaan
<b>Timbangan analitik</b>	Menimbang bahan kimia seperti MS powder, sukrosa, atau ZPT dengan ketelitian hingga 0.0001 g. Contoh: menimbang 2 g sukrosa untuk media 100 mL.
<b>Hot plate &amp; magnetic stirrer</b>	Melarutkan komponen media secara merata dan efisien menggunakan pemanas serta batang magnetik. Contoh: pelarutan media MS dan sukrosa dengan pemanasan hingga larut sempurna.
<b>pH meter</b>	Mengukur dan menyesuaikan pH media tanam, biasanya disesuaikan ke pH 5.6–5.8 sebelum autoklaf. Contoh: menambahkan NaOH 0.1N tetes demi tetes untuk menaikkan pH media.
<b>Autoklaf</b>	Mensterilkan media, alat gelas, dan bahan lainnya pada suhu 121°C dan tekanan 15 psi selama 15–20 menit. Contoh: sterilisasi media MS dalam botol kaca sebelum inokulasi.
<b>Laminar Air Flow (LAF)</b>	Menyediakan area kerja aseptik dengan aliran udara steril horizontal atau vertikal. Digunakan untuk inokulasi eksplan, pemindahan kultur, dan penanaman ulang. Contoh: menanam eksplan daun kentang ke dalam tabung kultur di dalam LAF.
<b>Oven</b>	Mengeringkan alat-alat gelas seperti tabung, Erlenmeyer, dan pinset setelah dicuci. Juga bisa digunakan untuk sterilisasi kering. Contoh: mengeringkan botol kultur pada suhu 80°C selama semalam.



<b>Inkubator (opsional)</b>	Menyediakan suhu inkubasi konstan untuk kultur tertentu yang membutuhkan kondisi khusus (misal: kalus pada suhu 28°C).
<b>Mikroskop stereo</b>	Mengamati detail morfologi eksplan, pertumbuhan kalus, tanda kontaminasi (misal: koloni jamur/bakteri). Contoh: melihat pembentukan embrio somatik dari kalus wortel.
<b>Ruang kultur berlampa</b>	Tempat inkubasi botol kultur dengan pencahayaan terkendali (sinar buatan 16:8 jam terang:gelap). Digunakan untuk mendukung fotosintesis dan diferensiasi jaringan. Contoh: kultur tunas tanaman pisang yang memanjang karena cahaya.

Semua alat harus dirawat dan dikalibrasi secara berkala. Mahasiswa wajib memahami fungsi dan cara kerja alat sebelum digunakan. Setiap alat memiliki SOP tersendiri yang harus dibaca dan diterapkan sebelum praktik dimulai. Kesalahan dalam penggunaan alat dapat menyebabkan kegagalan kultur atau kontaminasi skala luas.

#### 1.4. Prosedur Umum dan Standar Operasional (SOP)

Laboratorium kultur jaringan mengandalkan protokol kerja yang baku dan terdokumentasi. SOP (*Standard Operating Procedure*) menjamin bahwa semua pengguna bekerja secara konsisten dan aman. Beberapa SOP penting:

1. SOP penimbangan dan pelarutan media.
2. SOP penyesuaian pH dan sterilisasi autoklaf.
3. SOP penggunaan laminar air flow.
4. SOP sterilisasi eksplan (permukaan dan dalam).
5. SOP penanaman eksplan ke media.
6. SOP pencatatan data dan pelabelan kultur.
7. SOP pemantauan kontaminasi dan pembuangan limbah.

#### 1.5. Etika dan Keselamatan Kerja Laboratorium

Etika kerja dan keselamatan adalah aspek yang tak terpisahkan dari pembelajaran laboratorium. Adapun prinsip-prinsip dasar yang harus dipatuhi:

- Menggunakan alat pelindung diri (jas lab, masker, sarung tangan)



- Menjaga kebersihan ruang dan alat setelah digunakan
- Tidak makan, minum, atau menggunakan perangkat elektronik pribadi di area kerja
- Tidak menyentuh bahan kimia tanpa alat bantu
- Menyimpan bahan kimia sesuai label dan klasifikasi risiko
- Melaporkan segera jika terjadi tumpahan, kerusakan alat, atau kecelakaan kerja

## 1.6. Latihan Soal

### **Soal 1 – Analisis Tata Ruang**

**Studi kasus:** Sebuah laboratorium kultur jaringan hanya memiliki satu ruang kerja yang digunakan sekaligus untuk menyiapkan media, melakukan inokulasi, dan menyimpan kultur.

**Pertanyaan:**

Jelaskan potensi risiko yang akan terjadi dalam laboratorium tersebut. Buatlah usulan sederhana untuk zonasi ruang yang lebih ideal dengan alasan ilmiah.

### **Soal 2 – Evaluasi Alat**

**Kondisi:** Suatu eksperimen kultur daun jambu biji gagal karena kontaminasi tinggi pada hari ketiga setelah inokulasi. Setelah ditelusuri, autoklaf mengalami kerusakan indikator suhu, dan operator tetap melanjutkan sterilisasi.

**Pertanyaan:**

Evaluasi keputusan operator tersebut. Apa dampak dari autoklaf yang tidak mencapai suhu optimal? Jelaskan pentingnya validasi alat sebelum digunakan.

### **Soal 3 – Perbandingan Alat**

**Pertanyaan:**

Bandingkan fungsi dan kelebihan antara oven dan autoklaf dalam konteks sterilisasi alat kultur jaringan. Dalam situasi darurat tanpa autoklaf, bagaimana Anda menyiasati kebutuhan sterilisasi bahan dan alat?

### **Soal 4 – Analisis Alur Kerja**

**Pertanyaan:**



Mengapa alur kerja satu arah (one-way workflow) penting dalam laboratorium kultur jaringan? Analisis konsekuensi jika personel masuk dari ruang inokulasi langsung ke ruang media tanpa prosedur dekontaminasi.

### **Soal 5 – Sintesis Desain Lab**

#### **Pertanyaan:**

Rancang denah sederhana laboratorium kultur jaringan mini untuk ruang  $6 \times 3$  meter. Tentukan pembagian zona dan penempatan alat secara logis. Jelaskan pertimbangan utama yang Anda gunakan.

### **Soal 6 – Kritis Terhadap Prosedur**

#### **Pertanyaan:**

Banyak mahasiswa mencuci alat kultur hanya dengan air biasa tanpa detergen lalu langsung mengeringkan di oven. Apakah ini bisa diterima? Jelaskan alasan ilmiahnya dan usulkan SOP alternatif yang lebih baik.

### **Soal 7 – Aplikasi dalam Situasi Nyata**

#### **Pertanyaan:**

Dalam kondisi keterbatasan alat, Anda hanya memiliki botol plastik bekas, sprayer, dan alkohol. Bagaimana Anda bisa tetap menjalankan prinsip aseptik saat melakukan inokulasi? Buat prosedur alternatif.

### **Soal 8 – Analisis Keselamatan Kerja**

#### **Pertanyaan:**

Seorang mahasiswa bekerja di LAF tanpa mengenakan masker karena merasa ruangan sudah steril. Apakah ini dapat dibenarkan? Jelaskan potensi dampaknya dan kaitannya dengan etika laboratorium.

### **Soal 9 – Klasifikasi Alat**

#### **Pertanyaan:**

Kelompokkan alat-alat berikut ke dalam kategori ruang kerja yang sesuai:

1. Timbangan analitik
2. Laminar Air Flow



3. Rak kultur
4. Tray semai
5. pH meter
6. Mikroskop stereo
7. Sprayer kabut

### **Soal 10 – Simulasi Prosedur**

#### **Pertanyaan:**

Buat urutan langkah kerja (workflow) mulai dari pembuatan media hingga tanaman siap diaklimatisasi. Tentukan di ruang mana tiap langkah dilakukan dan alat apa yang digunakan.



## BAB IV. MEDIA KULTUR JARINGAN

Sub CPMK	Mahasiswa mampu menganalisis fungsi tiap komponen media (MS, hormon, vitamin).
Tujuan	Mahasiswa mampu menjelaskan fungsi masing-masing komponen media serta menganalisis pengaruh hormon terhadap pertumbuhan jaringan tanaman.



## 4.1. Pendahuluan

Media kultur jaringan merupakan faktor yang paling penting dalam keberhasilan pertumbuhan dan perkembangan jaringan tanaman in vitro. Berbeda dengan tanaman utuh di alam yang memperoleh unsur hara dari tanah, air, dan udara, jaringan yang dikultur dalam tabung harus memperoleh semua kebutuhan nutrisinya dari media buatan. Oleh karena itu, media harus dirancang sedemikian rupa agar mengandung semua unsur yang diperlukan untuk menunjang pertumbuhan sel, jaringan, dan organ tanaman.

Komposisi media yang seimbang akan mendukung aktivitas fisiologis dan biokimia tanaman, seperti pembelahan sel, pembentukan kalus, pembentukan akar dan tunas, serta akumulasi metabolit sekunder. Sebaliknya, ketidakseimbangan unsur hara atau konsentrasi hormon yang tidak tepat dapat menyebabkan pertumbuhan abnormal atau bahkan kematian jaringan.

## 4.2. Komposisi Media Dasar

Secara umum, media kultur jaringan terdiri atas enam komponen utama, yaitu: makronutrien, mikronutrien, vitamin, sumber karbon, zat pengatur tumbuh, dan agen pembentuk gel.

### 1. Makronutrien

Makronutrien adalah unsur yang dibutuhkan tanaman dalam jumlah besar karena berperan penting dalam pembentukan jaringan dan aktivitas metabolismik. Unsur ini mencakup nitrogen (N), fosfor (P), kalium (K), kalsium (Ca), magnesium (Mg), dan sulfur (S).

- **Nitrogen (N)** berfungsi sebagai penyusun asam amino, protein, dan klorofil. Dalam media, nitrogen disuplai dalam bentuk nitrat ( $\text{NO}_3^-$ ) dan ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ).
- **Fosfor (P)** diperlukan dalam pembentukan energi (ATP) dan komponen DNA serta RNA.
- **Kalium (K)** berperan dalam aktivasi enzim dan keseimbangan osmotik.
- **Kalsium (Ca)** memperkuat dinding sel dan membantu pembelahan sel.
- **Magnesium (Mg)** merupakan bagian penting dari molekul klorofil.
- **Sulfur (S)** dibutuhkan dalam pembentukan asam amino seperti sistein dan metionin.

### 2. Mikronutrien

Mikronutrien esensial (elemen minor) untuk pertumbuhan sel dan jaringan tanaman meliputi besi (Fe), mangan (Mn), seng (Zn), boron (B), tembaga (Cu) dan



molibdenum (Mo). Besi biasanya yang paling penting dari semua mikronutrien. Unsur ini digunakan sebagai garam sitrat atau tartarat dalam media kultur, namun ada beberapa masalah dengan senyawa ini karena sulitnya larut dan mengendap setelah persiapan media. Telah ada percobaan untuk mengatasi masalah ini dengan menggunakan ethylene diaminetetraacetic acid (EDTA)-iron chelate (FeEDTA). Sebuah prosedur untuk menyiapkan larutan besi kelat yang tidak mengendap juga telah dikembangkan. Cobalt (Co) dan yodium (I) dapat ditambahkan ke media tertentu, tetapi kebutuhan mereka untuk pertumbuhan sel belum ditetapkan secara tepat. Natrium (Na) dan klorin (Cl) juga digunakan di beberapa media, meskipun ada laporan bahwa mereka tidak penting untuk pertumbuhan. Tembaga dan kobalt ditambahkan ke media kultur pada konsentrasi  $0,1\mu M$ , besi dan molibdenum pada  $1\mu M$ , yodium pada  $5\mu M$ , seng pada  $5-30 M$ , mangan pada  $20-90 M$  dan boron pada  $25-100 M$ .

### 3. Sumber Karbon Dan Energi

Pada media kultur sel tanaman, selain sukrosa, yang sering digunakan sebagai sumber karbon pada konsentrasi 2-5%, juga digunakan karbohidrat lain. Ini termasuk laktosa, galaktosa, maltosa dan pati dan mereka dilaporkan kurang efektif daripada sukrosa atau glukosa, yang terakhir sama lebih efektif daripada fruktosa mengingat glukosa digunakan oleh sel pada awalnya, diikuti oleh fruktosa. Sering ditunjukkan bahwa sukrosa yang diautoklaf lebih baik untuk pertumbuhan daripada sukrosa yang disterilkan dengan filter. Autoklaf tampaknya menghidrolisis sukrosa menjadi gula yang dapat digunakan secara lebih efisien seperti fruktosa. Sukrosa dilaporkan bertindak sebagai pemicu morfogenetik dalam pembentukan tunas bantu dan percabangan akar adventif. Ditemukan bahwa suplemen tetes tebu, ekstrak pisang dan air kelapa ke media basal dapat menjadi alternatif yang baik untuk mengurangi biaya media. Substrat ini selain gula, merupakan sumber vitamin dan ion anorganik yang dibutuhkan pertumbuhan.

### 4. Vitamin

Beberapa tanaman mampu mensintesis kebutuhan penting vitamin untuk pertumbuhannya. Beberapa vitamin diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangan normal tanaman, mereka dibutuhkan oleh tanaman sebagai katalis dalam berbagai proses metabolisme. Mereka dapat bertindak sebagai faktor pembatas untuk pertumbuhan dan diferensiasi sel ketika sel dan jaringan tanaman tumbuh *In vitro*. Vitamin yang paling banyak digunakan dalam media kultur sel dan jaringan meliputi: thiamin (B1), asam nikotinat dan piridoksin (B6). Thiamin diperlukan oleh semua sel untuk pertumbuhan. Thiamin digunakan pada konsentrasi mulai dari  $0,1$  sampai  $10 \text{ mg.l}^{-1}$ . Asam nikotinat dan piridoksin, namun tidak penting untuk pertumbuhan sel banyak spesies, mereka sering ditambahkan ke media kultur. Asam nikotinat digunakan pada kisaran konsentrasi  $0,1-5 \text{ mg.l}^{-1}$  dan



piridoksin digunakan pada  $0,1\text{-}10 \text{ mg.l}^{-1}$ . Vitamin lain seperti biotin, asam folat, asam askorbat, asam pantotenat, tokoferol (vitamin E), riboflavin, asam p-amino-benzoat digunakan dalam beberapa media kultur sel, namun bukan merupakan faktor pembatas pertumbuhan. Direkomendasikan bahwa vitamin harus ditambahkan ke media kultur hanya ketika konsentrasi thiamin di bawah tingkat yang diinginkan atau ketika sel-sel diperlukan untuk tumbuh pada kepadatan populasi rendah. Meskipun bukan vitamin tetapi karbohidrat, myo-inositol ditambahkan dalam jumlah kecil untuk merangsang pertumbuhan sel sebagian besar spesies tanaman. Myo-inositol diyakini berperan dalam pembelahan sel karena pemecahannya menjadi asam askorbat dan pektin dan penggabungan menjadi fosfoinositida dan fosfatidilinositol. Hal ini umumnya digunakan dalam sel tanaman dan media kultur jaringan pada konsentrasi  $50\text{-}5000 \text{ mg.l}^{-1}$ .

## 5. Asam Amino

Asam amino yang dibutuhkan untuk pertumbuhan yang optimal biasanya disintesis oleh sebagian besar tanaman, namun penambahan asam amino tertentu atau campuran asam amino sangat penting untuk membangun kultur sel dan protoplas. Asam amino menyediakan sel tumbuhan dengan sumber nitrogen yang mudah diasimilasi oleh jaringan dan sel lebih cepat daripada sumber nitrogen anorganik. Campuran asam amino seperti kasein hidrolisat, L-glutamin, L-asparagin dan adenin sering digunakan sebagai sumber nitrogen organik dalam media kultur. Kasein hidrolisat umumnya digunakan pada konsentrasi antara  $0,25\text{-}1 \text{ g l}^{-1}$ . Asam amino yang digunakan untuk peningkatan pertumbuhan sel dalam media kultur meliputi; glisin pada  $2 \text{ mg.l}^{-1}$ , glutamin hingga  $8 \text{ mM}$ , asparagin pada  $100 \text{ mg.l}^{-1}$ , L-arginin dan sistein pada  $10 \text{ mg.l}^{-1}$  dan L-tirosin pada  $100 \text{ mg.l}^{-1}$ .

## 6. Suplemen Organik Yang Tidak Ditentukan

Beberapa media dilengkapi dengan bahan atau ekstrak alami seperti hidrolisat protein, santan, ekstrak ragi, ekstrak malt, pisang giling, jus jeruk dan jus tomat, untuk menguji pengaruhnya terhadap peningkatan pertumbuhan. Berbagai macam ekstrak organik sekarang biasa ditambahkan ke media kultur. Penambahan arang aktif kadang-kadang ditambahkan ke media kultur yang mungkin memiliki efek menguntungkan atau merugikan. Pertumbuhan dan diferensiasi dirangsang pada anggrek, bawang merah dan wortel, tomat. Di sisi lain, penghambatan pertumbuhan sel terlihat pada penambahan arang aktif ke media kultur kedelai. Penjelasan cara kerja arang aktif didasarkan pada adsorpsi senyawa penghambat dari media, adsorpsi zat pengatur tumbuh dari media kultur atau penggelapan media. Kehadiran 1% arang aktif dalam media ditunjukkan untuk sebagian besar meningkatkan hidrolisis sukrosa selama autoklaf yang menyebabkan pengasaman media kultur.

## 7. Agen Pemadatan



Kekerasan media kultur sangat mempengaruhi pertumbuhan jaringan kultur (Gambar 1). Ada sejumlah agen pembentuk gel seperti agar, agarosa dan gellan gum. Agar, polisakarida yang diperoleh dari rumput laut, digunakan secara universal sebagai agen pembentuk gel untuk menyiapkan media kultur jaringan tanaman semi-padat dan padat. Agar memiliki beberapa keunggulan dibandingkan agen pembentuk gel lainnya; dicampur dengan air, mudah meleleh pada kisaran suhu 60-100 ° C dan memadat pada sekitar 45 ° C dan membentuk gel yang stabil pada semua suhu inkubasi yang memungkinkan. Gel agar tidak bereaksi dengan konstituen media dan tidak dicerna oleh enzim tanaman. Hal ini umumnya digunakan dalam media pada konsentrasi berkisar antara 0,8-1,0%. Sediaan agar murni sangat penting terutama dalam percobaan yang berhubungan dengan metabolisme jaringan. Agar mengandung Ca, Mg, dan elemen jejak untuk membandingkan merek agar yang berbeda.



**Gambar 4.1.** Media agar yang mendukung pertumbuhan tanaman.

Pengurangan biaya media kultur terus ditargetkan dalam kultur skala besar dan mencari alternatif murah asalkan bunga putih, tepung kentang, bubuk beras adalah agen pembentuk gel yang baik seperti agar-agar. Itu juga dialami bahwa kombinasi tepung laundry, tepung kentang dan semolina dalam rasio 2:1:1 mengurangi biaya agen pembentuk gel lebih dari 70%.



### 4.3. Media Murashige dan Skoog (MS)

Media **Murashige dan Skoog (1962)** atau MS merupakan formulasi media yang paling banyak digunakan dalam kultur jaringan tanaman. Media ini memiliki konsentrasi garam yang tinggi, terutama nitrogen dan kalium, sehingga mendukung pertumbuhan berbagai jenis tanaman.

Komposisi media MS mencakup:

- **Makronutrien:**  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ,  $\text{KNO}_3$ ,  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$
- **Mikronutrien:** Fe-EDTA,  $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{H}_3\text{BO}_3$ , KI,  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
- **Vitamin:** Tiamin-HCl, nikotinat, piridoksin, dan mio-inositol
- **Sumber karbon:** sukrosa 30 g/L
- **Agen pembentuk gel:** agar 6–8 g/L

Keunggulan media MS adalah kemampuannya untuk mendukung berbagai tahapan kultur, mulai dari inisiasi, multiplikasi, hingga pembentukan akar. Namun, beberapa spesies tanaman tertentu memerlukan modifikasi media MS, misalnya penambahan zat organik alami seperti air kelapa, ekstrak kentang, atau pepton.

### 4.4. Zat Pengatur Tumbuh (ZPT)

Zat pengatur tumbuh penting dalam kultur jaringan tanaman karena berperan penting dalam pemanjangan batang, tropisme, dan dominasi apikal. Mereka umumnya diklasifikasikan ke dalam kelompok berikut; auksin, sitokinin, giberelin, dan asam absisat. Selain itu, proporsi auksin terhadap sitokinin menentukan jenis dan tingkat organogenesis dalam kultur sel tanaman.

#### 1. Auksin

Penemu hormon auksin adalah Fritz Went (Peneliti asal Belanda). Struktur hormon auksin yang paling dikenal adalah IAA (*Indole Acetic acid*), yang mirip dengan asam amino triptophan. Aktivitas hormon auksin dihambat oleh cahaya matahari. Cara membuat hormon auksin yakni disintesis di meristem apikal, daun-daun muda dan biji. Fungsi hormon auksin pada tumbuhan adalah:

- a) Merangsang pemanjangan sel pada daerah titik tumbuh.
- b) Merangsang pembentukan akar
- c) Merangsang pembentukan buah tanpa biji (partenokarpi)
- d) Merangsang differensiasi jaringan pembuluh
- e) Merangsang absisi (pengguguran pada daun)
- f) Berperan dalam dominasi apikal

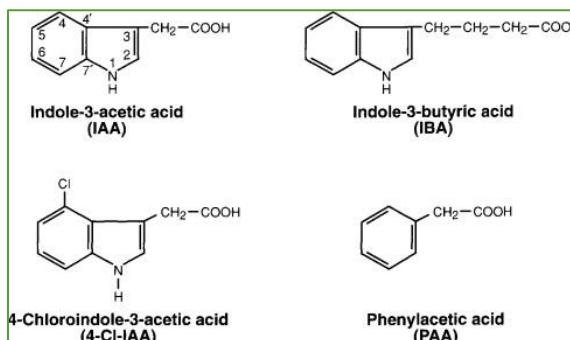
Auksin yang umum digunakan dalam media kultur jaringan tanaman meliputi:



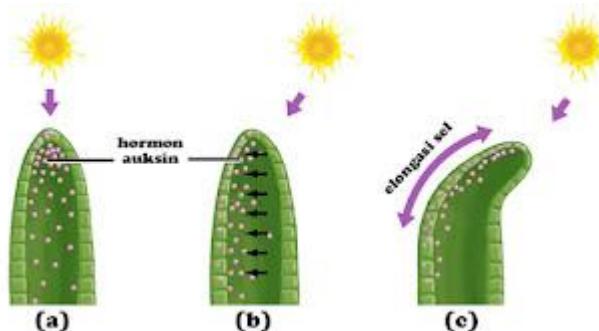
- a) IAA (Indole-3-acetic acid)
- b) IBA (Indole-3-butyric acid)
- c) NAA (Naphthalene acetic acid)
- d) 2,4-D (2,4-Dichlorophenoxyacetic acid)

IAA merupakan satu-satunya auksin alami yang terdapat pada jaringan tumbuhan. Terdapat auksin sintetik lain yang digunakan dalam media kultur seperti asam 4-klorofenoksi asetat atau asam p-kloro-fenoksi asetat (4-CPA, pCPA), 2,4,5-trikloro- asam fenoksi asetat (2,4,5 T), asam 3,6- dikloro-2-metoksi-benzoat (dikamba) dan asam 4- amino-3,5,6-trikloro-pikolinat (pikloram). Konsentrasi auksin yang tinggi cenderung menstimulasi pembentukan akar dan kalus.

Auksin berbeda dalam aktivitas fisiologisnya dan sejauh mana mereka mentranslokasi melalui jaringan dan dimetabolisme. Berdasarkan uji kelengkungan batang, aktivitas delapan hingga dua belas kali lebih tinggi dilaporkan pada penggunaan 2,4-D daripada IAA, aktivitas empat kali lebih tinggi dari 2,4,5 T dibandingkan dengan IAA dan NAA memiliki aktivitas dua kali lipat dari IAA. Dalam kultur jaringan, auksin biasanya digunakan untuk merangsang produksi kalus dan pertumbuhan sel, untuk memulai tunas dan rooting, untuk menginduksi embriogenesis somatik, untuk merangsang pertumbuhan dari apeks pucuk dan kultur batang pucuk. Auksin NAA dan 2,4-D dianggap stabil dan dapat disimpan pada suhu 4 ° C selama beberapa bulan. Solusi NAA dan 2,4-D juga dapat disimpan selama beberapa bulan di lemari es atau pada suhu -20° C jika penyimpanan harus bertahan lebih lama. Yang terbaik adalah menyiapkan larutan IAA segar setiap kali selama persiapan medium, namun larutan IAA dapat disimpan dalam botol kuning pada suhu 4 ° C tidak lebih dari seminggu. Umumnya IAA dan 2,4-D dilarutkan dalam volume kecil etil alkohol 95%. NAA, 2,4-D dan IAA dapat dilarutkan dalam sejumlah kecil NaOH 1N. Struktur kimia dari beberapa auksin yang sering digunakan diberikan pada Gambar 4.2.



**Gambar 4.2.** Struktur Kimia Auksin. Asam Indol Asetat IAA, Asam Butirat Indol IBA, Asam Diklorofenoksiasetat 2,4-D dan Asam Asetat Naftalena NAA.



**Gambar 4.3.** Pengaruh cahaya matahari terhadap aktivitas auksin. (a) saat cahaya matahari tepat di pucuk, (b) saat cahaya matahari berada di sisi pucuk sehingga akan menyebabkan (c) pemanjangan yang membengkok.

## 2. Sitokinin

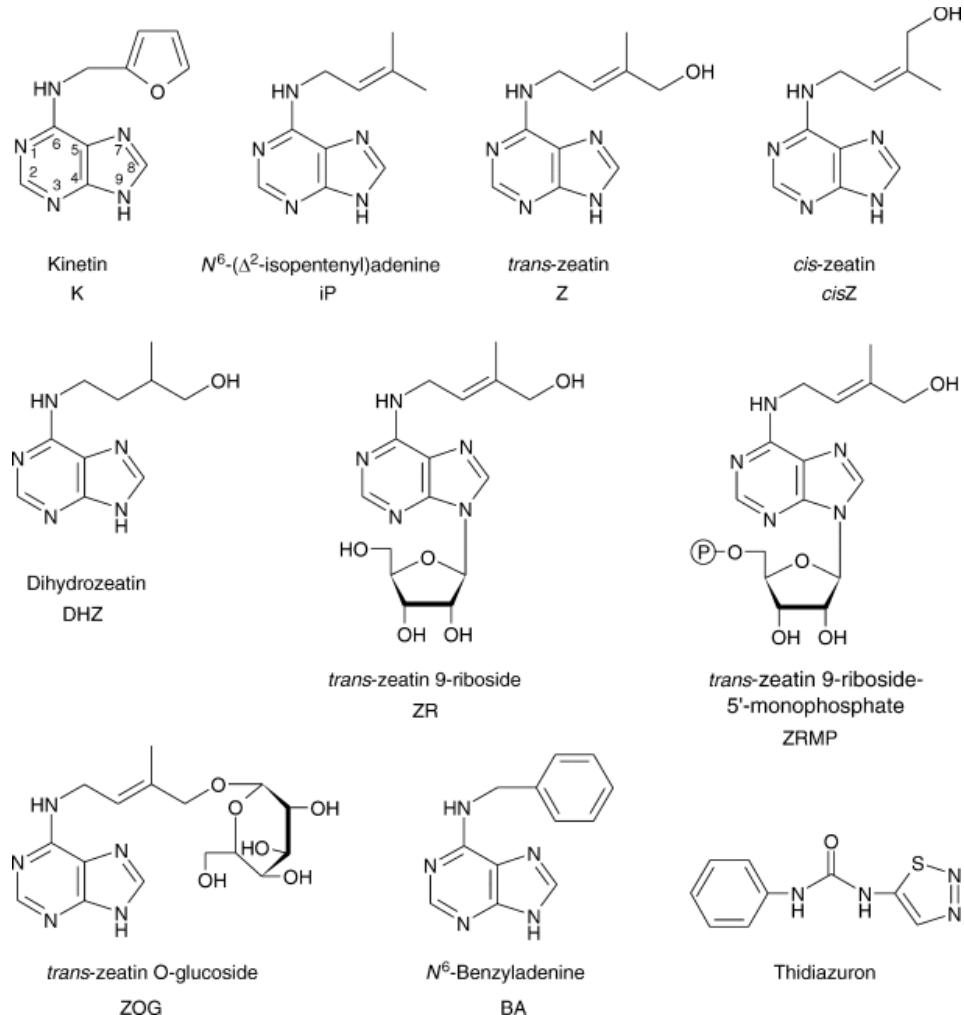
Penemu hormon sitokinin adalah Van Overbeek. Hormon sitokinin disintesis dalam akar dan diangkut ke organ lain. Fungsi hormon Sitokinin adalah:

- a) Bersama auksin, dan giberelin merangsang pembelahan dan pemanjangan
- b) Menghambat dominansi apikal oleh auksin
- c) Merangsang pemanjangan titik tumbuh
- d) Mematahkan dormansi biji serta merangsang pertumbuhan embrio.
- e) Merangsang pembentukan akar
- f) Merangsang pembentukan tunas pada kultur jaringan (antagonis dengan auksin)
- g) Menghambat pertumbuhan akar adventif
- h) Menghambat proses penuaan (senescence) daun, bunga dan buah dengan mengontrol proses kemunduran yang menyebabkan kematian sel-sel pada organ tersebut.

Sitokinin yang biasa digunakan dalam media kultur termasuk **BAP** (6-benzyloaminopurine), **2iP** (6-dimethylaminopurine), **kinetin** (N-2-furanylmethyl-1H-purine-6-amine), **Zeatin** (6-4-hydroxy-3-methyl-trans-2-butenylaminopurine) dan **TDZ** (thiazuron-N-phenyl-N-1,2,3 thiadiazol-5ylurea). Zeatin dan 2iP adalah sitokinin alami dan zeatin lebih efektif. Pada media kultur, sitokinin terbukti dapat merangsang pembelahan sel, menginduksi pembentukan tunas dan proliferasi tunas aksiler serta menghambat pembentukan akar. Sitokinin merupakan senyawa yang relatif stabil dalam media kultur dan dapat disimpan dalam keadaan kering pada suhu -20 °C. Sitokinin sering dilaporkan sukar larut dan terkadang penambahan beberapa tetes 1NHCl atau NaOH 1N mempermudah pelarutannya. Sitokinin dapat dilarutkan dalam sejumlah kecil dimetilsulfoksida (DMSO) tanpa melukai jaringan tanaman. DMSO memiliki keuntungan tambahan karena bertindak sebagai agen



sterilisasi; sehingga larutan stok yang mengandung DMSO dapat ditambahkan langsung ke media kultur steril. Struktur kimia yang sering digunakan dalam media kultur jaringan tanaman diberikan pada Gambar 3.4 .



**Gambar 4.4.** Struktur Kimia Beberapa Sitokinin, BA, Benziladenin, IPA Dimethylallylamino Purine

### 3. Giberelin

Studi hormon giberelin awalnya dilakukan oleh Eiichi Kurosawa pada tanaman padi di tahun 1926. Kemudian hormon ini diidentifikasi oleh Teijiro Yabuta (yang memberi nama giberelin) dan Sumuki pada sampel padi yang



terdapat cendawan Gibberella fujikuroi milik Kurokawa pada tahun 1935. Hormon giberelin disintesis di meristem tunas apikal dan akar, daun muda dan embrio. Fungsi hormon giberelin adalah:

- a. Merangsang pemanjangan batang dan pembelahan sel
- b. Merangsang perkembahan biji
- c. Memecah dormansi biji (berkebalikan dengan asam absisat)
- d. Merangsang pembungaan dan pembuahan
- e. Merangsang pembentukan buah tanpa biji (partenokarpia)

Giberelin terdiri lebih dari dua puluh senyawa, di mana GA<sub>3</sub> adalah giberelin yang paling sering digunakan. Senyawa ini meningkatkan pertumbuhan kalus dan membantu pemanjangan planlet kerdil. Giberelin berfungsi memperpanjang batang dan meningkatkan pertumbuhan vegetatif. Jenis yang umum digunakan adalah GA<sub>3</sub> (Gibberellic acid), biasanya dalam konsentrasi rendah (0,1–1 mg/L).

Zat pengatur tumbuh lainnya terkadang ditambahkan ke media kultur jaringan tanaman sebagai asam absisat, senyawa yang biasanya ditambahkan untuk menghambat atau merangsang pertumbuhan kalus, tergantung pada spesiesnya. Ini meningkatkan proliferasi tunas dan menghambat tahap selanjutnya dari perkembangan embrio. Meskipun zat pengatur tumbuh adalah bahan medium yang paling mahal, zat tersebut memiliki pengaruh yang kecil terhadap biaya medium karena dibutuhkan dalam konsentrasi yang sangat kecil.

#### 4. Inhibitor Pertumbuhan

Beberapa senyawa seperti **asam absisat (ABA)** digunakan untuk menghambat pertumbuhan, menginduksi dormansi, atau membantu proses pematangan embrio somatik. Penemu hormon asam absisat adalah P. F. Wareing dan F.T. Addicott. Hormon asam absisat dihasilkan pada daun, batang, akar, dan buah hijau. fungsi hormon asam absisat (ABA) adalah:

- a. Mengurangi laju kecepatan pembelahan dan pemanjangan sel di daerah titik tumbuh.
- b. Memacu gugurnya daun pada saat musim kemarau untuk mengurangi penguapan air.
- c. Membantu menutupnya stomata daun agar mengurangi penguapan
- d. Mengurangi laju kecepatan pembelahan dan pemanjangan sel dan bahkan menghentikannya.
- e. Memicu bermacam-macam sel tumbuhan untuk memproduksi gas etilen.
- f. Menyebabkan dormansi pada biji agar tidak berkecambah (kebalikan dengan giberelin).

#### 4.5. Rasio Hormon Terhadap Arah Pertumbuhan



Interaksi antara auksin dan sitokinin menentukan pola diferensiasi jaringan tanaman:

- **Auksin tinggi : Sitokinin rendah → pembentukan akar**
- **Auksin rendah : Sitokinin tinggi → pembentukan tunas**
- **Auksin seimbang : Sitokinin seimbang → pembentukan kalus**

Prinsip ini menjadi dasar dalam pengaturan komposisi hormon pada berbagai tahap kultur, misalnya pada media inisiasi, multiplikasi, dan organogenesis. Setiap spesies tanaman memiliki kebutuhan nutrisi dan respons hormonal yang berbeda. Oleh karena itu, penyesuaian media sering dilakukan, antara lain dengan:

- Modifikasi konsentrasi nitrogen (misalnya, media MS rendah garam untuk tanaman berkayu).
- Penambahan bahan organik alami seperti air kelapa (mengandung sitokinin alami).
- Penggunaan arang aktif untuk menyerap senyawa toksik pada kultur anggrek atau pisang.
- Penyesuaian cahaya, suhu, dan kelembapan sesuai karakter tanaman.

#### 4.6. Media Kultur Jaringan Komersial

Media siap pakai (*commercial media*) kini banyak digunakan karena praktis dan konsisten dalam kualitas.

Beberapa contoh yang umum di pasaran:

Nama Media Komersial	Produsen / Merek Dagang	Kegunaan Utama
MS (Murashige & Skoog)	HiMedia, PhytoTech, Duchefa	Media umum untuk berbagai tanaman herba, sayur, dan anggrek. Cocok untuk inisiasi hingga aklimatisasi.
Gamborg's B5	Sigma-Aldrich, Duchefa	Didesain untuk kultur suspensi sel dan jaringan kalus (misalnya kacang-kacangan).
Nitsch & Nitsch (NN)	Duchefa, Caisson	Digunakan untuk kultur serbuk sari dan produksi haploid.
White's Medium	PhytoTech, HiMedia	Media awal untuk kultur akar dan jaringan kayu.



Nama Media Komersial	Produsen / Merek Dagang	Kegunaan Utama
Linsmaier & Skoog (LS)	Sigma, Duchefa	Modifikasi MS dengan vitamin berbeda; cocok untuk tembakau dan spesies Solanaceae.
Woody Plant Medium (WPM)	PhytoTech	Dikhususkan untuk tanaman berkayu seperti teh, kopi, dan pohon buah.
Knudson C / Vacin & Went (VW)	HiMedia	Media klasik untuk biji dan protocorm anggrek.

Keterangan tambahan:

- Media komersial tersedia dalam bentuk **bubuk siap larut**, cukup ditimbang sesuai petunjuk (biasanya 4,3–5 g per liter air suling), disesuaikan pH-nya (5,6 ± 0,2), kemudian ditambah agar dan disterilkan.
- Keunggulan: menghemat waktu, mengurangi kesalahan penimbangan, dan menjamin konsistensi antar batch.
- Kekurangan: biaya lebih tinggi dan fleksibilitas modifikasi terbatas.

## 4.7. Pemilihan Media

Media kultur jaringan pada dasarnya dirancang untuk menyediakan seluruh unsur hara, vitamin, dan zat pengatur tumbuh yang diperlukan jaringan tanaman *in vitro*. Namun, setiap spesies tanaman memiliki kebutuhan fisiologis yang berbeda-beda, baik dalam hal konsentrasi unsur hara, jenis sumber karbon, maupun komposisi hormon. Oleh karena itu, media standar seperti Murashige dan Skoog (MS) sering kali perlu dimodifikasi agar sesuai dengan karakter tanaman yang dikulturkan.

Perbedaan kebutuhan tersebut disebabkan oleh keragaman metabolisme dan tingkat diferensiasi jaringan tanaman. Tanaman herba umumnya membutuhkan konsentrasi garam mineral yang tinggi untuk mendukung pertumbuhan cepat, sedangkan tanaman berkayu lebih sensitif terhadap salinitas dan memerlukan media dengan kandungan garam yang lebih rendah. Selain itu, jenis jaringan yang digunakan sebagai eksplan (daun, batang, akar, embrio, atau meristem) juga memengaruhi respons terhadap komposisi media.

Beberapa contoh penyesuaian media yang umum dilakukan antara lain:



1. **Tanaman berkayu** seperti kopi, teh, dan kakao biasanya memerlukan media dengan konsentrasi garam rendah, misalnya **Woody Plant Medium (WPM)** atau **Driver and Kuniyuki Walnut (DKW)**. Media ini mengandung nitrogen total lebih rendah dibandingkan MS, sehingga lebih sesuai dengan kebutuhan metabolismik tanaman berkayu yang tumbuh lambat.
2. **Tanaman herba** seperti tembakau, tomat, dan sayuran daun umumnya tumbuh baik pada media **MS penuh (100%)** karena toleran terhadap kadar nitrogen tinggi.
3. **Tanaman anggrek dan tanaman hias** memerlukan sumber organik tambahan seperti **air kelapa, ekstrak kentang, atau pepton**, yang kaya vitamin dan hormon alami. Pada biji anggrek yang tidak memiliki endosperma, media **Knudson C** atau **Vacin & Went (VW)** sering digunakan untuk mendukung perkecambahan.
4. **Tanaman tropis atau buah-buahan** seperti pisang dan nanas lebih responsif terhadap media **MS setengah kekuatan ( $\frac{1}{2}$  MS)** dengan penambahan sitokinin (BA atau kinetin) untuk merangsang multiplikasi tunas.
5. **Tanaman leguminosae** (kacang-kacangan) sering memerlukan **media Gamborg's B5**, yang memiliki rasio  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  berbeda dan lebih kaya vitamin dibanding MS, sehingga lebih cocok untuk pembentukan kalus dan suspensi sel.

Selain nutrisi, penyesuaian **rasio hormon** juga krusial. Setiap spesies menunjukkan reaksi khas terhadap kombinasi auksin dan sitokinin. Misalnya, kalus *Daucus carota* (wortel) dapat membentuk embrio somatik pada kombinasi auksin rendah (2,4-D 0,1 mg/L), sementara kultur tembakau membutuhkan sitokinin tinggi untuk multiplikasi tunas.

Faktor lingkungan juga turut memengaruhi keberhasilan media, seperti intensitas cahaya, suhu, dan pH. Sebagian besar tanaman tropis tumbuh optimal pada suhu  **$25 \pm 2^\circ\text{C}$**  dan pH  **$5,6 \pm 0,2$** , namun spesies berkayu tertentu memerlukan pencahayaan redup untuk mengurangi stres oksidatif pada jaringan muda.

Dengan demikian, keberhasilan kultur jaringan tidak hanya ditentukan oleh tersedianya nutrisi, tetapi juga oleh **kecocokan antara komposisi media dan karakter biologis tanaman**. Kemampuan menyesuaikan media dengan kebutuhan spesifik tanaman menjadi salah satu keterampilan penting yang harus dimiliki oleh praktisi kultur jaringan di laboratorium modern.

Untuk penetapan protokol baru untuk tujuan tertentu dalam kultur jaringan, media yang cocok diformulasikan lebih baik dengan menguji penambahan individu dari serangkaian konsentrasi senyawa yang diberikan ke media basal universal seperti MS, LS atau B5. Variabel yang paling efektif dalam media kultur jaringan tanaman adalah zat pengatur tumbuh, terutama auksin dan sitokinin. Kekuatan penuh garam dalam media terbukti baik untuk beberapa spesies, tetapi pada beberapa spesies pengurangan kadar garam hingga atau konsentrasi penuh memberikan hasil yang lebih baik dalam *vitropertumbuhan*.



Sukrosa sering dianggap sebagai sumber karbon terbaik untuk kultur in vitro, kadar yang digunakan adalah dari 2 hingga 6% dan kadarnya harus ditentukan untuk setiap spesies.

## 4.8. Latihan Soal

### A. Pilihan Ganda (berpikir analitis-aplikatif)

Pilihlah jawaban yang paling tepat!

1. Media Murashige dan Skoog (MS) memiliki kadar nitrogen dan kalium yang tinggi dibandingkan media lain. Kondisi ini paling sesuai digunakan untuk:
  - a. Tanaman berkayu seperti teh dan kopi
  - b. Tanaman herba seperti tembakau dan tomat
  - c. Tanaman sukulen seperti kaktus
  - d. Tanaman anggrek dari biji

**KKO:** Menganalisis – Menentukan media yang sesuai dengan jenis tanaman.

2. Jika konsentrasi auksin tinggi dan sitokinin rendah pada media kultur, maka arah perkembangan jaringan yang paling mungkin terjadi adalah:

- a. Pembentukan tunas
- b. Pembentukan akar
- c. Pembentukan kalus seimbang
- d. Pembentukan embrio somatik

**KKO:** Menganalisis – Menafsirkan pengaruh rasio hormon terhadap diferensiasi jaringan.

3. Seorang mahasiswa melakukan kultur kalus wortel (*Daucus carota*) dengan media MS yang mengandung 2,4-D 0,1 mg/L. Setelah beberapa minggu, kalus mulai membentuk embrio somatik. Faktor fisiologis yang paling berperan dalam proses ini adalah:

- a. Kadar gula yang tinggi
- b. Rasio nitrogen tinggi
- c. Konsentrasi auksin rendah
- d. pH media yang basa

**KKO:** Menganalisis – Menghubungkan konsentrasi hormon dengan organogenesis.

4. Mengapa media Gamborg's B5 lebih cocok untuk tanaman leguminosae dibanding media MS?

- a. Mengandung garam yang lebih tinggi
- b. Rasio  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  yang berbeda dan kaya vitamin
- c. Tidak memerlukan sumber karbon eksternal



- d. Mengandung air kelapa sebagai hormon alami

**KKO:** Menalar – *Membedakan karakter nutrisi media berdasarkan spesies tanaman.*

5. Seorang praktikan menggunakan media MS padat dengan agar 0,2%. Setelah beberapa hari, eksplan tenggelam dan mengalami busuk. Kesalahan utama yang dilakukan adalah:
  - a. pH media terlalu asam
  - b. Konsentrasi agar terlalu rendah
  - c. Sukrosa berlebih dalam media
  - d. Sterilisasi berlebihan

**KKO:** Mengevaluasi – *Mengidentifikasi kesalahan teknis dalam persiapan media.*

---

#### **B. Uraian Singkat (berpikir analitis-evaluatif)**

1. Jelaskan **mengapa tanaman berkayu** seperti teh atau kakao tidak tumbuh optimal pada media MS penuh. Sertakan alasan fisiologisnya!

*(KKO: Menganalisis)*

2. Berikan **contoh kasus** modifikasi media kultur untuk tanaman tertentu (misalnya anggrek atau pisang), dan jelaskan **alasan ilmiah** di balik penambahan bahan organik seperti air kelapa atau pepton.

*(KKO: Mengevaluasi & Menerapkan)*

3. Analisis hubungan antara **rasio auksin dan sitokinin** terhadap **arah pertumbuhan jaringan tanaman**. Sertakan contoh kombinasi hormon yang umum digunakan!

*(KKO: Menganalisis)*

4. Mengapa nilai pH media harus dijaga antara 5,4–5,8 sebelum proses sterilisasi? Apa yang terjadi jika pH terlalu tinggi atau terlalu rendah?

*(KKO: Menjelaskan & Mengevaluasi)*

5. Buatlah **tabel perbandingan tiga jenis media komersial (MS, WPM, dan B5)** yang mencakup tujuan penggunaan, jenis tanaman yang cocok, dan keunggulannya masing-masing.

*(KKO: Mensintesis – Mengorganisasi informasi untuk aplikasi praktis)*

---

#### **C. Soal Proyek Mini (Capaian C4-C5)**

Rancanglah satu formulasi media kultur jaringan sederhana untuk tanaman hias tropis (misalnya *Anthurium* atau *Syngonium*). Tuliskan alasan ilmiah



untuk setiap komponen yang Anda pilih (makronutrien, sumber karbon, dan hormon).



## BAB V. TEKNIK STERILISASI DAN PERSIAPAN EKSPLAN

Sub CPMK	Mahasiswa mampu menjelaskan prinsip dan prosedur teknik sterilisasi eksplan serta melakukan tahapan persiapan eksplan dengan benar dan sesuai SOP aseptik.
Tujuan	<p>Setelah mempelajari bab ini, mahasiswa diharapkan mampu:</p> <ol style="list-style-type: none"><li>1. Menjelaskan tujuan dan pentingnya sterilisasi dalam kultur jaringan.</li><li>2. Menyebutkan jenis-jenis kontaminan dan sumbernya.</li><li>3. Mengidentifikasi bahan dan larutan yang digunakan dalam proses sterilisasi.</li><li>4. Menguraikan tahapan prosedur sterilisasi eksplan.</li><li>5. Menentukan konsentrasi dan lama perendaman larutan sterilisasi sesuai jenis eksplan.</li><li>6. Melakukan praktik persiapan eksplan dan sterilisasi sesuai prinsip aseptik.</li></ol>



## 5.1. Pendahuluan

Sterilisasi alat dan bahan merupakan salah satu tahap paling krusial dalam prosedur kultur jaringan tanaman. Kultur jaringan dilakukan dalam kondisi aseptik atau bebas mikroorganisme agar pertumbuhan eksplan dapat berlangsung optimal tanpa gangguan dari kontaminan seperti bakteri, jamur, atau ragi. Jika tahap sterilisasi dilakukan secara tidak tepat, maka risiko kegagalan kultur akan meningkat secara signifikan akibat munculnya kontaminasi yang menghambat atau bahkan membunuh jaringan tanaman yang sedang dikulturkan.

Kontaminasi dalam kultur jaringan bukan hanya mengganggu pertumbuhan eksplan, tetapi juga menyebabkan pemborosan waktu, biaya, dan sumber daya. Oleh karena itu, pemahaman menyeluruh mengenai prinsip dan teknik sterilisasi sangat penting dimiliki oleh setiap praktisi atau mahasiswa yang mempelajari kultur jaringan.

Selain itu, sterilisasi juga merupakan bagian integral dari praktik kerja aseptik, yang mencakup kebersihan personal, sterilisasi alat dan ruang kerja, serta penanganan eksplan dengan prosedur yang steril. Dalam lingkungan laboratorium kultur jaringan, standar prosedur operasional (SOP) sangat diperlukan untuk menjamin bahwa setiap proses dilakukan secara konsisten dan sesuai protokol yang terbukti efektif.

Proses sterilisasi tidak hanya melibatkan alat dan media kultur, tetapi juga eksplan atau jaringan tanaman yang akan digunakan. Eksplan yang berasal dari tanaman lapangan atau rumah kaca biasanya membawa mikroorganisme dari permukaan atau bahkan dari dalam jaringannya (endofit). Oleh karena itu, teknik sterilisasi eksplan harus dirancang secara hati-hati agar cukup efektif membasmikan mikroba namun tidak merusak jaringan tanaman itu sendiri.

## 5.2. Tujuan dan Prinsip Sterilisasi

Sterilisasi merupakan proses penghilangan atau pembunuhan mikroorganisme yang bersifat patogen maupun saprofit yang terdapat pada alat, media, ruang kerja, atau eksplan. Dalam konteks kultur jaringan tanaman, proses ini sangat penting karena mikroorganisme yang tidak terlihat secara kasat mata dapat tumbuh dan berkembang biak dengan cepat dalam media nutrisi, sehingga mengganggu atau bahkan menghentikan pertumbuhan eksplan.

### 1. Tujuan Sterilisasi

Tujuan utama dari sterilisasi dalam kultur jaringan adalah:

- a) **Menghilangkan kontaminasi** dari bakteri, jamur, dan ragi yang dapat merusak jaringan tanaman dan mencemari media kultur.



- b) **Menjaga kondisi aseptik** selama proses inokulasi dan pertumbuhan eksplan, agar kultur dapat berlangsung tanpa gangguan biologis dari luar.
- c) **Memastikan validitas hasil** kultur, terutama dalam penelitian, karena kehadiran mikroorganisme asing dapat memengaruhi interpretasi data atau menyebabkan kegagalan percobaan.
- d) **Meningkatkan efisiensi waktu dan sumber daya**, karena kontaminasi yang terjadi berulang kali dapat menyebabkan pengulangan eksperimen, pemborosan bahan kimia, media, dan waktu tenaga laboratorium.

## 2. Prinsip Dasar Sterilisasi

Prinsip dasar dari sterilisasi adalah:

- **Inaktivasi atau destruksi mikroorganisme** melalui berbagai metode fisik atau kimia tanpa merusak jaringan tanaman atau fungsi alat.
- **Aplikasi suhu tinggi, tekanan, atau bahan kimia** untuk menghancurkan dinding sel mikroba, protein, atau materi genetiknya.
- **Dilakukan sebelum atau selama manipulasi eksplan** untuk menjaga kondisi aseptik hingga eksplan tumbuh pada media.

## 3. Metode sterilisasi

- **Sterilisasi panas kering** dengan oven (160–180°C selama 2 jam) untuk alat gelas dan logam.
- **Sterilisasi panas basah** menggunakan autoklaf (121°C, 15 psi selama 15–30 menit) untuk media, larutan, dan alat tahan panas.
- **Sterilisasi kimia** menggunakan alkohol, larutan klorin ( $\text{NaOCl}$ ), hidrogen peroksida ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), atau merkuri klorida ( $\text{HgCl}_2$ ) untuk eksplan dan permukaan.
- **Sterilisasi fisik tambahan** seperti nyala api bunsen untuk sterilisasi cepat alat kecil saat bekerja, serta sinar UV untuk dekontaminasi ruang LAF sebelum digunakan.

Setiap metode memiliki keunggulan dan keterbatasan, tergantung pada jenis bahan yang disterilkan, sensitivitas jaringan tanaman, dan tingkat kontaminasi awal. Oleh karena itu, pemilihan metode sterilisasi harus disesuaikan secara cermat dengan kebutuhan eksperimen.

### 5.3. Jenis-Jenis Kontaminan dalam Kultur Jaringan

Kontaminasi adalah salah satu penyebab utama kegagalan dalam kultur jaringan tanaman. Meskipun semua prosedur sterilisasi telah dilakukan,



kontaminasi masih dapat terjadi akibat berbagai faktor, seperti prosedur yang tidak aseptik, eksplan yang terlalu kotor, atau alat yang tidak steril sempurna. Oleh karena itu, penting untuk mengenali jenis-jenis kontaminan yang umum dijumpai agar dapat mengidentifikasi sumber masalah dan menentukan langkah perbaikannya.

Berikut adalah jenis-jenis kontaminan yang sering ditemukan dalam kultur jaringan:

### 1. Bakteri

Bakteri merupakan kontaminan yang sangat umum dan mudah berkembang dalam media yang kaya nutrisi seperti media kultur jaringan. Ciri-ciri umum kontaminasi bakteri:

- Media menjadi keruh atau berubah warna.
  - Kadang disertai bau asam atau busuk.
  - Pertumbuhan cepat, biasanya terlihat dalam 1–3 hari setelah inokulasi.
- Sumber kontaminasi bakteri biasanya berasal dari:
- Eksplan yang tidak disterilkan sempurna.
  - Alat yang tidak bersih.
  - Tangan operator atau lingkungan kerja.

### 2. Jamur (Fungi)

Jamur juga sering muncul dalam kultur jaringan. Kontaminasi jamur dapat berkembang sangat cepat dan merusak eksplan karena persaingan nutrien dan toksin yang dihasilkan.

Ciri-ciri kontaminasi jamur:

- Muncul miselium berwarna putih, abu-abu, atau bahkan hitam.
- Bisa berbentuk bulat seperti kapas atau menyebar seperti jaring.
- Tumbuh dari titik-titik tertentu, kadang berasal dari jaringan eksplan atau permukaan media.

Jamur dapat berasal dari udara, eksplan, atau alat yang tidak steril.

### 3. Ragi (Yeast)

Ragi adalah jamur uniseluler yang bersifat fermentatif. Meskipun lebih jarang ditemukan dibandingkan bakteri dan jamur, ragi tetap dapat mengganggu pertumbuhan eksplan.

Ciri kontaminasi ragi:

- Menghasilkan gelembung atau gas.
- Media bisa berbau fermentasi.
- Kadang terlihat sebagai koloni berwarna krem atau putih.

### 4. Endofit



Endofit adalah mikroorganisme (baik bakteri maupun jamur) yang hidup di dalam jaringan tanaman secara alami dan tidak selalu menunjukkan gejala infeksi pada tanaman in vivo. Namun, dalam kondisi kultur in vitro, endofit bisa berkembang menjadi patogen.

Ciri kontaminasi endofit:

- Tidak muncul pada awal inkubasi, tapi muncul setelah 5–10 hari.
- Pertumbuhan perlahan, kadang tidak langsung terlihat.
- Sering sulit dieliminasi meskipun eksplan telah disterilkan.

Untuk mengatasi endofit, sering dibutuhkan perlakuan pre-treatment seperti perendaman eksplan dalam antibiotik atau fungisida sistemik sebelum proses sterilisasi standar.

## 5. Pentingnya Identifikasi Kontaminan

Mengenali jenis kontaminan secara cepat sangat penting untuk:

- Mengambil tindakan pencegahan dini.
- Menyesuaikan metode sterilisasi untuk eksplan serupa di masa depan.
- Menentukan apakah media, ruang kerja, atau eksplan yang perlu dievaluasi ulang.

### 5.4. Teknik Sterilisasi Alat dan Media

Sterilisasi alat dan media merupakan langkah fundamental dalam kultur jaringan tanaman. Kegiatan ini bertujuan untuk memastikan bahwa semua komponen yang bersentuhan dengan eksplan bebas dari mikroorganisme kontaminan. Alat-alat seperti botol kultur, pinset, scalpel, serta media pertumbuhan yang kaya nutrisi sangat rentan menjadi tempat tumbuh mikroba jika tidak disterilkan dengan benar. Maka dari itu, pemilihan metode sterilisasi harus disesuaikan dengan karakteristik bahan yang akan disterilkan.

Salah satu metode yang paling umum adalah **sterilisasi panas kering menggunakan oven**. Metode ini digunakan untuk mensterilkan alat berbahan logam dan kaca seperti botol kultur, tabung reaksi, dan scalpel. Proses dilakukan pada suhu 160–180°C selama 2 jam. Alat yang telah disterilkan harus disimpan dalam kondisi tertutup rapat agar tidak terkontaminasi kembali. Untuk bahan yang mengandung air seperti media kultur atau larutan nutrisi, digunakan **sterilisasi panas basah dengan autoklaf**. Autoklaf bekerja menggunakan uap air bertekanan pada suhu 121°C dan tekanan 15 psi selama 15–30 menit. Prosedur ini sangat efektif untuk mensterilkan media karena mampu membunuh mikroorganisme beserta sporanya.

Dalam proses inokulasi eksplan, alat seperti pinset dan scalpel harus disterilkan ulang setiap kali digunakan. Hal ini dilakukan dengan teknik **flaming**, yaitu memanaskan ujung alat di atas nyala api bunsen hingga pijar. Teknik ini



sederhana namun sangat efektif menjaga kondisi aseptik selama proses inokulasi berlangsung. Selain alat, **permukaan kerja dan tangan operator** juga harus disterilkan menggunakan **alkohol 70%**. Alkohol efektif membunuh mikroba dan digunakan untuk menyeka permukaan Laminar Air Flow (LAF), tangan, tutup botol, dan semua benda yang masuk ke dalam ruang kerja steril.

Beberapa laboratorium juga menggunakan **lampu ultraviolet (UV)** di dalam LAF untuk mensterilkan udara dan permukaan sebelum digunakan. Lampu UV dinyalakan selama 15–30 menit sebelum kegiatan dilakukan. Walau sinar UV hanya efektif pada permukaan yang langsung terpapar, penggunaannya sangat membantu menurunkan risiko kontaminasi udara. Pemilihan teknik sterilisasi harus mempertimbangkan jenis bahan, daya tahan terhadap panas, serta efisiensi waktu dan tenaga. Kombinasi metode yang tepat akan meningkatkan keberhasilan kultur dan menurunkan risiko kontaminasi.

#### Poin-Poin Penting

- **Sterilisasi panas kering (oven)** → alat gelas/logam, suhu 160–180°C selama 2 jam.
- **Sterilisasi basah (autoklaf)** → media/larutan, 121°C, 15 psi, 15–30 menit.
- **Flaming (nyala bunsen)** → sterilisasi ulang pinset, scalpel saat inokulasi.
- **Alkohol 70%** → digunakan untuk permukaan alat, tangan, dan ruang kerja.
- **UV (ultraviolet)** → tambahan sterilisasi ruang LAF sebelum digunakan.

## 5.5. Prosedur Sterilisasi Eksplan

Eksplan merupakan bagian tanaman yang akan ditanam secara in vitro ke dalam media kultur. Karena eksplan berasal dari lingkungan terbuka, permukaannya sering terkontaminasi oleh berbagai mikroorganisme seperti bakteri, jamur, ragi, dan bahkan endofit. Oleh karena itu, sterilisasi eksplan adalah langkah kritis untuk memastikan eksplan tetap hidup, sehat, dan bebas kontaminasi selama kultur berlangsung. Prosedur sterilisasi eksplan harus dilakukan dengan hati-hati dan disesuaikan dengan jenis jaringan tanaman. Misalnya, daun dan jaringan lunak memerlukan perlakuan yang lebih lembut dibandingkan biji atau batang yang memiliki lapisan pelindung keras. Tujuan utama dari sterilisasi ini adalah untuk membunuh mikroorganisme patogen tanpa merusak jaringan eksplan secara fisiologis.

Langkah awal dalam sterilisasi eksplan adalah **pencucian awal dengan air sabun**, biasanya dilakukan selama 10–15 menit sambil digosok lembut untuk menghilangkan kotoran, debu, dan mikroorganisme yang menempel di permukaan. Setelah itu, eksplan dibilas bersih dengan akuades untuk menghilangkan sisa sabun. Langkah berikutnya dapat berupa **perendaman**



dalam fungisida seperti Benlate (0.1%) selama 15–30 menit untuk mencegah pertumbuhan jamur, terutama jika eksplan berasal dari lapangan. Setelah itu, eksplan direndam dalam **alkohol 70%** selama 30–60 detik. Alkohol bertindak sebagai desinfektan cepat yang menghancurkan membran sel mikroba, namun tidak cukup kuat untuk mengeliminasi semua jenis kontaminan.

Setelah alkohol, eksplan direndam dalam **larutan disinfektan utama** seperti natrium hipoklorit ( $\text{NaOCl}$ ) 1–3%, larutan hidrogen peroksida ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) 3–10%, atau larutan merkuri klorida ( $\text{HgCl}_2$ ) 0.1%. Perendaman dilakukan selama 5–15 menit tergantung pada jenis eksplan. Misalnya, eksplan keras seperti biji dapat direndam lebih lama dan pada konsentrasi lebih tinggi dibandingkan jaringan lunak seperti daun.

Setelah proses desinfeksi, eksplan harus dibilas 3–5 kali menggunakan **akuades steril** untuk memastikan tidak ada residu bahan kimia yang tersisa. Proses bilas ini sangat penting karena sisa disinfektan dapat bersifat toksik bagi jaringan eksplan jika tidak dibersihkan dengan baik. Setelah tahap pembilasan, eksplan siap untuk **inokulasi ke media kultur** di dalam ruang aseptik (LAF). Seluruh proses sterilisasi eksplan harus dilakukan dengan teknik aseptik yang ketat agar tidak terjadi rekontaminasi.

## 5.6. Faktor Keberhasilan Sterilisasi

Keberhasilan proses sterilisasi dalam kultur jaringan tidak hanya ditentukan oleh jenis larutan atau alat sterilisasi yang digunakan, tetapi juga dipengaruhi oleh berbagai faktor lain yang saling berkaitan. Memahami faktor-faktor ini sangat penting untuk mengoptimalkan teknik sterilisasi, terutama agar proses desinfeksi efektif dalam membunuh mikroorganisme tanpa merusak eksplan.

Salah satu faktor utama adalah **jenis eksplan**. Jaringan tanaman yang lunak seperti daun dan kuncup muda lebih rentan rusak terhadap bahan kimia sterilisasi dibandingkan jaringan keras seperti biji, batang, atau embrio. Oleh karena itu, waktu dan konsentrasi larutan harus disesuaikan. Misalnya, perendaman daun dalam  $\text{NaOCl}$  terlalu lama dapat menyebabkan nekrosis atau penguningan jaringan.

Faktor kedua adalah **derajat kontaminasi awal**, yang biasanya berkaitan dengan lingkungan tumbuh tanaman induk. Tanaman yang tumbuh di lingkungan terbuka seperti kebun atau lapangan lebih berisiko membawa kontaminasi tinggi dibandingkan tanaman rumah kaca atau tanaman pot. Eksplan dari tanaman lapangan biasanya memerlukan perendaman fungisida tambahan atau penggunaan larutan sterilisasi yang lebih kuat.

Selanjutnya adalah **konsentrasi dan waktu perendaman**, yang harus dioptimalkan untuk setiap jenis eksplan. Konsentrasi larutan yang terlalu rendah tidak efektif membunuh mikroorganisme, sementara konsentrasi yang terlalu



tinggi dapat menyebabkan kerusakan jaringan. Demikian pula, waktu perendaman yang terlalu singkat tidak cukup untuk sterilisasi, sedangkan waktu yang terlalu lama dapat menyebabkan eksplan rusak atau mati.

**Kondisi fisiologis eksplan** juga memengaruhi keberhasilan sterilisasi. Eksplan yang terlalu tua, rusak, atau luka akan lebih mudah terkontaminasi dan lebih sulit untuk disterilkan secara sempurna. Selain itu, jaringan yang luka akan lebih mudah menyerap bahan kimia, meningkatkan risiko fitotoksitas.

Terakhir, faktor **keterampilan dan kedisiplinan operator** sangat menentukan. Teknik aseptik yang dilakukan secara konsisten, penggunaan alat yang steril, serta urutan kerja yang benar sangat berpengaruh dalam mencegah rekontaminasi setelah eksplan disterilkan. Bahkan prosedur kecil seperti menyentuh eksplan dengan pinset yang tidak diflaming dapat menyebabkan kontaminasi silang.

## 5.7. Kesalahan Umum dan Pemecahan Masalah

Dalam praktik kultur jaringan, kegagalan sterilisasi merupakan salah satu penyebab utama tidak berhasilnya kultur. Meskipun prosedur sterilisasi telah dilakukan, kontaminasi tetap dapat muncul karena berbagai kesalahan teknis maupun ketidaksesuaian perlakuan terhadap eksplan. Oleh karena itu, penting bagi mahasiswa dan praktisi laboratorium untuk memahami kesalahan umum yang sering terjadi serta cara mengatasinya (troubleshooting).

Salah satu kesalahan paling umum adalah **kontaminasi yang muncul dalam 1-3 hari pertama** setelah inokulasi. Hal ini biasanya menandakan bahwa proses sterilisasi tidak cukup efektif. Penyebabnya bisa berasal dari konsentrasi larutan yang terlalu rendah, waktu perendaman yang kurang lama, atau larutan sterilisasi yang sudah tidak aktif (kedaluwarsa). Dalam kasus ini, solusinya adalah mengevaluasi ulang SOP dan mencoba meningkatkan konsentrasi atau durasi perendaman eksplan secara bertahap.

Sebaliknya, apabila **eksplan tampak rusak, berubah warna, atau menjadi nekrosis setelah inokulasi**, kemungkinan disebabkan oleh perlakuan sterilisasi yang terlalu keras. Misalnya, penggunaan larutan NaOCl atau H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dengan konsentrasi tinggi atau perendaman terlalu lama dapat merusak jaringan tanaman, terutama jaringan muda seperti daun atau tunas. Solusinya adalah menurunkan konsentrasi larutan atau mempersingkat waktu perendaman, dan menggunakan bahan pelindung jaringan seperti antioksidan bila diperlukan.

Kasus lain yang sering terjadi adalah **kontaminasi lambat (delayed contamination)**, yang baru muncul setelah 5-7 hari. Ini bisa disebabkan oleh mikroorganisme endofit yang berada di dalam jaringan eksplan. Sterilisasi permukaan saja tidak cukup untuk mengeliminasi endofit. Solusi yang dapat dilakukan antara lain: memberikan pre-treatment dengan fungisida atau antibiotik sistemik sebelum sterilisasi permukaan, menggunakan eksplan yang lebih muda, atau memilih jaringan lain yang lebih mudah disterilkan.



Selain itu, **kesalahan teknis selama manipulasi aseptik** juga menjadi penyebab kontaminasi silang. Misalnya, menyentuh eksplan dengan pinset yang belum diflaming ulang, membuka tutup botol terlalu lama di luar LAF, atau menyentuh bagian luar botol yang belum disemprot alkohol. Masalah ini dapat dicegah dengan pelatihan teknik aseptik yang ketat dan pembiasaan prosedur standar yang disiplin.

### Poin-Poin Penting Troubleshooting

Masalah	Penyebab Umum	Solusi
Kontaminasi muncul < 3 hari	Sterilisasi tidak efektif (larutan lemah, waktu singkat)	Tingkatkan konsentrasi/tambah durasi, gunakan larutan baru
Jaringan eksplan rusak/nekrosis	Larutan terlalu keras atau perendaman terlalu lama	Kurangi konsentrasi/waktu perendaman
Kontaminasi muncul > 5 hari	Endofit dalam jaringan tanaman	Tambahkan pre-treatment (fungisida/antibiotik sistemik)
Media menguning, eksplan busuk	Jaringan terinfeksi sejak awal	Ganti jenis eksplan, pilih jaringan muda
Kontaminasi silang selama inokulasi	Teknik aseptik tidak konsisten	Evaluasi ulang SOP kerja di bawah LAF

## 5.8. Latihan SOAL

### A. Soal Pilihan Ganda (Multiple Choice – HOTS)

Pilih satu jawaban paling tepat.

1. Seorang mahasiswa mengalami kontaminasi pada kultur eksplan daun dalam 2 hari pertama setelah inokulasi. Apa penyebab paling mungkin dan strategi solusinya?
  - a) Jaringan eksplan terlalu tua, ganti dengan eksplan muda
  - b) Larutan sterilisasi terlalu keras, turunkan konsentrasi
  - c) Proses sterilisasi tidak efektif, evaluasi konsentrasi dan waktu perendaman
  - d) Eksplan terkontaminasi endofit, tambahkan hormon pertumbuhan



2. Mengapa perendaman eksplan dalam alkohol 70% hanya dilakukan selama 30–60 detik?
  - a) Karena alkohol bekerja lambat dan butuh waktu lama
  - b) Karena alkohol mudah menguap dan dapat merusak jaringan lunak
  - c) Karena alkohol hanya membunuh jamur, bukan bakteri
  - d) Karena alkohol tidak efektif tanpa autoklaf
3. Endofit dalam jaringan tanaman sulit dihilangkan karena:
  - a) Hidup di permukaan eksplan
  - b) Tidak sensitif terhadap alkohol
  - c) Tersembunyi di ruang aseptik
  - d) Berada di dalam jaringan dan tidak terjangkau larutan permukaan
4. Perbedaan utama antara sterilisasi oven dan autoklaf terletak pada:
  - a) Bahan kimia yang digunakan
  - b) Jenis mikroba yang bisa dibunuh
  - c) Sumber panas dan tekanan uap
  - d) Jenis logam yang digunakan
5. Dalam kasus kultur batang muda yang sering nekrosis, tindakan paling rasional adalah:
  - a) Meningkatkan waktu perendaman larutan sterilisasi
  - b) Menurunkan konsentrasi dan memperpendek waktu perendaman
  - c) Mengganti eksplan dengan yang lebih tua
  - d) Menambah waktu penyinaran UV

---

## B. Soal Essay Analisis Kasus (HOTS Tingkat Tinggi)

Jawablah dengan analisis mendalam.

1. Seorang mahasiswa menggunakan NaOCl 3% selama 15 menit untuk mensterilkan daun tanaman dari lapangan, namun hasil kultur menunjukkan jaringan eksplan rusak dan tidak tumbuh. Analisis kemungkinan kesalahan dan ajukan dua alternatif solusi yang tepat berdasarkan prinsip kultur jaringan.
2. Dalam praktikum Anda menemukan bahwa meskipun semua alat telah disterilkan dengan autoklaf, kontaminasi jamur tetap muncul pada 50% kultur. Anda juga mengamati bahwa kontaminasi muncul dari bagian permukaan eksplan. Analisis kemungkinan penyebab dan sebutkan tahapan mana yang perlu diperbaiki.
3. Jelaskan mengapa eksplan dari tanaman rumah kaca cenderung memiliki tingkat keberhasilan sterilisasi lebih tinggi dibandingkan eksplan dari kebun terbuka. Kaitkan jawaban Anda dengan faktor lingkungan dan sumber mikroorganisme.



4. Anda ditugaskan menyusun SOP sterilisasi eksplan biji keras. Sebutkan dan jelaskan langkah-langkah rinci yang perlu dilakukan agar proses sterilisasi efektif tanpa merusak viabilitas biji.
5. Diskusikan peran teknik aseptik dalam mencegah kontaminasi silang selama proses inokulasi. Berikan contoh kesalahan kecil yang dapat berakibat besar dalam keberhasilan kultur jaringan.



## BAB VI. TEKNIK SUBKULTUR DAN AKLIMATISASI

Sub CPMK	Mahasiswa diharapkan mampu: <ol style="list-style-type: none"><li>Menjelaskan tujuan dan prinsip subkultur dalam pemeliharaan kultur in vitro.</li><li>Menentukan waktu dan frekuensi subkultur berdasarkan kondisi morfologis eksplan dan media.</li><li>Mendemonstrasikan prosedur subkultur eksplan ke media baru secara aseptik.</li><li>Menjelaskan konsep aklimatisasi dan faktor-faktor keberhasilannya.</li><li>Melakukan aklimatisasi tanaman hasil kultur dengan benar sesuai prosedur.</li></ol>
Tujuan	Mahasiswa mampu: <ol style="list-style-type: none"><li>Menguraikan pengertian dan prinsip subkultur serta tujuannya dalam pelestarian dan multiplikasi kultur.</li><li>Menentukan waktu optimal untuk melakukan subkultur berdasarkan ciri morfologis dan fisiologis eksplan.</li><li>Melakukan tahapan subkultur secara aseptik dan mendokumentasikan prosesnya.</li><li>Menjelaskan proses transisi aklimatisasi dari lingkungan in vitro ke eks vitro.</li><li>Mengevaluasi keberhasilan aklimatisasi dan mengidentifikasi penyebab kegagalannya.</li></ol>



## 6.1. Pengertian dan Tujuan Subkultur

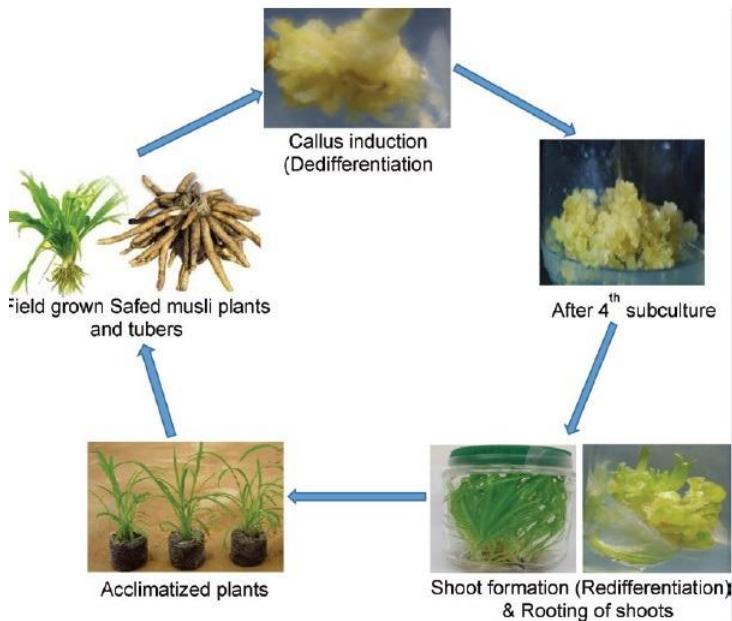
Subkultur adalah proses pemindahan eksplan atau jaringan tanaman dari media tumbuh lama ke media baru dalam kondisi aseptik. Proses ini menjadi bagian penting dari pemeliharaan kultur jaringan, terutama dalam upaya memperpanjang umur kultur, memperbanyak eksplan, serta menghindari gejala browning (pencoklatan) dan kontaminasi yang dapat mengganggu pertumbuhan.

Dalam konteks kultur jaringan, subkultur sering kali dilakukan secara berkala untuk mempertahankan viabilitas eksplan dan merangsang pembentukan organ baru seperti tunas, akar, atau kalus. Subkultur juga memungkinkan pemisahan eksplan yang telah membesar menjadi unit-unit baru untuk ditumbuhkan secara terpisah, sehingga meningkatkan efisiensi propagasi secara in vitro.

Tujuan utama dari subkultur antara lain:

- **Memelihara eksplan** agar tetap hidup dan berkembang dalam lingkungan in vitro.
- **Menghindari penumpukan metabolit toksik** yang dapat terbentuk akibat akumulasi senyawa hasil metabolisme dalam media.
- **Memperbanyak eksplan** melalui pemisahan atau pembelahan jaringan (multiplikasi).
- **Menyesuaikan komposisi media** sesuai dengan fase pertumbuhan tanaman (misalnya dari fase induksi ke fase elongasi atau pemanjangan tunas).
- **Menghindari browning** akibat reaksi fenolik oksidatif yang terjadi bila eksplan terlalu lama tidak dipindahkan.

Frekuensi subkultur tergantung pada jenis tanaman, jenis eksplan, media yang digunakan, serta kondisi lingkungan kultur seperti cahaya dan suhu. Jika subkultur tidak dilakukan tepat waktu, dapat menyebabkan stres fisiologis, penurunan kualitas eksplan, hingga kematian kultur.



## 6.2. Waktu dan Frekuensi Subkultur

Menentukan waktu dan frekuensi subkultur yang tepat sangat penting dalam keberhasilan kultur jaringan. Subkultur yang dilakukan terlalu awal dapat menyebabkan eksplan belum siap secara fisiologis, sementara jika terlalu lambat dapat memicu penurunan viabilitas, munculnya browning, atau pertumbuhan kontaminan.

### Kapan Subkultur Harus Dilakukan?

Beberapa indikator yang menandakan bahwa kultur sudah perlu disubkultur antara lain:

- Media mulai **berubah warna** atau menguning akibat penumpukan metabolit.
- Pertumbuhan eksplan telah **mengisi sebagian besar ruang tabung kultur**.
- Eksplan menunjukkan tanda-tanda **penuaan** atau stres (warna pucat, nekrosis).
- Adanya **akumulasi senyawa toksik** dalam media, ditandai dengan bau asam atau reaksi browning.
- Fase kultur telah **selesai**, seperti setelah terbentuk kalus, akar, atau tunas.

### Frekuensi Subkultur

Frekuensi subkultur tergantung pada:



- **Jenis tanaman:** Tanaman tropis dan berkayu biasanya memiliki laju pertumbuhan lebih lambat dibanding tanaman herba.
- **Jenis eksplan:** Kalus, tunas, atau organ lain memiliki kebutuhan pemeliharaan yang berbeda.
- **Komposisi media:** Media yang kaya akan ZPT (zat pengatur tumbuh) dapat mempercepat pertumbuhan dan mempercepat kebutuhan subkultur.
- **Tujuan kultur:** Kultur untuk induksi kalus atau multiplikasi tunas memerlukan subkultur lebih sering dibandingkan fase pemanjangan atau perakaran.

Secara umum, subkultur dilakukan setiap 2–6 minggu, namun frekuensi ini bersifat fleksibel dan harus disesuaikan dengan pengamatan langsung terhadap kondisi kultur.

### Dampak Subkultur yang Tidak Tepat Waktu

Waktu Subkultur	Dampak Potensial
Terlalu dini	Eksplan belum siap, pertumbuhan terhambat
Terlalu lambat	Browning, nekrosis, kontaminasi, akumulasi zat toksik
Terlalu sering	Stres mekanis, perubahan genetik (variasi somaklonal)
Terlalu jarang	Penurunan viabilitas, kerusakan jaringan

Subkultur harus dilakukan dengan ketelitian tinggi dalam kondisi steril dan didokumentasikan dengan baik. Dengan frekuensi subkultur yang tepat, pertumbuhan eksplan dapat dikontrol dan diarahkan untuk keperluan propagasi, regenerasi, atau produksi metabolit.

## 6.3. Prosedur Subkultur

Subkultur adalah proses memindahkan eksplan atau hasil pertumbuhan sebelumnya (seperti kalus, tunas, atau akar) ke media baru untuk mempertahankan atau melanjutkan pertumbuhan secara in vitro. Proses ini merupakan langkah penting dalam siklus kultur jaringan karena menentukan kelangsungan hidup dan perkembangan eksplan.

### Prinsip Umum Subkultur

Prinsip dasar subkultur adalah pemeliharaan kondisi aseptik, pemilihan eksplan yang sehat, dan penerapan SOP (Standard Operating Procedure) agar



keberhasilan kultur tetap terjaga. Prosedur ini biasanya dilakukan di dalam laminar air flow (LAF) untuk mencegah kontaminasi.

### **Langkah-langkah Subkultur**

Berikut tahapan umum subkultur yang baik dan benar:

#### **1. Persiapan Alat dan Media:**

- Sterilkan alat-alat seperti pinset, scalpel, tabung kultur, dan kapas penutup di autoklaf.
- Siapkan media kultur baru sesuai tujuan (multiplikasi, akar, kalus, dsb), dan pastikan media dalam kondisi steril dan siap pakai.

#### **2. Persiapan Ruang Kerja:**

- Nyalakan **LAF** dan lampu **UV** minimal 30 menit sebelum digunakan.
- Bersihkan permukaan kerja dengan **alkohol 70%** dan semprot tangan operator.
- Nyalakan **spiritus/bunsen** untuk menciptakan aliran udara panas steril.

#### **3. Pengambilan Eksplan dari Kultur Lama:**

- Ambil tabung kultur lama yang mengandung eksplan.
- Buka dengan hati-hati dan buang media lama bila perlu.
- Gunakan scalpel steril untuk memotong bagian eksplan yang sehat (hindari bagian nekrosis atau terkontaminasi).

#### **4. Transfer ke Media Baru:**

- Letakkan eksplan ke media baru dengan orientasi yang tepat (misal: tunas vertikal).
- Tutup kembali tabung kultur secara steril.

#### **5. Pencatatan dan Labeling:**

- Labeli setiap tabung dengan informasi lengkap: kode sampel, jenis media, tanggal subkultur, tujuan kultur.
- Catat di logbook subkultur atau form pemantauan.

#### **6. Inkubasi:**

- Letakkan tabung di **rak kultur** pada suhu dan pencahayaan yang sesuai (biasanya 23–27°C, 16 jam terang).

### **Contoh Praktik Subkultur**

- **Multiplikasi Tunas:** Tunas dari kultur sebelumnya dipindah ke media MS + BAP untuk memperbanyak jumlah tunas.
- **Kalus ke Organogenesis:** Kalus dipindah ke media induksi tunas (MS + TDZ/NAA) agar berkembang menjadi organ baru.
- **Subkultur Rutin Kalus:** Kalus tua dipindah ke media kalus segar setiap 2–3 minggu untuk menghindari pencoklatan.



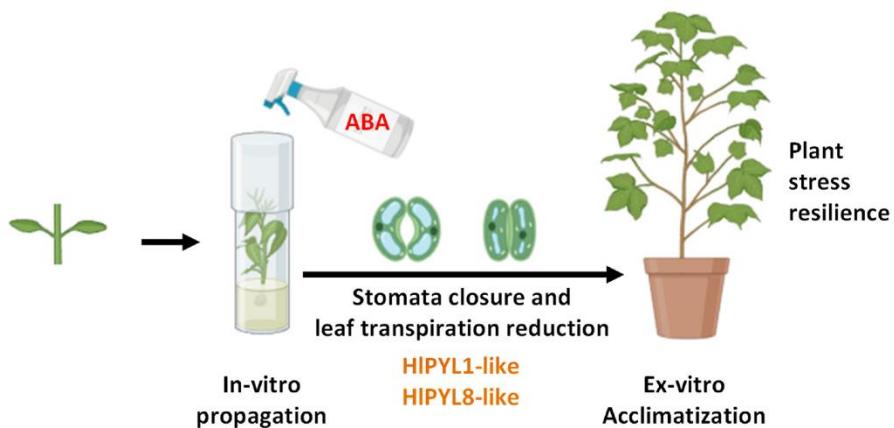
### Tips Keberhasilan

- Selalu gunakan eksplan sehat dan aktif.
- Hindari menyentuh media atau eksplan dengan alat yang belum diflaming ulang.
- Jangan membuka lebih dari satu tabung dalam satu waktu di ruang LAF.
- Catat semua kegiatan secara rinci untuk monitoring.

## 6.4. Pengertian dan Tujuan Aklimatisasi

Secara umum, aklimatisasi adalah proses penyesuaian suatu organisme (seperti tanaman, hewan, atau manusia) terhadap lingkungan baru yang berbeda kondisi dari lingkungan asalnya. Proses ini penting untuk mengurangi stres yang disebabkan oleh perbedaan kondisi seperti suhu, pH, salinitas, dan tekanan, serta agar organisme dapat bertahan hidup di lingkungan baru tersebut.

Aklimatisasi merupakan tahapan transisi penting dalam kultur jaringan tanaman, yaitu proses pemindahan tanaman dari kondisi *in vitro* yang steril dan terkontrol ke lingkungan *ex vitro* (lingkungan luar laboratorium) yang lebih kompleks dan penuh tekanan lingkungan. Tanaman hasil kultur jaringan yang tumbuh dalam media padat atau cair biasanya memiliki struktur yang belum sempurna, sistem akar yang belum berkembang optimal, serta ketergantungan tinggi terhadap kelembaban dan cahaya buatan.



### Pengertian Aklimatisasi

Aklimatisasi adalah proses penyesuaian fisiologis dan morfologis tanaman hasil kultur jaringan terhadap perubahan lingkungan dari kondisi tertutup dan steril (*in vitro*) menuju kondisi terbuka (*ex vitro*). Tanaman dalam



kondisi *in vitro* cenderung lemah karena tidak terbiasa menghadapi patogen, fluktuasi suhu, sinar matahari langsung, serta tingkat kelembaban rendah.

### Tujuan Aklimatisasi

Proses aklimatisasi bertujuan untuk:

1. **Meningkatkan ketahanan tanaman terhadap stres lingkungan luar**, seperti kekeringan, suhu, patogen, dan cahaya matahari langsung.
2. **Mengembangkan sistem akar dan struktur jaringan tanaman** agar mampu menyerap nutrisi dan air secara mandiri dari substrat tanah.
3. **Mengurangi ketergantungan tanaman terhadap kondisi *in vitro***, khususnya pada ketersediaan gula dan ZPT (zat pengatur tumbuh) dalam media.
4. **Menyiapkan tanaman untuk ditanam di lingkungan lapangan, rumah kaca, atau pot**, baik untuk keperluan penelitian, produksi massal, maupun konservasi.

### Perubahan Fisiologis Tanaman selama Aklimatisasi

Selama proses aklimatisasi, terjadi sejumlah adaptasi fisiologis pada tanaman, antara lain:

- **Penebalan kutikula daun** untuk mengurangi transpirasi.
- **Perkembangan stomata yang lebih fungsional**, agar dapat mengatur pertukaran gas secara efisien.
- **Perubahan sistem akar** dari akar semu (non-fungsional) menjadi akar normal yang mampu menyerap air dan nutrien.
- **Penurunan kandungan air jaringan**, yang semula sangat tinggi pada tanaman *in vitro*.

### Tantangan dalam Aklimatisasi

Tanaman yang tidak berhasil beradaptasi dapat mengalami **layu**, **nekrosis**, atau **kematian** dalam beberapa hari pertama setelah dipindahkan ke lingkungan luar. Oleh karena itu, tahapan aklimatisasi perlu dilakukan secara bertahap dan hati-hati.

## 6.5. Tahapan dan Teknik Aklimatisasi

Aklimatisasi bukan sekadar pemindahan tanaman dari tabung kultur ke pot, melainkan suatu proses bertahap yang dirancang untuk mengurangi kejutan lingkungan (*environmental shock*) dan memaksimalkan tingkat keberhasilan adaptasi tanaman *in vitro* di luar laboratorium. Tahapan ini melibatkan strategi penyesuaian bertahap terhadap cahaya, suhu, kelembaban, dan substrat tanam.



## Tahapan Umum Aklimatisasi

### 1. Persiapan Tanaman

- Tanaman hasil kultur jaringan yang siap aklimatisasi umumnya memiliki akar yang cukup, daun yang hijau, dan bebas dari kontaminasi.
- Sebelum dikeluarkan, bersihkan sisa-sisa media dari akar dengan air steril untuk mencegah kontaminasi.

### 2. Penanaman ke Substrat Steril

- Tanam eksplan pada media tanam steril seperti campuran cocopeat:perlite:vermiculit (1:1:1) atau gambut steril.
- Media harus porous, steril, dan mampu mempertahankan kelembaban.
- Gunakan pot kecil (polybag) dan tempatkan di ruang aklimatisasi atau greenhouse tertutup.

### 3. Penyesuaian Kelembaban

- Tutup tanaman dengan plastik bening atau kubah transparan untuk mempertahankan kelembaban tinggi (90–100%) selama 5–7 hari.
- Buat lubang-lubang kecil untuk ventilasi, lalu perlahan buka penutup secara bertahap agar tanaman beradaptasi dengan kelembaban normal.

### 4. Penyesuaian Cahaya

- Letakkan tanaman di tempat teduh dengan pencahayaan tidak langsung pada awalnya.
- Secara bertahap tingkatkan intensitas cahaya selama 7–14 hari.
- Hindari paparan cahaya matahari langsung pada minggu pertama.

### 5. Monitoring dan Pemeliharaan

- Pantau kondisi tanaman setiap hari: periksa apakah ada gejala layu, jamur, atau nekrosis.
- Lakukan penyiraman secukupnya menggunakan air steril atau air matang.
- Jika ada tanaman yang rusak, segera singkirkan untuk mencegah infeksi menyebar.

### 6. Pemindahan ke Media Tanam Lapangan

- Setelah tanaman menunjukkan pertumbuhan aktif (daun baru, akar bertambah), tanaman dapat dipindah ke pot lebih besar atau ke lahan terbuka.
- Fase ini disebut hardening (pengerasan), yaitu proses akhir sebelum tanaman benar-benar mandiri di alam terbuka.



### Teknik dan Tips Aklimatisasi yang Efektif

- Gunakan ruang aklimatisasi dengan suhu stabil ( $\pm 25^{\circ}\text{C}$ ) dan kelembaban tinggi.
- Gunakan plastik UV transparan atau dome kaca untuk menjaga kelembaban awal.
- Hindari penggunaan tanah lapangan sebelum tanaman benar-benar kuat.
- Berikan pupuk cair ringan (misal: NPK  $\frac{1}{4}$  dosis) setelah 2 minggu bila diperlukan.

Aklimatisasi yang berhasil ditandai dengan:

- Pertumbuhan daun baru
- Akar aktif menembus substrat
- Tidak ada gejala layu atau klorosis
- Kemampuan bertahan setelah dipindah ke lingkungan luar

## 6.6. Faktor Keberhasilan Aklimatisasi

Keberhasilan proses aklimatisasi sangat bergantung pada sejumlah faktor yang saling terkait, baik yang berasal dari tanaman itu sendiri maupun dari lingkungan eksternal. Setiap kesalahan kecil dalam tahap ini dapat menyebabkan tingkat kematian yang tinggi pada tanaman hasil kultur jaringan.

### Faktor-faktor Utama yang Mempengaruhi Keberhasilan Aklimatisasi:

#### 1. Kondisi Fisiologis Tanaman Sebelum Aklimatisasi

Tanaman yang sehat, memiliki sistem akar yang terbentuk sempurna, dan tidak mengalami stres akan lebih mudah beradaptasi. Tanaman yang terlalu muda, masih rapuh, atau terpapar kontaminasi sangat rentan mengalami kegagalan.

#### 2. Jenis Eksplan dan Spesies Tanaman

Beberapa jenis tanaman memiliki toleransi yang lebih tinggi terhadap kondisi lingkungan luar. Misalnya, tanaman berkayu sering lebih tahan dibanding tanaman herba. Selain itu, eksplan berupa tunas lebih cepat beradaptasi dibanding kalus atau planlet hasil embriogenesis.

#### 3. Media Tanam dan Substrat

Substrat harus memiliki sifat drainase baik, steril, dan mampu menahan kelembaban. Kombinasi cocopeat, perlit, dan vermiculit sering digunakan. Ketidaksesuaian media (misal terlalu padat, miskin aerasi) dapat menyebabkan akar membusuk.



#### 4. Kelembaban Udara dan Suhu

Perubahan kelembaban yang terlalu drastis dapat memicu layu permanen. Oleh karena itu, kelembaban harus diturunkan secara bertahap. Suhu optimal berkisar antara 23–28°C. Suhu tinggi menyebabkan stres, sedangkan suhu terlalu rendah menghambat metabolisme.

#### 5. Intensitas dan Kualitas Cahaya

Tanaman in vitro terbiasa tumbuh dalam pencahayaan rendah. Paparan langsung sinar matahari dapat merusak jaringan muda dan menyebabkan klorosis. Gunakan pencahayaan tidak langsung dan naikkan intensitas secara perlahan.

#### 6. Teknik Penanganan Selama Pemindahan

Proses pencucian eksplan, pemindahan ke pot, dan pemasangan penutup harus dilakukan hati-hati dan dalam kondisi bersih. Kontaminasi yang berasal dari tangan, alat, atau media dapat menyebabkan kematian dini.

#### 7. Adaptasi Bertahap dan Pengamatan Rutin

Proses aklimatisasi harus dilakukan dalam beberapa fase (tertutup → semi-terbuka → terbuka). Tanaman harus diawasi setiap hari, dan tanaman yang menunjukkan gejala tidak normal segera ditindak.

### Indikator Keberhasilan Aklimatisasi

Indikator Positif	Indikator Kegagalan
Tunas atau daun baru muncul	Daun menguning/layu cepat
Akar tumbuh menembus media	Busuk akar
Tanaman berdiri tegak stabil	Jaringan mengering/nekrosis
Tidak ada jamur atau kontaminan	Pertumbuhan stagnan

Dengan memperhatikan faktor-faktor tersebut secara cermat, proses aklimatisasi tidak hanya akan berhasil tetapi juga menghasilkan tanaman yang tangguh dan siap untuk ditanam di lapangan.

### 6.7. Soal Latihan

#### A. Pilihan Ganda (PG) – Level C3-C4)



1. **Tujuan utama dari subkultur dalam kultur jaringan tanaman adalah...**
  - a) Mengganti media dengan komposisi yang berbeda setiap hari
  - b) Meningkatkan kandungan gula dalam jaringan
  - c) Menjaga pertumbuhan eksplan tetap aktif dan bebas kontaminasi
  - d) Mengurangi pH media menjadi netral
  - e) Menghindari pengaruh sinar matahari langsung
2. **Indikator bahwa tanaman hasil kultur jaringan siap untuk subkultur adalah...**
  - a) Media tetap jernih setelah 6 minggu
  - b) Eksplan mulai membentuk jaringan nekrotik
  - c) Daun menguning secara merata
  - d) Eksplan tumbuh aktif dan hampir memenuhi ruang tabung
  - e) Tunas baru masih dalam ukuran sangat kecil
3. **Salah satu risiko dari subkultur yang terlalu sering dilakukan adalah...**
  - a) Terlambat tumbuh akar
  - b) Meningkatnya risiko variasi somaklonal
  - c) Bertambahnya jumlah kontaminan
  - d) Berkurangnya kebutuhan cahaya
  - e) Aklimatisasi menjadi lebih mudah
4. **Langkah paling tepat dalam tahapan awal aklimatisasi tanaman kultur jaringan adalah...**
  - a) Menyiram tanaman dengan larutan pupuk tinggi nitrogen
  - b) Memindahkan langsung ke lahan terbuka
  - c) Menempatkan tanaman di tempat teduh dan lembap dengan penutup transparan
  - d) Menanam di media tanah lapangan tanpa sterilisasi
  - e) Menghentikan pemberian cahaya selama 3 hari pertama
5. **Faktor yang tidak mempengaruhi keberhasilan aklimatisasi tanaman in vitro adalah...**
  - a) Kondisi fisiologis tanaman
  - b) Jenis substrat tanam
  - c) Lama penyimpanan media di kulkas
  - d) Intensitas cahaya selama adaptasi
  - e) Teknik pencucian akar sebelum tanam

## B. Esai HOTS (Level C4–C6)

1. Analisislah mengapa penentuan waktu subkultur yang tepat sangat penting dalam pemeliharaan kultur jaringan. Jelaskan dampaknya bila subkultur dilakukan terlalu cepat atau terlalu lambat.



2. Seorang mahasiswa memindahkan tanaman kultur ke media tanah biasa tanpa aklimatisasi bertahap. Dalam 3 hari, semua tanaman layu. Jelaskan kemungkinan penyebab kegagalan tersebut dan beri solusi perbaikannya.
3. Bandingkan perbedaan tujuan antara subkultur dan aklimatisasi dalam kultur jaringan tanaman. Berikan satu contoh situasi untuk masing-masing.
4. Seseorang melakukan subkultur kalus ke media baru, tetapi tidak terjadi pertumbuhan lebih lanjut. Evaluasi faktor-faktor yang mungkin menyebabkan kegagalan tersebut.
5. Rancanglah SOP sederhana untuk aklimatisasi planlet hasil kultur jaringan anggrek di rumah kaca. Sertakan langkah-langkah kritis yang tidak boleh dilewati.



## **BAB VII. EMBRIOGENESIS, ORGANOGENESIS SOMATIK, DAN VARIASI SOMAKLONAL**

Sub CPMK	Mahasiswa mampu menjelaskan dan membedakan proses embriogenesis dan organogenesis somatik, serta menganalisis faktor penyebab munculnya variasi somaklonal pada kultur jaringan tanaman.
Tujuan	<ol style="list-style-type: none"><li>1. Mahasiswa memahami mekanisme pembentukan embrio dan organ baru melalui proses in vitro.</li><li>2. Mahasiswa mampu mengidentifikasi tahapan embriogenesis dan organogenesis berdasarkan perubahan morfologi dan fisiologi jaringan.</li><li>3. Mahasiswa memahami faktor-faktor yang memengaruhi regenerasi tanaman, terutama peran rasio hormon dan kondisi media.</li><li>4. Mahasiswa mampu menjelaskan penyebab dan implikasi variasi somaklonal dalam kultur jaringan tanaman.</li><li>5. Mahasiswa dapat menilai manfaat dan risiko variasi somaklonal dalam upaya pemuliaan dan pengembangan varietas unggul.</li></ol>



## 7.1. Pendahuluan

Regenerasi tanaman melalui kultur jaringan bergantung pada kemampuan sel tanaman untuk berdeiferensiasi dan kembali membentuk individu utuh. Dua jalur utama regenerasi adalah **organogenesis somatik** dan **embriogenesis somatik**. Organogenesis menghasilkan organ seperti akar atau tunas dari jaringan yang belum berdiferensiasi, sedangkan embriogenesis somatik membentuk embrio tanaman lengkap dari sel somatik tanpa melalui proses fertilisasi.

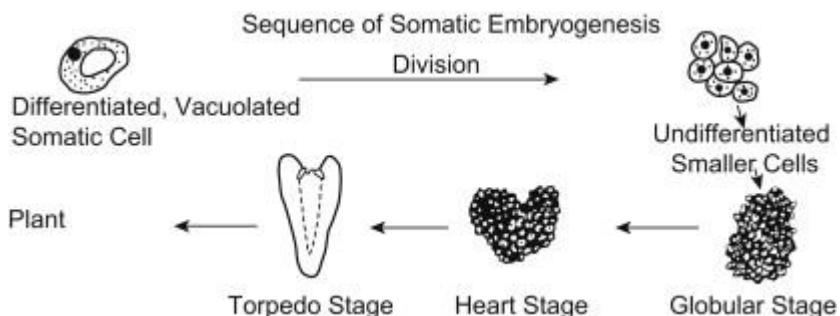
Selain menghasilkan tanaman baru, proses kultur *in vitro* juga dapat menimbulkan **variasi somaklonal**, yaitu perubahan genetik atau epigenetik yang muncul secara spontan akibat tekanan fisiologis selama kultur. Variasi ini dapat bersifat menguntungkan (misalnya ketahanan terhadap penyakit atau stres) atau merugikan (misalnya perubahan morfologi abnormal).

## 7.2. Embriogenesis Somatik

### 1. Pengertian Embriogenesis Somatik

Embriogenesis somatik merupakan metode regenerasi tanaman *in vitro* yang banyak digunakan sebagai alat penting dalam bioteknologi modern. Proses ini memungkinkan terbentuknya embrio tanaman dari sel atau jaringan somatik (sel tubuh) tanpa melalui proses fertilisasi seksual. Dengan demikian, embrio yang dihasilkan bukan berasal dari zigot, melainkan dari sel vegetatif yang mengalami reprogramming fisiologis sehingga mampu membentuk embrio baru.

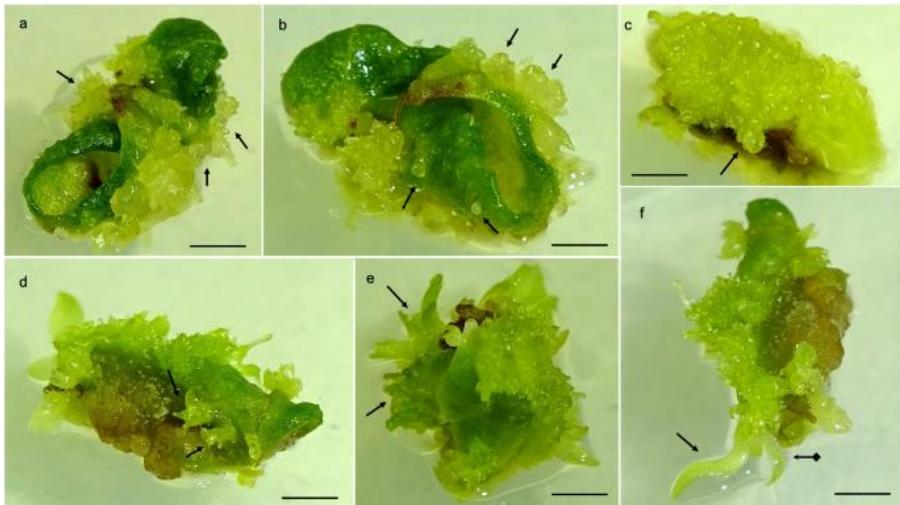
Embriogenesis somatik dapat terjadi secara **langsung**, yaitu ketika embrio somatik terbentuk langsung dari jaringan eksplan tanpa melalui pembentukan kalus, atau **tidak langsung**, yaitu ketika jaringan eksplan terlebih dahulu membentuk kalus (massa sel belum berdiferensiasi) sebelum berkembang menjadi embrio somatik.



Teknik ini telah diterapkan pada berbagai tanaman, termasuk pohon kehutanan (*Hevea brasiliensis*), tanaman hias (mawar, anggrek), tanaman



pertanian (padi, kapas), hingga tanaman kaktus. Dalam bioteknologi, embriogenesis somatik tidak hanya berfungsi sebagai metode perbanyakan klonal, tetapi juga menjadi sistem model penting untuk studi perkembangan tanaman, transformasi genetik, dan rekayasa varietas unggul yang tahan terhadap cekaman lingkungan.



## 2. Tahapan dan Induksi Embriogenesis

Embriogenesis somatik berlangsung melalui beberapa tahapan fisiologis yang dapat diamati di bawah mikroskop.

### 1. Tahap Induksi Kalus Embriogenik

Eksplan seperti daun muda, biji zigotik, atau batang nodal ditanam pada media yang kaya auksin, seperti 2,4-D atau NAA. Hormon ini menstimulasi dediferensiasi sel dan pembentukan kalus.

### 2. Tahap Pemeliharaan Kalus Embrionik

Kalus yang terbentuk kemudian dipelihara pada media dengan kadar auksin rendah atau tanpa auksin untuk menstabilkan jaringan embrionik.

### 3. Tahap Diferensiasi dan Pembentukan Embrio Somatik

Sel kalus mulai menunjukkan pola perkembangan yang mirip embrio zigotik: tahap globular, heart (berbentuk hati), torpedo, dan cotyledonary.

### 4. Tahap Perkecambahan dan Regenerasi Plantlet

Embrio somatik yang matang dipindahkan ke media bebas hormon untuk berkecambah menjadi planlet utuh, kemudian diaklimatisasi ke lingkungan alami.

Zat pengatur tumbuh memiliki peran penting dalam proses ini. Kombinasi sitokinin, auksin, dan terkadang asam absisat (ABA) dapat meningkatkan efisiensi



pembentukan embrio somatik. Sebagai contoh, kalus embrionik pada mawar hibrida menunjukkan tingkat regenerasi tinggi ketika dikultur pada media dengan BA dan NAA, serta mencapai tingkat perkembahan optimal pada media yang mengandung ABA.

Embriogenesis somatik juga menjadi alat penting dalam **transformasi genetik** karena memungkinkan regenerasi tanaman dari satu sel yang telah disisipkan gen baru, sehingga sangat berguna dalam pembuatan varietas transgenik tahan penyakit seperti kapas tahan *Fusarium* atau *Verticillium*.

### 7.3. Organogenesis Somatik

Organogenesis somatik adalah proses pembentukan organ tanaman, seperti akar, batang, atau daun, dari jaringan somatik yang dikultur secara *in vitro*. Organogenesis dapat terjadi **langsung** dari jaringan eksplan atau **tidak langsung** melalui pembentukan kalus terlebih dahulu.

Regenerasi tanaman melalui organogenesis umumnya dipengaruhi oleh **rasio auksin dan sitokinin** dalam media. Rasio hormon yang berbeda akan memicu arah perkembangan jaringan yang berbeda pula:

- Rasio **auksin tinggi dan sitokinin rendah** akan menginduksi pembentukan akar.
- Rasio **sitokinin tinggi dan auksin rendah** akan merangsang pembentukan tunas.
- Rasio **seimbang antara keduanya** mendorong pembentukan kalus.

Penelitian klasik oleh **Skoog dan Miller (1957)** menunjukkan bahwa keseimbangan dua hormon utama ini mengontrol diferensiasi organ tanaman pada kultur tembakau. Prinsip tersebut kemudian menjadi dasar utama formulasi media kultur jaringan untuk berbagai spesies tanaman.

Proses organogenesis melibatkan beberapa tahap: dediferensiasi sel dewasa menjadi kalus, pembentukan meristem adventif, dan diferensiasi lebih lanjut menjadi organ fungsional. Teknik ini banyak digunakan untuk perbanyak cepat tanaman seperti pisang, tebu, dan kentang, serta menjadi metode regenerasi setelah transformasi genetik menggunakan *Agrobacterium tumefaciens*.

### 7.4. Perbandingan Embriogenesis dengan Organogenesis

Embriogenesis dan organogenesis merupakan dua jalur regenerasi tanaman *in vitro* yang memiliki tujuan serupa, yaitu menghasilkan tanaman baru, tetapi melalui mekanisme yang berbeda.



Aspek	Embriogenesis Somatik	Organogenesis Somatik
<b>Asal jaringan</b>	Sel somatik yang membentuk embrio lengkap	Kalus atau jaringan yang membentuk organ tertentu (akar/tunas)
<b>Tahapan utama</b>	Pembentukan embrio globular → heart → torpedo → planlet	Pembentukan kalus → meristem adventif → organ
<b>Kebutuhan hormon</b>	Auksin tinggi untuk induksi, sitokinin sedang, ABA untuk pematangan	Rasio auksin–sitokinin menentukan arah organogenesis
<b>Produk akhir</b>	Embrio lengkap yang menjadi tanaman baru	Organ individu (akar, tunas) yang berkembang menjadi planlet
<b>Kelebihan</b>	Regenerasi cepat dan efisien, cocok untuk transformasi genetik	Prosedur sederhana dan cocok untuk perbanyak massal
<b>Kelemahan</b>	Membutuhkan kondisi media spesifik dan sering muncul variasi	Risiko kontaminasi dan kalus non-embriogenik

Secara umum, embriogenesis digunakan untuk sistem regenerasi tingkat lanjut dan pemuliaan berbasis genetik, sedangkan organogenesis lebih sering diterapkan dalam perbanyak klonal cepat dan kultur komersial.

## 7.5. Aplikasi Embriogenesis dan Organogenesis

Teknologi embriogenesis dan organogenesis memiliki beragam aplikasi dalam bioteknologi pertanian dan industri tanaman:

1. **Perbanyak tanaman unggul** dalam jumlah besar dalam waktu singkat.
2. **Pembuatan tanaman bebas virus** melalui regenerasi dari jaringan steril.
3. **Transformasi genetik dan rekayasa varietas unggul** dengan ketahanan terhadap penyakit, kekeringan, atau herbisida.
4. **Pelestarian spesies langka** dengan menyimpan kalus embriogenik dalam bentuk kriopreservasi.
5. **Produksi metabolit sekunder** melalui kultur akar atau kalus yang diregenerasi dari organogenesis.

Contohnya, embriogenesis somatik berhasil diterapkan pada tanaman kopi untuk memproduksi ribuan planlet berkualitas tinggi, sementara organogenesis digunakan dalam industri pisang untuk menghasilkan bibit seragam dan bebas patogen.



## 7.6. Variasi Somaklonal

### 1. Pengertian Variasi somaklonal

Variasi somaklonal adalah perubahan genetik dan fenotipik yang terjadi di antara tanaman yang diperbanyak secara klonal dari klon donor tunggal. Variasi ini muncul pada tanaman hasil regenerasi *in vitro* akibat perubahan yang terjadi pada tingkat seluler selama proses kultur. Secara lebih luas, variasi somaklonal didefinisikan sebagai variabilitas genetik yang terdapat di antara semua jenis sel atau tanaman yang diperoleh dari sel yang dikultur *in vitro*. Variasi ini dapat muncul pada sel yang belum berdiferensiasi, protoplas terisolasi, jaringan kalus, maupun pada tanaman hasil regenerasi.

Penyebab utama terjadinya variasi somaklonal adalah **perubahan jumlah dan struktur kromosom**, seperti delesi, duplikasi, atau translokasi. Perubahan tersebut dapat memengaruhi ekspresi gen, menyebabkan perbedaan morfologi, fisiologi, dan biokimia pada tanaman hasil kultur.



Tanaman hasil regenerasi melalui kultur jaringan sering kali menunjukkan variasi yang dapat diwariskan untuk sifat-sifat kualitatif (misalnya warna bunga, bentuk daun) dan kuantitatif (misalnya tinggi tanaman, hasil panen). Untuk lebih spesifik, variasi yang diinduksi oleh proses kultur jaringan disebut variasi terinduksi kultur jaringan (*tissue culture-induced variation*).

## 2. Penyebab dan Karakteristik

Penyebab variasi somaklonal dapat dikelompokkan menjadi tiga kategori utama:

1. **Faktor genetik**, seperti mutasi gen atau aberasi kromosom (hilangnya, bertambahnya, atau berpindahnya kromosom).
2. **Faktor epigenetik**, seperti perubahan pola metilasi DNA yang mengubah ekspresi gen tanpa mengubah urutan basanya.
3. **Faktor fisiologis dan lingkungan kultur**, termasuk lamanya subkultur, jenis zat pengatur tumbuh, dan tekanan oksidatif selama kultur.

Variasi somaklonal sering kali terjadi secara spontan dan tidak terduga, sehingga dapat menjadi masalah dalam perbanyakannya massal tanaman karena mengurangi keseragaman genetik. Namun, fenomena ini juga dapat dimanfaatkan secara positif dalam pemuliaan tanaman, terutama untuk menciptakan varian baru dengan sifat unggul.

## 3. Manfaat dan Dampak

Terjadinya variasi yang tidak terkendali dan spontan selama proses kultur merupakan fenomena yang umumnya tidak diinginkan pada skala industri karena menimbulkan ketidakseragaman hasil. Namun, terlepas dari efek negatifnya, variasi somaklonal memiliki **potensi besar dalam pemuliaan tanaman** melalui penciptaan varian baru yang mengandung sifat-sifat bermanfaat seperti ketahanan terhadap penyakit, peningkatan kualitas produk, dan adaptasi terhadap kondisi lingkungan ekstrem.

Variasi somaklonal terinduksi dapat digunakan sebagai alat **manipulasi genetik tanaman dengan sifat poligenik**, yakni sifat yang dikontrol oleh banyak gen. Varietas baru yang dikembangkan dari kultur *in vitro* sering kali menunjukkan **ketahanan terhadap penyakit dan peningkatan hasil panen** dibandingkan tanaman induknya.

## 4. Contoh Kasus

Beberapa contoh penerapan variasi somaklonal antara lain:

- Varietas tebu yang tahan terhadap penyakit *smut* dan memiliki kandungan gula lebih tinggi.
- Varian gandum yang lebih toleran terhadap kekeringan.



- Klon padi yang menunjukkan ketahanan terhadap salinitas dan aluminium. Fenomena ini menunjukkan bahwa variasi somaklonal dapat dimanfaatkan untuk **meningkatkan keragaman genetik** dalam program pemuliaan tanaman.

## 5. Deteksi dan Seleksi Varian Somaklonal

Varian somaklonal dapat dideteksi melalui tiga pendekatan utama:

1. **Pendekatan morfologis**, yaitu pengamatan terhadap perubahan bentuk, warna, atau ukuran organ tanaman.
2. **Pendekatan fisiologis dan biokimia**, seperti analisis aktivitas enzim, metabolit sekunder, atau kandungan pigmen.
3. **Pendekatan molekuler**, menggunakan teknik seperti RAPD, AFLP, ISSR, dan SSR untuk mendeteksi perubahan pada tingkat DNA.

Ada dua pendekatan utama untuk mengisolasi varian somaklonal, yaitu **skrining (screening)** dan **seleksi (selection)**.

### 1. Skrining (Screening)

Pendekatan skrining dilakukan dengan **mengamati sejumlah besar sel atau tanaman yang diregenerasi** untuk mendeteksi individu yang menunjukkan sifat mutan. Mutan untuk beberapa karakter dapat lebih mudah ditemukan di tingkat sel dibandingkan populasi tanaman utuh karena jumlah sel yang bisa diperiksa jauh lebih banyak.

Metode ini efektif untuk menemukan varian dengan sifat:

- Ketahanan terhadap penyakit
- Ketahanan terhadap stres lingkungan (salinitas, suhu rendah, logam berat)
- Ketahanan terhadap herbisida
- Peningkatan produksi metabolit sekunder bernilai ekonomi

Skrining banyak digunakan untuk mendapatkan klon sel yang menghasilkan jumlah metabolit bioaktif lebih tinggi untuk industri obat dan kosmetik.

### 2. Seleksi Sel (Cell Selection)

Pada pendekatan seleksi, **tekanan selektif (selection pressure)** diterapkan pada kultur untuk memungkinkan hanya sel-sel varian yang bertahan hidup.

Terdapat dua jenis seleksi:

- **Seleksi positif**, yaitu hanya sel mutan yang mampu tumbuh pada kondisi tertentu, misalnya media dengan kadar garam tinggi atau herbisida.
- **Seleksi negatif**, yaitu hanya sel tipe liar yang mati karena agen seleksi balik, seperti 5-bromodeoksiuridin atau arsenat, sementara sel mutan bertahan hidup.



Setelah tekanan seleksi dihilangkan, sel-sel mutan yang bertahan kemudian dikembangkan lebih lanjut menjadi tanaman regenerasi dengan sifat unggul.

## 7.7. Transgenesis

### 1. Pengertian dan Pendekatan Transgenik

Pendekatan transgenik merupakan salah satu alat bioteknologi modern yang paling kuat dalam program perbaikan tanaman. Melalui pendekatan ini, gen dari berbagai sumber biologis baik tanaman, hewan, maupun mikroorganisme, dapat dimasukkan ke dalam genom tanaman untuk memberikan sifat baru yang tidak dimiliki secara alami oleh spesies tersebut. Metode ini memungkinkan penciptaan kombinasi genetik baru yang berperan dalam peningkatan produktivitas, ketahanan terhadap penyakit, serta toleransi terhadap berbagai bentuk cekaman lingkungan.

Dalam konteks bioteknologi pertanian, banyak gen telah diidentifikasi dan dikarakterisasi yang berperan dalam adaptasi terhadap cekaman abiotik seperti kekeringan, salinitas, suhu ekstrem, dan logam berat. Manipulasi ekspresi gen-gen tersebut melalui teknologi transgenik telah terbukti meningkatkan daya adaptasi dan ketahanan berbagai tanaman penting secara ekonomi.

### 2. Mekanisme dan Gen Kunci yang Terlibat

Sebagian besar keberhasilan dalam meningkatkan ketahanan tanaman terhadap stres lingkungan melalui transgenesis melibatkan **manipulasi satu atau beberapa gen utama** yang berperan dalam jalur sinyal, biosintesis hormon, atau regulasi metabolisme sel. Beberapa kelompok gen yang berperan penting antara lain:

#### 1. Gen yang terkait dengan hormon Asam Absisat (ABA)

Hormon ABA berfungsi mengatur respons adaptif tanaman terhadap tekanan lingkungan seperti kekeringan, salinitas, dan suhu rendah. Jalur biosintesis ABA telah dipelajari secara mendalam, dan beberapa enzim kunci yang mengatur sintesis ABA telah dimanfaatkan dalam rekayasa tanaman transgenik. Tanaman yang mengekspresikan gen-gen tersebut menunjukkan peningkatan toleransi terhadap kekeringan dan kadar garam tinggi.

#### 2. Gen CBF/DREB (*C-Repeat Binding Factor/Dehydration Responsive Element Binding*)

Gen ini berperan dalam regulasi transkripsi gen-gen yang terlibat dalam respons terhadap kekeringan dan suhu dingin. Tanaman yang



mengekspresikan gen CBF/DREB mengalami peningkatan ketahanan terhadap cekaman air dan suhu ekstrem.

### 3. Gen yang mengatur pembentukan osmoprotektan

Osmoprotektan seperti prolin, glisin betain, dan trehalosa berfungsi menjaga turgor sel, menstabilkan protein, serta melindungi membran dari kerusakan oksidatif. Gen yang mengatur sintesis senyawa ini banyak dimanfaatkan untuk meningkatkan ketahanan osmotik tanaman.

### 4. Gen yang mengkodekan protein pelindung dan enzim antioksidan

Termasuk di dalamnya adalah protein *Late Embryogenesis Abundant (LEA)*, superokksida dismutase (SOD), katalase (CAT), dan askorbat peroksidase (APX) yang melindungi sel dari kerusakan akibat radikal bebas selama stres abiotik.

### 5. Gen faktor transkripsi (*Transcription Factors, TF*)

Manipulasi TF seperti NAC, WRKY, dan bZIP dapat memengaruhi ekspresi ratusan gen target yang terlibat dalam pertahanan dan adaptasi terhadap lingkungan ekstrem.

## 3. Pendekatan Molekuler Lain dalam Pemuliaan Modern

Selain teknologi transgenik, pendekatan berbasis penanda molekuler (Marker-Assisted Selection, MAS) dan analisis QTL (Quantitative Trait Loci) juga digunakan untuk mempercepat pemuliaan tanaman. Dengan memetakan QTL yang terkait dengan sifat-sifat agronomis seperti ketahanan kekeringan, salinitas, atau efisiensi penggunaan nutrien, pemulia dapat menggabungkan beberapa sifat unggul sekaligus (*pyramiding traits*) ke dalam satu varietas.

Namun demikian, aplikasi praktis MAS dan QTL masih menghadapi keterbatasan karena hanya sebagian kecil gen atau lokus yang berperan dalam ketahanan stres yang telah teridentifikasi secara konsisten. Oleh karena itu, penelitian lanjutan untuk **validasi penanda genetik dan integrasi data genomik** sangat penting agar hasil rekayasa lebih stabil dan dapat diwariskan.

## 4. Keterkaitan dengan Kultur Jaringan

Transformasi genetik pada tanaman sangat bergantung pada kemampuan jaringan tanaman untuk **diregenerasi secara *in vitro***. Praktis hampir seluruh sistem transformasi tanaman menggunakan kultur jaringan dalam salah satu tahapnya, baik saat **transfer gen (transformasi)** maupun saat **regenerasi tanaman hasil transformasi**.

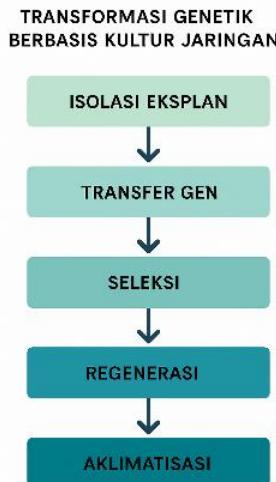
Beberapa metode transformasi genetik yang umum digunakan antara lain:

- **Transformasi yang dimediasi *Agrobacterium tumefaciens*** (metode biologis paling umum untuk tanaman dikotil dan beberapa monokotil).
- **Transformasi biolistik (gene gun)**, yaitu penembakan partikel DNA ke dalam sel tanaman.



- **Transformasi elektroporasi dan PEG-mediated**, khusus untuk protoplas tanaman.

Namun, tidak semua jaringan tanaman cocok untuk setiap metode. Keberhasilan transformasi bergantung pada **kompatibilitas antara metode transformasi dan kemampuan regenerasi jaringan tanaman** yang digunakan. Oleh karena itu, optimalisasi media, jenis eksplan, dan kondisi kultur menjadi sangat penting untuk keberhasilan sistem transgenik.



## 5. Contoh Tanaman Transgenik Toleran Cekaman Abiotik

Berbagai spesies tanaman penting telah berhasil dikembangkan menjadi transgenik dengan sifat toleransi terhadap tekanan lingkungan, seperti ditunjukkan pada tabel berikut.

Spesies Tanaman	Jenis Cekaman Abiotik
<i>Ipomoea batatas</i> (ubi jalar)	Garam
<i>Triticum aestivum</i> (gandum)	Garam
<i>Oryza sativa</i> (padi)	Garam / kekeringan
<i>Lactuca sativa</i> (selada)	Kekeringan / dingin
<i>Brassica juncea</i> (mustard)	Logam berat (Cd)
<i>Medicago sativa</i> (alfalfa)	Pembekuan
<i>Gossypium hirsutum</i> (kapas)	Kekeringan
<i>Solanum tuberosum</i> (kentang)	Kekeringan / garam
<i>Avena sativa</i> (haver)	Cekaman osmotik
<i>Daucus carota</i> (wortel)	Garam



Spesies Tanaman	Jenis Cekaman Abiotik
<i>Zea mays</i> (jagung)	Kekeringan
<i>Pinus taeda</i> (pinus lololly)	Garam
<i>Populus tomentosa</i> (poplar putih Cina)	Garam
<i>Citrus sinensis</i> × <i>Poncirus trifoliata</i> (Carrizo citrange)	Kekeringan
<i>Petunia</i> sp.	Kekeringan
<i>Nicotiana tabacum</i> (tembakau)	Pembekuan / Al
<i>Brassica napus</i> (canola)	Pembekuan
<i>Pinus virginiana</i> (pinus virginia)	Logam berat
<i>Hordeum vulgare</i> (jelai)	Aluminium
<i>Alyssum</i> sp.	Nikel

## 7.8. Kesimpulan

Pengembangan teknologi *in vitro* telah membuka peluang besar dalam memahami dan memanfaatkan potensi fisiologis, biokimia, dan molekuler tanaman. Sistem berbasis sel dan jaringan *in vitro* menawarkan alat yang luar biasa untuk membedah mekanisme regulasi perkembangan tanaman dan respons terhadap berbagai bentuk stres lingkungan. Dalam beberapa tahun terakhir, kemajuan signifikan telah dicapai dalam pengembangan dan isolasi genotipe tanaman yang toleran terhadap stres melalui berbagai teknik *in vitro*.

Dua alat terapan yang paling berhasil adalah induksi variasi somaklonal dan seleksi *in vitro* terhadap tanaman yang toleran terhadap cekaman abiotik, serta pengembangan genotipe transgenik melalui pendekatan rekayasa genetik. Melalui seleksi *in vitro*, waktu yang dibutuhkan untuk menghasilkan varietas tanaman komersial yang tahan penyakit atau tahan stres lingkungan dapat dipersingkat secara drastis. Namun demikian, galur hasil seleksi *in vitro* tetap harus diuji di lapangan untuk memastikan stabilitas genetik dan konsistensi ekspresi sifat unggul tersebut dalam kondisi alami.

Integrasi antara teknologi *in vitro*, pendekatan molekuler, dan genomik fungsional kini memberikan peluang baru untuk meningkatkan toleransi stres tanaman yang relevan bagi ketahanan pangan dan pelestarian lingkungan. Pendekatan transgenik, khususnya melalui manipulasi faktor transkripsi tunggal yang dapat memengaruhi banyak gen target sekaligus, telah muncul sebagai strategi menjanjikan dalam menciptakan tanaman yang lebih tahan terhadap kekeringan, salinitas, suhu ekstrem, dan logam berat.

Namun, penerapan teknologi ini masih menghadapi kendala teknis, terutama karena sebagian besar protokol transformasi genetik memerlukan tahap regenerasi tanaman transforman menggunakan kultur jaringan *in vitro*.



Meskipun daftar spesies yang berhasil ditransformasi menggunakan *Agrobacterium tumefaciens* terus meningkat, masih banyak genotipe tanaman penting yang belum memiliki protokol regenerasi yang efisien.

Di sisi lain, kultur jaringan tanaman tetap menjadi alat laboratorium yang sangat berharga, bukan hanya untuk tujuan perbanyak atau rekayasa genetik, tetapi juga untuk mempelajari aspek dasar pertumbuhan, perkembangan, dan metabolisme tanaman secara terkendali. Melalui sistem ini, peneliti dapat memperoleh sejumlah besar tanaman dalam ruang yang terbatas, tanpa pengaruh faktor biotik atau abiotik dari lingkungan luar, serta memungkinkan pengamatan pertumbuhan tanaman dalam kondisi nutrisi dan lingkungan yang seragam sepanjang tahun.

Secara keseluruhan, kombinasi antara embriogenesis, organogenesis, variasi somaklonal, dan teknologi transgenik berbasis kultur jaringan membentuk fondasi utama bagi bioteknologi tanaman modern. Integrasi keempat pendekatan ini akan terus berperan penting dalam pengembangan tanaman unggul, peningkatan produktivitas pertanian, serta konservasi sumber daya hayati di masa depan.

## 7.9. Soal Latihan

### A. Soal Uraian Singkat (Analitis dan Evaluatif)

1. Jelaskan perbedaan mendasar antara **embriogenesis somatik langsung** dan **tidak langsung** serta keunggulan masing-masing!  
*(KKO: Menganalisis – C4)*
2. Sebutkan dan jelaskan **tiga faktor utama** yang memengaruhi pembentukan embrio somatik pada tanaman!  
*(KKO: Menganalisis – C4)*
3. Uraikan bagaimana **rasio auksin dan sitokinin** dapat mengubah arah diferensiasi jaringan dalam organogenesis!  
*(KKO: Menerapkan – C3)*
4. Variasi somaklonal sering dianggap masalah dalam produksi komersial, tetapi juga bermanfaat bagi pemuliaan tanaman. Jelaskan **dua dampak negatif** dan **dua manfaat positifnya!**  
*(KKO: Mengevaluasi – C5)*
5. Jelaskan **peran ABA dan osmoprotektan (misalnya prolin atau glisin betain)** dalam peningkatan ketahanan tanaman transgenik terhadap cekaman abiotik!  
*(KKO: Mengevaluasi – C5)*

---

### B. Soal Proyek Mini (Sintesis dan Kreasi – C6)



### Tugas Proyek:

Rancanglah satu **strategi perbanyak dan perbaikan genetik tanaman toleran kekeringan** dengan mengintegrasikan konsep **embriogenesis somatik, variasi somaklonal, dan transformasi genetik berbasis kultur jaringan**.

Tuliskan:

1. Jenis tanaman yang dipilih.
2. Tahapan teknik yang digunakan (*in vitro regeneration*, induksi embrio, transformasi, dan aklimatisasi).
3. Gen atau mekanisme yang ingin dimodifikasi.
4. Manfaat yang diharapkan dari hasil rekayasa tersebut.

### C. Rubrik Penilaian

Aspek Penilaian	Deskripsi Kriteria	KKO	Bobot
Pemahaman konsep regenerasi (embriogenesis & organogenesis)	Menjelaskan tahapan dan prinsip dasar regenerasi dengan tepat	C3–C4	20%
Analisis variasi somaklonal	Menguraikan penyebab, dampak, dan metode deteksi dengan logis	C4–C5	20%
Integrasi konsep transgenik	Mengaitkan mekanisme genetik dengan aplikasi kultur jaringan	C5	25%
Kreativitas dan rasionalisasi proyek mini	Menyusun strategi rekayasa tanaman secara ilmiah dan realistik	C6	25%
Kejelasan bahasa dan sistematika jawaban	Tersusun rapi, komunikatif, dan ilmiah	—	10%



## BAB VIII. KULTUR JARINGAN DAN PRODUKSI METABOLIT SEKUNDER

Sub CPMK	Mahasiswa mampu menjelaskan prinsip dasar produksi metabolit sekunder melalui teknik kultur jaringan tanaman, serta menganalisis faktor-faktor yang memengaruhi biosintesis metabolit dan aplikasinya dalam bidang farmasi dan industri bioteknologi.
Tujuan	<ol style="list-style-type: none"><li>1. Mahasiswa memahami konsep metabolit primer dan sekunder serta perbedaan fungsional keduanya.</li><li>2. Mahasiswa mengetahui jenis-jenis metabolit sekunder penting yang dihasilkan melalui kultur jaringan tanaman.</li><li>3. Mahasiswa memahami teknik dasar produksi metabolit sekunder secara <i>in vitro</i>, termasuk kultur kalus, kultur suspensi sel, dan kultur akar berbulu (<i>hairy root culture</i>).</li><li>4. Mahasiswa mampu menjelaskan faktor-faktor fisiologis dan lingkungan yang memengaruhi akumulasi metabolit sekunder.</li><li>5. Mahasiswa dapat menilai potensi kultur jaringan sebagai sistem produksi alternatif untuk senyawa bioaktif bernilai ekonomi tinggi.</li></ol>



## 8.1. Pendahuluan

Kultur jaringan tanaman tidak hanya digunakan untuk perbanyakan tanaman secara klonal, tetapi juga berperan penting dalam produksi metabolit sekunder, yaitu senyawa bioaktif non-esensial yang disintesis tanaman sebagai respon terhadap stres lingkungan, infeksi, atau pertahanan diri. Senyawa-senyawa ini memiliki nilai ekonomi tinggi karena digunakan secara luas dalam farmasi, kosmetik, pangan fungsional, dan industri bioteknologi.

Produksi metabolit sekunder secara konvensional melalui budidaya tanaman lapangan sering menghadapi keterbatasan seperti waktu panen yang lama, variasi genetik, dan pengaruh lingkungan yang tidak stabil. Sebaliknya, pendekatan **bioteknologi melalui kultur jaringan tanaman** memungkinkan produksi senyawa bioaktif secara terkontrol, bebas kontaminasi, dan dapat dilakukan sepanjang tahun tanpa bergantung pada musim.

## 8.2. Konsep Metabolit Sekunder

Metabolit sekunder adalah senyawa organik yang dihasilkan oleh tanaman sebagai respon terhadap tekanan lingkungan, interaksi biotik (misalnya patogen, serangga, mikroorganisme), atau sebagai mekanisme pertahanan dan adaptasi. Berbeda dengan metabolit primer (seperti gula, asam amino, dan asam nukleat) yang penting untuk pertumbuhan dan reproduksi, metabolit sekunder tidak esensial bagi kelangsungan hidup langsung tanaman, tetapi sangat penting untuk kelangsungan ekologisnya.

Beberapa kelompok utama metabolit sekunder meliputi:

- **Alkaloid**, seperti morfin, kafein, dan nikotin, berfungsi sebagai racun bagi herbivora atau patogen.
- **Flavonoid dan antosianin**, berperan dalam pewarnaan bunga dan perlindungan terhadap sinar UV.
- **Terpenoid**, seperti artemisinin dan saponin, memiliki fungsi antimikroba dan penyembuhan luka.
- **Fenolik**, seperti asam galat, tanin, dan lignin, penting untuk kekuatan jaringan dan perlindungan.
- **Kumarin, tanin, dan lignan** yang berperan dalam aktivitas antioksidan, antibakteri, dan antikanker.

Dalam konteks **kultur jaringan tanaman**, produksi metabolit sekunder menjadi fokus utama selain perbanyak vegetatif. Jaringan tanaman yang ditumbuhkan secara **in vitro** ternyata mampu mempertahankan (atau bahkan



meningkatkan) kemampuan untuk mensintesis senyawa metabolit sekunder tertentu. Ini disebabkan oleh:

1. **Retensi kemampuan biosintetik jaringan dediferensiasi**, seperti kalus dan sel suspensi.
2. **Kondisi lingkungan yang terkendali**, yang memungkinkan modifikasi jalur metabolismik melalui manipulasi media, hormon, pencahayaan, atau elicitor (penginduksi metabolit).
3. **Kemudahan dalam standardisasi dan reproduksibilitas**, yang sangat penting untuk keperluan industri.

Metabolit sekunder berbeda dari metabolit primer seperti karbohidrat, protein, dan asam lemak yang diperlukan untuk pertumbuhan dan kelangsungan hidup tanaman.

Metabolit sekunder terbentuk dari jalur metabolismik turunan primer, seperti jalur asetat-mevalonat, shikimat, dan metil eritritol fosfat (MEP). Fungsinya meliputi perlindungan terhadap herbivora, mikroba patogen, radiasi UV, serta sebagai senyawa penarik serangga penyebuk. Dalam konteks industri, metabolit sekunder berfungsi sebagai bahan baku obat-obatan, antioksidan, pewarna alami, dan aroma.

### 8.3. Jalur Biosintetik Metabolit Sekunder

Senyawa metabolit sekunder dihasilkan melalui jalur biosintetik kompleks seperti:

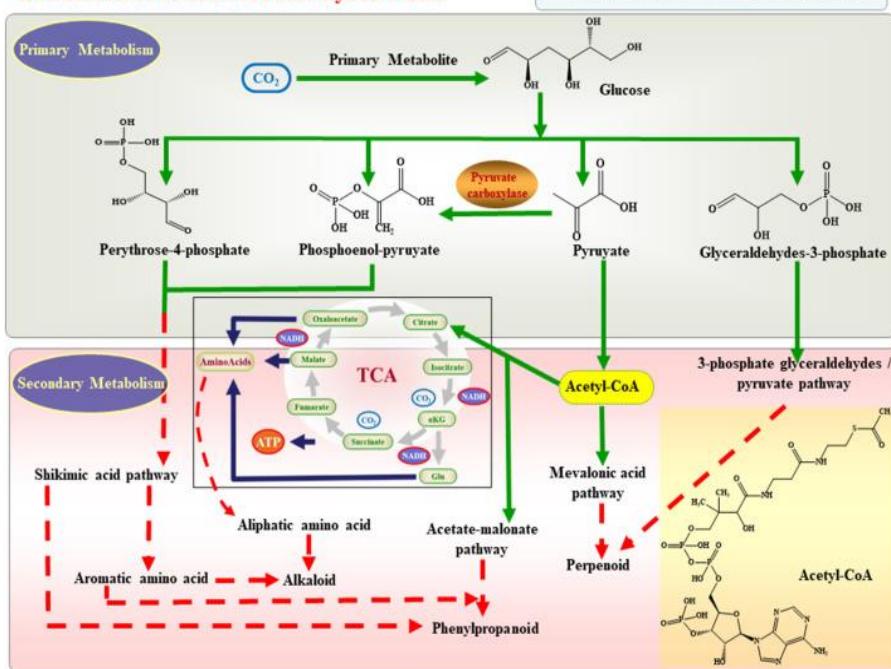
- **Shikimat Pathway** → menghasilkan fenilpropanoid dan flavonoid
- **Mevalonat (MVA) dan MEP Pathway** → menghasilkan terpenoid
- **Asam amino-derived Pathway** → menghasilkan alkaloid

Diagram jalur biosintetik bisa digunakan untuk memahami titik kontrol produksi. Pembentukan metabolit sekunder pada tanaman terjadi melalui rangkaian jalur biosintetik yang kompleks, yang berasal dari metabolit primer seperti karbohidrat, asam amino, dan lipid. Jalur biosintetik ini dikendalikan oleh enzim spesifik yang bekerja secara berurutan dalam sel tanaman, sehingga menghasilkan berbagai turunan senyawa yang memiliki struktur dan fungsi beragam.

Pemahaman tentang jalur biosintetik menjadi sangat penting dalam kultur jaringan, karena melalui manipulasi kondisi kultur (seperti media, cahaya, hormon, dan bahan penginduksi), aktivitas enzim dalam jalur tersebut dapat diatur untuk **meningkatkan akumulasi senyawa target**. Hal ini menjadikan sistem kultur jaringan sebagai model ideal untuk mempelajari regulasi dan produksi metabolit sekunder.



### Association of Metabolic Pathways in Plants



Secara umum, terdapat tiga jalur utama yang menjadi asal-usul biosintesis metabolit sekunder:

#### 1. Jalur Shikimat (Shikimic Acid Pathway)

Jalur ini menghasilkan senyawa aromatik seperti fenilpropanoid, flavonoid, tanin, dan lignin, yang berperan penting sebagai antioksidan dan pelindung sel tanaman. Proses dimulai dari metabolit primer fosfoenolpiruvat (PEP) dan eritrosa-4-fosfat, yang diubah menjadi asam shikimat. Dari senyawa ini, terbentuk asam amino aromatik seperti fenilalanin dan tirosin, yang kemudian menjadi prekursor berbagai senyawa fenolik.

- *Contoh hasil:* Asam galat, asam klorogenat, antosianin, dan flavonol.
- *Aplikasi dalam kultur jaringan:* Produksi flavonoid dari kalus *Camellia sinensis* atau antosianin dari suspensi sel *Daucus carota*.

#### 2. Jalur Mevalonat (MVA) dan Jalur Metil Eritritol Fosfat (MEP)

Kedua jalur ini terlibat dalam pembentukan senyawa terpenoid dan steroid, yang merupakan kelompok terbesar dari metabolit sekunder tanaman.



- Jalur **MVA** berlangsung di sitoplasma, menggunakan asetil-KoA sebagai prekursor.
- Jalur **MEP** terjadi di plastida, menggunakan gliseraldehida-3-fosfat (G3P) dan piruvat.

Keduanya menghasilkan isopentenil pirofosfat (IPP) dan dimetilalil pirofosfat (DMAPP), unit dasar penyusun berbagai senyawa seperti monoterpen, diterpen, dan seskuiterpen.

- *Contoh hasil:* Artemisinin dari *Artemisia annua*, ginkgolida dari *Ginkgo biloba*, dan saponin dari *Panax ginseng*.
- *Aplikasi dalam kultur jaringan:* Kultur akar rambut (hairy root culture) digunakan untuk memperbanyak jalur terpenoid secara efisien.

### 3. Jalur Asam Amino-Derived (Alkaloid Pathway)

Jalur ini menghasilkan **alkaloid**, yaitu senyawa nitrogen organik dengan aktivitas farmakologis tinggi. Berasal dari asam amino seperti triptofan, tirosin, atau ornitin, yang kemudian diubah oleh enzim transaminase dan metiltransferase menjadi senyawa heterosiklik kompleks.

- *Contoh hasil:* Kafein dari *Coffea arabica*, morfin dari *Papaver somniferum*, nikotin dari *Nicotiana tabacum*.
- *Aplikasi dalam kultur jaringan:* Kultur kalus *Catharanthus roseus* dapat menghasilkan vinkristin dan vinblastin, dua obat penting untuk terapi kanker.

## 8.4. Keterkaitan dengan Kultur Jaringan

Dalam sistem **kultur jaringan tanaman**, jalur-jalur biosintetik ini dapat **dimodulasi atau diinduksi** untuk meningkatkan produksi metabolit sekunder tertentu melalui pendekatan berikut:

- **Manipulasi media kultur:** pengaturan rasio sitokinin dan auksin dapat mengaktifkan jalur tertentu.
- **Pemberian elicitor:** seperti metil jasmonat atau asam salisilat, yang menstimulasi ekspresi gen biosintetik.
- **Optimasi kondisi fisik:** cahaya, pH, dan suhu memengaruhi aktivitas enzim kunci.
- **Kultur suspensi dan bioreaktor:** memungkinkan kontrol dinamis terhadap lingkungan dan suplai oksigen untuk biosintesis optimal.

Dengan demikian, pemahaman jalur biosintetik tidak hanya bersifat teoritis tetapi juga **aplikatif** dalam konteks kultur jaringan tanaman modern. Melalui pendekatan kombinatif antara bioteknologi dan teknik kultur sel, produksi metabolit bernilai tinggi dapat ditingkatkan secara signifikan dan berkelanjutan.



## 8.5. Teknik Kultur Untuk Produksi Metabolit Sekunder

Beberapa teknik kultur jaringan yang umum digunakan dalam produksi metabolit sekunder meliputi:

### 1. Kultur Kalus (Callus Culture)

Kalus merupakan jaringan tanaman yang belum berdiferensiasi dan tumbuh akibat induksi hormon auksin dan sitokinin. Kalus sering digunakan sebagai sistem produksi metabolit karena mudah diperbanyak dan dapat diinduksi untuk menghasilkan senyawa tertentu dengan penambahan prekursor atau elisitor.

### 2. Kultur Suspensi Sel (Cell Suspension Culture)

Teknik ini dilakukan dengan menumbuhkan sel-sel kalus dalam media cair dibawah pengadukan kontinu. Sistem ini memungkinkan produksi metabolit dalam volume besar dan memudahkan pemanenan senyawa yang terlarut dalam medium.

### 3. Kultur Akar Berbulu (Hairy Root Culture)

Sistem ini diinduksi oleh infeksi *Agrobacterium rhizogenes* yang menyebabkan pertumbuhan akar dengan laju cepat dan stabil secara genetik. Kultur akar berbulu sangat efisien dalam produksi senyawa spesifik akar seperti alkaloid dan saponin.

### 4. Kultur Organ Spesifik dan Bioreaktor Tanaman

Pengembangan skala industri menggunakan sistem bioreaktor tanaman (*plant bioreactor*) untuk mempertahankan kondisi aseptik dan mengontrol pH, cahaya, serta nutrisi guna meningkatkan hasil metabolit.

## 8.6. Kultur Jaringan Sebagai Sistem Produksi

Beberapa jenis kultur jaringan yang dimanfaatkan:

- **Kultur kalus:** jaringan dediferensiasi yang mampu memproduksi metabolit tertentu
- **Kultur suspensi sel:** sel hidup dalam media cair yang diaduk secara kontinyu, cocok untuk produksi massal
- **Organ culture** (akar/rambut akar): untuk senyawa yang hanya dihasilkan di jaringan tertentu
- **Bioreaktor tanaman:** sistem tertutup skala besar untuk produksi metabolit dibawah kontrol ketat

Keunggulan:

- Kondisi steril dan terkendali
- Tidak tergantung musim



- Reproduksibilitas tinggi
- Ramah lingkungan (tanpa pestisida)

## 8.7. Faktor yang Mempengaruhi Produksi Metabolit

- **Komposisi media** (sumber karbon, hormon)
- **Zat penginduksi metabolit** (elicitor seperti metil jasmonat, asam salisilat)
- **Cahaya, pH, suhu**
- **Jenis jaringan dan umur kalus**
- **Perlakuan stress** (osmotik, fisik, kimia)

## 8.8. Studi Kasus

### a. Produksi Antosianin Rekombinan di *E. coli*

Teknologi sintesis jalur antosianin berhasil diterapkan pada *E. coli* rekombinan dengan menyisipkan gen biosintetik dari tanaman. Hal ini memungkinkan produksi pigmen alami dalam skala besar dan murah.

### b. Produksi Artemisinin dari *Artemisia annua*

Kultur rambut akar (*hairy root culture*) dan suspensi sel *A. annua* telah digunakan untuk meningkatkan produksi artemisinin, antimalaria penting. Strategi optimalisasi termasuk penggunaan elicitor dan manipulasi genetik.

### c. Produksi Metabolit Sekunder Lokal

Indonesia memiliki potensi besar untuk produksi metabolit dari tanaman herbal lokal seperti:

- *Andrographis paniculata* (andrographolide)
- *Curcuma longa* (kurkumin)
- *Zingiber officinale* (gingerol)

## 8.9. Tantangan dan Prospek

Tantangan:

- Biaya produksi media dan alat
- Rendahnya hasil tanpa optimasi
- Kurangnya sumber daya manusia terlatih

Prospek:

- Pengembangan bioreaktor tanaman
- Integrasi dengan metabolomik dan rekayasa genetika
- Penerapan pada industri kosmetik, pangan fungsional, dan farmasi
- Peluang usaha agrobiotek berbasis kultur jaringan lokal



## 8.10. Kesimpulan

Produksi metabolit sekunder melalui kultur jaringan bukan hanya pendekatan akademik, tetapi juga menjadi solusi praktis dalam menyediakan senyawa bioaktif berkualitas tinggi secara berkelanjutan. Pemahaman terhadap teknik, kondisi, dan jalur biosintetik menjadi kunci untuk mendukung produksi senyawa metabolit bernilai tinggi dari sumber daya hayati Indonesia.

## 8.11. Soal Latihan

1. **Jelaskan perbedaan mendasar antara metabolit primer dan metabolit sekunder** dalam konteks fungsi biologis dan aplikasinya di bidang bioteknologi. Berikan masing-masing dua contoh senyawanya.

---

2. **Mengapa teknik kultur jaringan menjadi alternatif penting untuk produksi metabolit sekunder** dibandingkan budidaya tanaman secara konvensional di lapangan? Jelaskan dari sisi efisiensi, kestabilan, dan kontrol lingkungan.

---

3. **Uraikan peran hormon tumbuh (auksin dan sitokinin)** dalam pembentukan kalus dan bagaimana pengaturan rasio keduanya dapat memengaruhi produksi metabolit sekunder pada kultur *in vitro*.

---

4. **Jelaskan prinsip kerja sistem kultur suspensi sel** dan sebutkan dua kelebihan utamanya dibandingkan sistem kultur kalus dalam produksi metabolit sekunder berskala besar.

---

5. **Kultur akar berbulu (*hairy root culture*) dianggap lebih efisien daripada kultur kalus** dalam menghasilkan metabolit sekunder tertentu. Jelaskan alasannya dan berikan contoh tanaman serta jenis senyawa yang dapat dihasilkan melalui sistem ini.

---

6. **Faktor-faktor apa saja yang memengaruhi akumulasi metabolit sekunder dalam kultur jaringan tanaman?** Jelaskan secara rinci peran setiap faktor, termasuk media, hormon, cahaya, elisitor, dan usia kultur.

---

7. **Apa yang dimaksud dengan elisitasi dalam konteks produksi metabolit sekunder?** Jelaskan mekanisme kerja elisitor dan berikan contoh elisitor alami serta sintetis yang umum digunakan dalam penelitian.

---



8. **Diskusikan bagaimana transformasi genetik dan rekayasa metabolismik** dapat digunakan untuk meningkatkan produksi metabolit sekunder dalam kultur jaringan. Sertakan contoh gen atau jalur biosintesis yang dimodifikasi.

---

9. **Indonesia dikenal kaya akan tanaman obat tropis.** Pilih satu tanaman lokal dan jelaskan rancangan sederhana sistem kultur jaringan *in vitro* yang dapat digunakan untuk memproduksi senyawa bioaktif utama dari tanaman tersebut. Jelaskan alasan pemilihan teknik (kalus, suspensi, atau akar berbulu).

---

10. **Evaluasi tantangan dan prospek masa depan teknologi kultur jaringan** dalam produksi metabolit sekunder untuk industri farmasi dan kosmetik di Indonesia. Sertakan pendapat Anda mengenai bagaimana integrasi antara kultur jaringan dan bioteknologi molekuler dapat memperkuat ketahanan bioindustri nasional.



## BAB IX. PERAN KULTUR JARINGAN TANAMAN

Sub CPMK	Mahasiswa mampu menganalisis penerapan dan kontribusi teknologi kultur jaringan dalam berbagai bidang, seperti pertanian, kehutanan, farmasi, konservasi, dan bioindustri.
Tujuan	<ol style="list-style-type: none"><li>1. Mahasiswa memahami peran strategis kultur jaringan dalam menunjang ketahanan pangan, konservasi sumber daya hayati, dan industri biofarmaka.</li><li>2. Mahasiswa dapat menjelaskan berbagai aplikasi kultur jaringan tanaman pada skala laboratorium hingga industri.</li><li>3. Mahasiswa mampu menilai keunggulan dan keterbatasan teknologi kultur jaringan dalam sistem produksi modern.</li><li>4. Mahasiswa memiliki wawasan tentang arah pengembangan dan inovasi kultur jaringan di masa depan.</li></ol>



## 9.1. Pendahuluan

Kultur jaringan tanaman merupakan salah satu pilar utama dalam bioteknologi modern yang berkontribusi besar pada pengembangan sektor **pertanian, kehutanan, farmasi, dan industri bioekonomi**. Teknologi ini memungkinkan perbanyaktanaman secara cepat dan efisien melalui metode *in vitro*, yang menghasilkan bibit unggul dengan sifat genetik seragam, bebas penyakit, dan siap tanam sepanjang tahun.

Kultur jaringan tanaman saat ini memiliki penerapan yang sangat luas, khususnya pada spesies pertanian dan industri bernilai ekonomi tinggi. Teknologi ini mencakup berbagai teknik yang memungkinkan regenerasi sel, jaringan, dan organ tanaman dari potongan jaringan kecil (*eksplan*) dalam kondisi aseptik dan terkontrol. Prinsip dasarnya adalah **kemampuan sel tanaman untuk** beregenerasi menjadi individu baru (totipotensi) ketika diberi rangsangan fisiologis yang tepat.

Keunggulan utama metode ini terletak pada efisiensi, kecepatan, dan kontrol lingkungan yang tinggi dibandingkan dengan perbanyaktanaman konvensional. Kultur jaringan membutuhkan ruang lebih sedikit, menghasilkan bibit dalam jumlah besar, bebas hama dan penyakit, serta tidak bergantung pada musim. Oleh karena itu, teknologi ini menjadi alternatif strategis dalam sistem produksi pertanian modern.

Sejak penelitian awal oleh Haberlandt (1902) dan hasil praktis oleh White (1934), berbagai teknik kultur jaringan telah berkembang pesat, seperti mikropropagasi, kultur meristem, dan embriogenesis somatik. Tingkat keberhasilan dari tiap teknik bergantung pada kesesuaian nutrisi dan hormon dalam media yang digunakan, serta tujuan akhir kultur, misalnya perbanyaktanaman, konservasi, atau produksi senyawa bioaktif.

Dalam perkembangan selanjutnya, media Murashige & Skoog (MS) menjadi standar yang paling banyak digunakan karena mendukung pertumbuhan cepat dan regenerasi berbagai spesies tanaman. Dengan demikian, kultur jaringan kini tidak hanya menjadi teknik dasar perbanyaktanaman, tetapi juga alat penting dalam sistem produksi industri, konservasi plasma nutfah, dan pengembangan bioteknologi pertanian berkelanjutan.

## 9.2. Kultur Jaringan dalam Pertanian

Kultur jaringan tanaman merupakan salah satu teknologi bioteknologi yang memiliki dampak besar dalam bidang pertanian dan industri. Melalui pendekatan ***in vitro***, teknologi ini memungkinkan produksi tanaman dalam jumlah besar, dengan kualitas genetik yang seragam dan bebas dari penyakit. Kemampuannya untuk menyediakan bibit unggul secara cepat telah menjadikannya salah satu pilar penting dalam pertanian modern untuk menjawab kebutuhan pangan dunia yang terus meningkat.



Penerapan bioteknologi dalam pertanian kini telah mencapai tingkat yang belum pernah terjadi sebelumnya. Kultur jaringan tidak hanya berfungsi untuk memperbanyak tanaman, tetapi juga menjadi sarana untuk mempelajari, memodifikasi, dan memperbaiki sifat genetik tanaman. Dengan teknik yang tepat, sel atau jaringan tanaman yang dikultur dapat menghasilkan variasi somaklonal, yaitu variasi genetik yang muncul akibat perubahan selama proses kultur. Variasi ini sering dimanfaatkan sebagai sumber genetik baru untuk mendapatkan genotipe unggul yang lebih adaptif dan produktif.

Teknik kultur jaringan juga digunakan dalam berbagai aplikasi mikropropagasi massal, yaitu perbanyak tanaman dalam jumlah besar dalam waktu singkat. Pada tanaman tahunan atau pohon berkayu, pendekatan *in vitro* regenerasi digunakan untuk memperbanyak tanaman yang sulit diperbanyak secara konvensional. Selain itu, teknik kultur embrio zigotik, baik yang sudah matang maupun belum, membantu menyelamatkan embrio hasil persilangan antarspesies atau antar-marga (interspesifik dan intergenerik) yang biasanya tidak dapat menghasilkan biji subur secara alami.

Dalam konteks rekayasa genetika, kultur jaringan berperan penting sebagai dasar dalam proses transformasi genetik. Teknologi ini menggabungkan kemampuan kultur jaringan untuk menumbuhkan jaringan tanaman dengan teknik biologi molekuler untuk memperkenalkan gen baru ke dalam genom tanaman. Melalui pendekatan ini, dihasilkan berbagai varietas tanaman unggul yang memiliki sifat-sifat seperti ketahanan terhadap penyakit, toleransi terhadap cekaman lingkungan, dan peningkatan hasil panen.

Secara umum, aplikasi kultur jaringan dalam pertanian modern mencakup:

- *Produksi varietas tanaman unggul*, melalui regenerasi dari jaringan yang telah dimodifikasi secara genetik.
- *Produksi tanaman bebas penyakit*, terutama untuk tanaman yang mudah terinfeksi virus seperti pisang, kentang, dan tebu.
- *Transformasi genetik*, sebagai bagian dari program pemuliaan modern berbasis DNA.
- *Produksi metabolit sekunder*, misalnya senyawa antioksidan, alkaloid, atau minyak atsiri yang bernilai ekonomi tinggi.
- *Pengembangan varietas tahan cekaman abiotik*, seperti salinitas (garam), kekeringan, dan suhu ekstrem.

Kombinasi antara kultur jaringan dan bioteknologi modern telah mengubah cara manusia memperbanyak, memperbaiki, dan melestarikan tanaman. Dengan kemajuan rekayasa genetik, kultur jaringan kini tidak hanya berfungsi sebagai alat propagasi, tetapi juga sebagai platform penelitian dan inovasi genetika tanaman yang menjadi fondasi pertanian berkelanjutan di masa depan.



### 9.3. Kultur Jaringan dalam Kehutanan

Kultur jaringan juga memiliki peran strategis dalam pengelolaan sumber daya hutan dan produksi tanaman kehutanan bernilai ekonomi tinggi. Teknologi ini memungkinkan perbanyakkan vegetatif pohon unggul dalam jumlah besar dengan waktu yang lebih singkat dibandingkan metode konvensional. Melalui teknik ini, sifat genetik pohon induk yang diinginkan—seperti pertumbuhan cepat, ketahanan terhadap hama, atau kualitas kayu yang baik—dapat dipertahankan secara konsisten.

Beberapa spesies pohon yang telah berhasil dikembangkan melalui kultur jaringan antara lain jati (*Tectona grandis*), eukaliptus (*Eucalyptus spp.*), pinus (*Pinus merkusii*), dan akasia (*Acacia mangium*). Mikropropagasi dan embriogenesis somatik menjadi metode utama yang digunakan untuk memperbanyak bibit pohon-pohon tersebut secara efisien dan seragam.

Selain perbanyak, teknik ini juga sangat penting dalam konservasi dan restorasi hutan. Melalui *cryopreservation* dan *in vitro germplasm storage*, plasma nutfah pohon langka atau endemik dapat disimpan dalam jangka panjang tanpa kehilangan viabilitas genetiknya. Pendekatan ini berperan besar dalam pelestarian keanekaragaman hayati dan menjaga potensi genetik spesies pohon asli Indonesia yang terancam oleh deforestasi. Di sisi industri, kultur jaringan membantu penyediaan bibit siap tanam untuk program reboisasi, agroforestri, dan industri kayu berkelanjutan. Bibit hasil kultur jaringan lebih mudah dikendalikan mutunya dan dapat diproduksi sepanjang tahun, sehingga mendukung stabilitas pasokan bahan baku kehutanan.

### 9.4. Kultur Jaringan dalam Bidang Farmasi

Kultur sel dan jaringan tanaman sangat menjanjikan untuk produksi terkontrol berbagai metabolit sekunder yang berguna. Kultur sel tanaman menggabungkan manfaat dari sistem seluruh tanaman dengan kultur sel mikroba dan hewan untuk produksi metabolit sekunder terapeutik yang berharga. Dalam pencarian alternatif untuk produksi senyawa obat dari tanaman, pendekatan bioteknologi, khususnya kultur jaringan tanaman, ditemukan memiliki potensi sebagai suplemen pertanian tradisional dalam produksi industri metabolit tanaman bioaktif. Eksplorasi kemampuan biosintetik dari berbagai kultur sel telah dilakukan oleh sekelompok ilmuwan tanaman dan ahli mikrobiologi di beberapa negara selama dekade terakhir.

**Kultur suspensi sel:** Sistem kultur suspensi sel sekarang digunakan untuk kultur skala besar sel tanaman dari mana metabolit sekunder dapat diekstraksi. Kultur suspensi dikembangkan dengan mentransfer bagian kalus yang relatif rapuh ke dalam media cair dan dipertahankan pada kondisi aerasi, agitasi, cahaya, suhu dan parameter fisik lainnya yang sesuai. Kultur sel tidak hanya dapat



menghasilkan fitokimia standar yang ditentukan dalam volume besar tetapi juga menghilangkan keberadaan senyawa pengganggu yang terjadi di tanaman yang ditanam di lapangan. Keuntungan dari metode ini adalah pada akhirnya dapat menyediakan sumber produk alami yang berkelanjutan dan dapat diandalkan. Keuntungan utama dari kultur sel termasuk sintesis metabolit sekunder bioaktif, berjalan di lingkungan yang terkendali, terlepas dari kondisi iklim dan tanah. Sejumlah jenis bioreaktor telah digunakan untuk budidaya massal sel tanaman. Aplikasi komersial pertama budidaya sel tumbuhan skala besar dilakukan dalam reaktor tangki berpengaduk berkapasitas 200 liter dan 750 liter untuk menghasilkan shikonin dengan kultur sel *Lithospermum erythrorhizon*. sel dari *Catharanthus roseus*, *Dioscorea deltoidea*, *Digitalis lanata*, *Panax notoginseng*, *Taxus wallichiana* dan *Podophyllum hexandrum* telah dibudidayakan di berbagai bioreaktor untuk produksi produk tanaman sekunder.

Sejumlah alkaloid penting secara medis, obat antikanker, protein rekombinan dan aditif makanan diproduksi di berbagai kultur sel dan jaringan tanaman. Kemajuan di bidang kultur sel untuk produksi senyawa obat telah memungkinkan produksi berbagai macam obat-obatan seperti alkaloid, terpenoid, steroid, saponin, fenolat, flavanoid dan asam amino. Beberapa di antaranya sekarang tersedia secara komersial di pasaran misalnya shikonin dan paclitaxel (Taxol). Sampai saat ini 20 protein rekombinan yang berbeda telah diproduksi dalam kultur sel tanaman, termasuk antibodi, enzim, vaksin yang dapat dimakan, faktor pertumbuhan dan sitokin . Kemajuan dalam pendekatan peningkatan skala dan teknik imobilisasi berkontribusi pada peningkatan yang cukup besar dalam jumlah aplikasi kultur sel tanaman untuk produksi senyawa dengan nilai tambah tinggi. Beberapa produk tanaman sekunder yang diperoleh dari kultur suspensi sel berbagai tanaman diberikan pada Tabel 10.1.

**Tabel 9.1.** Daftar Beberapa Produk Tanaman Sekunder Yang Diproduksi Dalam Kultur Suspensi

Metabolit sekunder	Nama tanaman
Mereka tidak punya	Datadavasica
Artemisinin	Artemisia tahun
Azadirachtin	Azadirachta indica
Cathy	Bruceajavanica
capsaicin	tahun kentang
Sennosides	Cassia senna
Ajmalisin Secologanin Alkaloid Indole Vincristine	Catharanthus roseus
Kaki baja	Cayratia trifoliata



Berberin	Cosciniumfenustratum
sterol	Hisop officinalis
menonton	Lithospermumerythrorhizon
Ginseng saponin	Panaxnotoginseng
Podophyllotoxin	Podophyllumhexandrum
Taxane Paclitaxel	Taxuschinensis

Teknologi kultur jaringan tidak hanya digunakan untuk perbanyakan tanaman, tetapi juga memiliki peran penting dalam produksi senyawa bioaktif bernilai farmasi dan industri. Melalui sistem kultur *in vitro*, berbagai metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, saponin, dan terpenoid dapat diproduksi dalam kondisi yang terkontrol, stabil, dan bebas kontaminasi lingkungan.

Pendekatan ini memberikan keuntungan besar dibandingkan ekstraksi dari tanaman lapangan, yang sering dipengaruhi musim, umur tanaman, dan ketersediaan bahan baku. Melalui kultur kalus, suspensi sel, dan akar berbulu (*hairy root culture*), produksi metabolit sekunder dapat dilakukan sepanjang tahun, dengan hasil yang konsisten dan tingkat kemurnian tinggi.

Beberapa contoh aplikasi nyata antara lain produksi vinkristin dan vinblastin dari *Catharanthus roseus* untuk obat antikanker, ginsenosida dari *Panax ginseng* sebagai bahan imunostimulan, dan paclitaxel (Taxol) dari *Taxus brevifolia* untuk terapi kemoterapi. Di Indonesia, pendekatan serupa berpotensi diterapkan untuk tanaman obat lokal seperti *Curcuma longa*, *Zingiber officinale*, dan *Phyllanthus niruri*.

Selain bidang farmasi, kultur jaringan juga berperan dalam bioindustri dan bioteknologi hijau. Sistem bioreaktor tanaman digunakan untuk memproduksi senyawa pewarna alami, antioksidan, aroma, dan enzim industri secara berkelanjutan. Teknologi ini mengurangi ketergantungan terhadap bahan alam liar sekaligus mendukung prinsip produksi ramah lingkungan.

Melalui kombinasi kultur jaringan, transformasi genetik, dan optimasi jalur biosintesis, bioindustri berbasis tanaman kini menjadi sektor penting dalam pembangunan ekonomi hijau. Dengan demikian, kultur jaringan berperan sebagai penghubung antara biologi sel tanaman dan industri farmasi modern, menghadirkan peluang besar untuk inovasi obat dan bahan alami masa depan.

## 9.5. Kultur Jaringan untuk Konservasi dan Ketahanan Pangan

Kultur jaringan tanaman memiliki peran yang sangat penting dalam konservasi plasma nutfah dan pelestarian keanekaragaman hayati, terutama di negara tropis seperti Indonesia yang memiliki ribuan spesies endemik dan tanaman langka. Melalui teknik *in vitro conservation* dan *cryopreservation*, bagian tanaman



seperti embrio, meristem, atau kalus dapat disimpan dalam kondisi suhu rendah untuk jangka waktu panjang tanpa kehilangan viabilitas genetik.

Teknik ini memungkinkan penyimpanan dan pemulihannya kembali tanaman langka, misalnya anggrek endemik, *Nepenthes* (kantong semar), dan beberapa jenis tumbuhan obat liar yang terancam punah akibat eksploitasi berlebihan. Selain berfungsi sebagai bank genetik (gene bank), pendekatan ini juga mendukung program rehabilitasi ekosistem dan restorasi kawasan hutan tropis.

Dalam konteks ketahanan pangan, kultur jaringan berperan besar dalam penyediaan bibit unggul dan tahan cekaman lingkungan, seperti kekeringan, salinitas, dan penyakit. Bibit hasil kultur jaringan memiliki tingkat keseragaman tinggi, pertumbuhan cepat, serta dapat diproduksi dalam jumlah besar tanpa bergantung pada musim. Hal ini sangat penting dalam menjaga stabilitas produksi pangan nasional dan mendukung program swasembada tanaman pangan.

Selain itu, teknik kultur jaringan menjadi alat pendukung pemuliaan tanaman modern, terutama melalui pendekatan embriogenesis somatik, variasi somaklonal, dan integrasi dengan teknologi transgenik. Kombinasi ini memungkinkan pengembangan varietas unggul yang lebih adaptif terhadap perubahan iklim dan efisien dalam penggunaan sumber daya.

Dengan demikian, kultur jaringan berfungsi ganda: melestarikan sumber genetik masa lalu sekaligus menciptakan ketahanan pangan masa depan. Teknologi ini tidak hanya mendukung konservasi biodiversitas, tetapi juga menjadi fondasi bagi sistem pertanian berkelanjutan dan bioekonomi berbasis sumber daya hayati.

## 9.6. Konservasi Plasma Nutfah

Plasma nutfah merupakan keseluruhan sumber daya genetik suatu spesies tanaman, baik dalam bentuk biji, jaringan vegetatif, maupun sel yang menyimpan informasi genetik penting. Upaya konservasi plasma nutfah menjadi sangat penting di tengah meningkatnya laju kepunahan spesies tanaman akibat perubahan iklim, degradasi habitat, dan eksploitasi berlebihan. Teknologi kultur jaringan tanaman secara *in vitro* kini menjadi salah satu strategi efektif untuk melestarikan genotipe tanaman yang langka atau terancam punah.

Kultur sel, jaringan, atau organ secara *in vitro* memberikan alternatif konservasi bagi tanaman yang sulit disimpan dalam bentuk biji, seperti tanaman steril, tanaman dengan biji yang tidak tahan simpan, atau tanaman yang diperbanyak secara vegetatif (klonal). Teknik ini memungkinkan pelestarian genotipe secara stabil, menjaga keaslian sifat genetik tanaman induk, serta melindungi material genetik tersebut dari ancaman bencana alam, hama, penyakit, maupun perubahan lingkungan ekstrem (stres biotik dan abiotik).

Salah satu metode utama dalam konservasi jangka panjang adalah kriopreservasi, yaitu teknik penyimpanan sel atau jaringan tanaman dalam nitrogen cair (sekitar -196°C). Pada suhu ini, seluruh aktivitas metabolisme



berhenti sehingga jaringan dapat disimpan dalam waktu yang sangat lama tanpa kehilangan viabilitas. Walaupun demikian, proses pembekuan dan pencairan kembali dapat menimbulkan tekanan fisik dan kimia pada jaringan, sehingga diperlukan protokol krioproteksi yang tepat untuk mencegah kerusakan sel.

Keberhasilan kriopreservasi ditentukan oleh kemampuan jaringan untuk bertahan hidup dan beregenerasi setelah dikeluarkan dari penyimpanan dingin. Jaringan yang berhasil dikembalikan harus mampu tumbuh menjadi tanaman utuh atau membentuk koloni baru yang sehat. Setelah proses ini, penting untuk memastikan bahwa tanaman hasil regenerasi memiliki stabilitas genetik yang sama dengan bahan asal (*true-to-type*). Evaluasi dilakukan melalui berbagai pendekatan, meliputi:

- Fenotipik, dengan mengamati morfologi dan karakter pertumbuhan tanaman hasil regenerasi.
- Histologis dan sitologis, melalui pengamatan struktur jaringan dan kromosom.
- Biokimia, dengan membandingkan profil metabolit atau enzim tertentu.
- Molekuler, menggunakan penanda DNA (misalnya RAPD, ISSR, atau SSR) untuk memastikan kesetiaan genetik.

Pendekatan baru dalam bidang ini dikenal sebagai kriobionomik, yaitu disiplin yang mempelajari interaksi antara kondisi kriogenik dan stabilitas genetik bahan tanaman yang disimpan secara beku. Dengan pendekatan ini, peneliti dapat memahami bagaimana kondisi ekstrem selama penyimpanan memengaruhi struktur sel, ekspresi gen, dan integritas DNA.

Selain itu, jaringan embrio, kalus, dan meristem pucuk dapat disimpan melalui kriopreservasi untuk keperluan konservasi plasma nutrimental jangka panjang atau digunakan kembali untuk regenerasi tanaman unggul di masa depan. Dengan demikian, kombinasi antara kultur jaringan dan krioteknologi telah menjadi strategi yang sangat penting untuk melindungi dan memanfaatkan kekayaan genetik tumbuhan secara berkelanjutan.

## 9.7. Studi Kasus

### a. Studi Kasus 1

Anggrek merupakan salah satu tanaman hias paling populer di dunia karena keindahan, keunikan, dan keharuman bunganya. Catatan sejarah menunjukkan bahwa anggrek telah dibudidayakan sejak masa Konfusius (sekitar 551–479 SM). Selain sebagai tanaman hias, beberapa spesies anggrek juga dimanfaatkan dalam industri makanan dan pengobatan tradisional, misalnya sebagai bahan terapi diare dan afrodisiak.

Namun, perbanyakan vegetatif anggrek *Phalaenopsis* secara konvensional tergolong sulit dan membutuhkan waktu lama. Teknik ini juga sering gagal menghasilkan bibit dengan keseragaman genetik dan karakteristik yang



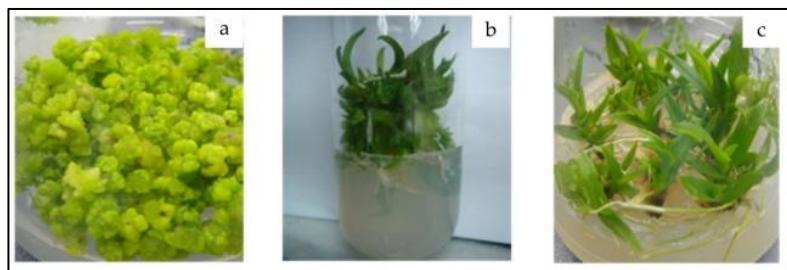
diinginkan. Untuk mengatasi keterbatasan tersebut, dikembangkanlah metode kultur jaringan secara *in vitro* guna memperoleh bibit dalam jumlah besar dan seragam dalam waktu lebih singkat.

Penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan protokol regenerasi *Phalaenopsis* melalui pembentukan kalus dan diferensiasi tunas. Eksplan berupa kalus diperoleh dari jaringan tanaman dewasa, kemudian dikultur pada media Murashige dan Skoog (MS) yang mengandung sukrosa 3%, agar 0,8%, serta kombinasi hormon pertumbuhan benzilaminopurin (BAP) dan 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) pada berbagai konsentrasi.

Kalus disubkultur setiap 30 hari untuk merangsang proliferasi. Hasil terbaik diperoleh pada media MS dengan penambahan 0,5 mg/L BAP, yang menghasilkan kalus berwarna hijau segar dan tekstur padat. Selanjutnya, kalus dipindahkan ke media MS yang mengandung BAP dan giberelin ( $GA_3$ ) untuk merangsang pembentukan dan pemanjangan tunas. Pemanjangan tunas maksimum terjadi pada media dengan 1,0 mg/L  $GA_3$ .

Tunas yang telah terbentuk kemudian dipindahkan ke media akar dengan penambahan 2,0 mg/L IBA (Indole-3-butyric acid) untuk menginduksi pertumbuhan akar. Tanaman hasil regenerasi menunjukkan perkembangan akar yang baik dan vigor yang tinggi.

Langkah selanjutnya adalah aklimatisasi tanaman hasil kultur ke lingkungan alami, dengan pengujian berbagai komposisi media pot untuk menentukan kondisi tumbuh paling optimal. Dengan metode ini, produksi massal anggrek *Phalaenopsis* menjadi lebih efisien dan ekonomis, membuka peluang besar untuk pengembangan industri anggrek sebagai komoditas hortikultura bernilai tinggi dan sumber pendapatan baru bagi masyarakat lokal.



**Gambar 9.1.** Mikropropagasi Anggrek (A) Kultur Kalus (B) Regenerasi Tunas (C) Planlet Berakar

#### b. Studi Kasus 2

Tembakau (*Nicotiana tabacum*) merupakan salah satu tanaman komersial penting di dunia, termasuk di Pakistan, dengan luas areal budidaya yang signifikan dan nilai ekonomi yang tinggi. Daun tembakau digunakan dalam berbagai industri, dan hasil olahannya tersedia dalam bentuk kering, diauwetkan, maupun alami.

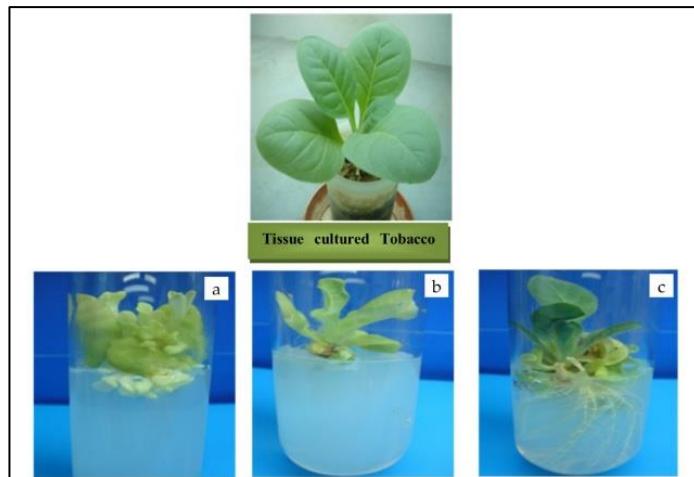


Untuk mendukung program perbaikan mutu dan efisiensi produksi, dilakukan perbanyak klonal empat varietas hibrida tembakau rendah nikotin, yaitu PGH-01, PGH-02, PGH-04, dan PGH-09. Tujuan utama kegiatan ini adalah mengembangkan sistem kultur jaringan untuk menyediakan bibit unggul secara massal yang dapat dikomersialisasikan kepada petani dan industri pengolahan tembakau. Tanaman induk disediakan oleh *Pakistan Tobacco Board (PTB)* sebagai sumber eksplan.

Daun muda dan meristem digunakan sebagai bahan awal untuk inisiasi kultur kalus. Induksi dan proliferasi kalus dilakukan pada media Murashige dan Skoog (MS) yang diperkaya dengan berbagai konsentrasi hormon 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D). Pertumbuhan kalus terbaik diperoleh pada media yang mengandung 1,0 mg/L 2,4-D, menghasilkan kalus dengan tekstur padat dan warna hijau cerah.

Kalus yang telah stabil kemudian dipindahkan ke media regenerasi yang mengandung sitokinin Benzylaminopurin (BAP). Regenerasi tunas paling efisien diperoleh pada media MS dengan 0,5 mg/L BAP, yang menghasilkan tunas sehat dengan tingkat proliferasi tinggi.

Untuk tahap induksi akar, berbagai kombinasi auksin diuji menggunakan Indole-3-butiric acid (IBA) dan Naphthaleneacetic acid (NAA). Hasil terbaik dicapai pada media dengan 2,0 mg/L IBA, yang menghasilkan pertumbuhan akar kuat dan sistem perakaran yang stabil.



**Gambar 9.2.** Kultur Jaringan Darinicotianatabacum (A) Kalus (B) Regenerasi Tunas (C) Induksi Akar

Metode ini terbukti efektif untuk memperbanyak varietas hibrida tembakau rendah nikotin secara seragam dan cepat. Keberhasilan perbanyak klonal ini tidak hanya mendukung penyediaan bahan tanam



berkualitas tinggi bagi industri, tetapi juga membuka peluang penerapan kultur jaringan sebagai solusi perbanyak tanaman komersial bernilai ekonomi tinggi dalam skala industri pertanian modern.

### c. Studi Kasus 3

*Stevia rebaudiana* Bertoni, atau dikenal sebagai tanaman stevia, merupakan sumber alami pemanis non-kalori yang berasal dari Amerika Selatan. Daunnya mengandung senyawa steviol glikosida yang memiliki tingkat kemanisan 200–300 kali lebih tinggi dibandingkan gula tebu, menjadikannya komoditas penting dalam industri makanan dan kesehatan. Namun, perbanyak tanaman stevia secara konvensional melalui biji sering menghasilkan keturunan dengan keragaman genetik tinggi, sedangkan perbanyak vegetatif memerlukan waktu lama dan menghasilkan jumlah bibit terbatas.

Untuk mengatasi keterbatasan tersebut, dilakukan penelitian perbanyak klonal *Stevia rebaudiana* secara *in vitro* menggunakan teknik kultur jaringan. Benih stevia disterilisasi dan ditanam pada media Murashige dan Skoog (MS), kemudian ditempatkan di ruang kultur dengan fotoperiode 16 jam terang dan 8 jam gelap. Bibit yang telah memiliki empat ruas batang dipotong menjadi eksplan nodal sepanjang ±0,5 cm dan digunakan sebagai bahan tanam.

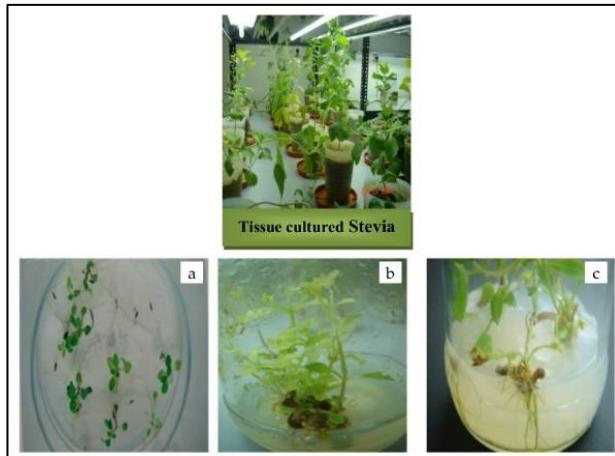
Untuk induksi dan perbanyak tunas, eksplan nodal dikultur pada media MS yang mengandung 3% sukrosa dengan variasi hormon Benzylaminopurin (BAP) dan Kinetin (Kn) masing-masing 0,5–4,0 mg/L, baik secara tunggal maupun dikombinasikan dengan Indole-3-acetic acid (IAA) 0,25–0,5 mg/L. Hasil terbaik diperoleh pada media MS yang mengandung 2,0 mg/L BAP, yang menghasilkan pembentukan tunas ganda dengan efisiensi tinggi. Sementara itu, panjang tunas tertinggi ( $3,73 \pm 0,14$  cm) diamati pada media yang mengandung 2,0 mg/L Kinetin dan 0,25 mg/L IAA setelah 15 hari inkubasi.

Tunas mikro yang terbentuk kemudian dipindahkan ke media akar untuk induksi perakaran, menggunakan Naphthaleneacetic acid (NAA) dan Indole-3-butiric acid (IBA) dalam konsentrasi 0,25–1,5 mg/L. Hasil terbaik diperoleh pada media MS dengan 0,5 mg/L NAA dan 2% sukrosa, yang memberikan tingkat perakaran optimal mencapai 81% dalam dua minggu setelah transfer kultur.

Tanaman berakar kemudian diaklimatisasi secara bertahap dan dipindahkan ke rumah kaca dengan intensitas cahaya rendah, di mana seluruh plantlet menunjukkan pertumbuhan normal dan vigor yang baik. Protokol ini berhasil mengoptimalkan perbanyak klonal *Stevia rebaudiana* di lingkungan lokal, sehingga sangat potensial untuk diterapkan dalam



produksi skala komersial dan pengembangan industri pemanis alami di berbagai kondisi agroklimat.



**Gambar 9.3.** In Vitropenyebearans. Rebaudiana (A) Perkecambahan Biji Pada Media MS (B) Perbanyakan Tunas (C) Perkembangan Akar.

#### d. Studi Kasus 4

Kentang (*Solanum tuberosum L.*) merupakan salah satu tanaman pangan utama dunia dan termasuk sayuran terpenting di Pakistan, dengan area budidaya yang luas dan nilai ekonomi tinggi. Selain menjadi sumber karbohidrat penting, kentang juga kaya akan vitamin, mineral, dan protein, sehingga memiliki nilai gizi yang tinggi bagi masyarakat. Namun, perbanyakannya secara konvensional melalui umbi sering terkendala oleh penyebaran penyakit virus dan bakteri, yang menyebabkan penurunan hasil panen.

Untuk mengatasi hal tersebut, digunakan teknik kultur jaringan sebagai metode perbanyakannya cepat dan bebas penyakit. Penelitian ini bertujuan mengembangkan protokol perbanyakannya massal tiga varietas kentang unggul yang bersifat *true-to-type*, yaitu *Desiree*, *Diamant*, dan *Cardinal*. Bahan tanaman diperoleh dari *Four Brothers Agri Services Pakistan*, perusahaan yang bergerak dalam pengembangan varietas hortikultura berdaya hasil tinggi.

Umbi kentang bebas penyakit dicuci dengan deterjen dan air suling untuk menghilangkan kotoran, kemudian dibiarkan bertunas. Kecambah berumur lima hari digunakan sebagai eksplan untuk perkembangbiakan langsung. Proses sterilisasi dilakukan secara hati-hati menggunakan deterjen selama 10 menit, diikuti dengan perendaman dalam larutan merkuri klorida



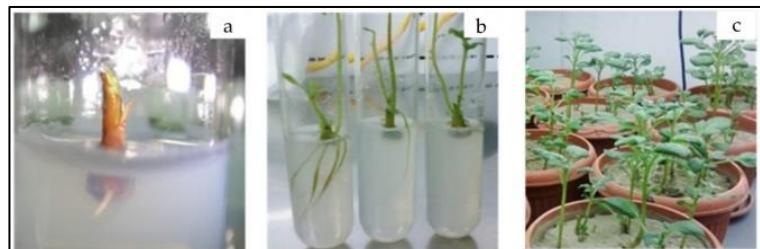
0,1% selama 5 menit, lalu dibilas tiga kali menggunakan air suling steril untuk menghilangkan sisa bahan kimia.

Kecambah kemudian dipotong secara aseptik menjadi bagian berukuran  $\pm 10$  mm yang masing-masing mengandung satu nodus, lalu diinokulasi ke dalam media Espinosa yang ditambah vitamin B5, dengan variasi konsentrasi hormon Benzylaminopurin (BAP) dan Gibberellic acid ( $GA_3$ ), baik secara tunggal maupun kombinasi. Hasil terbaik diperoleh pada media yang mengandung 0,5 mg/L BAP dan 0,4 mg/L  $GA_3$ , yang menghasilkan panjang tunas tertinggi dan jumlah planlet terbanyak per eksplan.

Untuk tahap induksi akar, digunakan media yang sama dengan penambahan auksin Naphthaleneacetic acid (NAA) dan Indole-3-butyric acid (IBA) dalam konsentrasi berbeda. Perkembangan akar terbaik diperoleh pada media dengan 2,0 mg/L NAA, yang menghasilkan sistem perakaran kuat dan sehat.

Tanaman hasil pertumbuhan yang telah berakar kemudian diaklimatisasi secara bertahap sebelum dipindahkan ke rumah kaca untuk penyesuaian lingkungan. Planlet yang berhasil tumbuh normal dikirim kembali ke perusahaan untuk dibudidayakan dalam skala lapangan.

Keberhasilan penelitian ini menunjukkan bahwa kultur jaringan merupakan metode efektif untuk memperbanyak kentang bebas penyakit dalam jumlah besar, sekaligus mempercepat penyediaan bibit unggul bagi industri pertanian. Pendekatan ini mendukung peningkatan produktivitas dan ketahanan pangan melalui penggunaan bahan tanam yang sehat, seragam, dan bernilai ekonomi tinggi.



**Gambar 9.4.** Kultur Jaringan Kentang (A) Ruas Nodal (B) Tunas Dan Akar Yang Diregenerasi (C) Kultur Jaringan Kentang



## 9.8. Arah Pengembangan Kultur Jaringan Masa Depan

Perkembangan bioteknologi yang pesat menjadikan kultur jaringan bukan lagi sekadar teknik perbanyak tanaman, melainkan platform ilmiah untuk inovasi genetik, bioindustri, dan konservasi sumber daya hayati. Di masa depan, integrasi antara kultur jaringan dengan bidang molekuler, digital, dan rekayasa sistem biologis akan semakin memperluas aplikasinya di berbagai sektor. Salah satu arah pengembangan yang menonjol adalah penerapan bioreaktor otomatis berbasis kecerdasan buatan (AI) untuk mengoptimalkan kondisi kultur seperti cahaya, pH, suhu, dan konsentrasi nutrien. Sistem ini memungkinkan pemantauan real-time dan pengaturan dinamis untuk meningkatkan efisiensi regenerasi maupun produksi metabolit sekunder secara berkelanjutan.

Selain itu, kombinasi teknologi “omics” (genomics, transcriptomics, dan metabolomics) dengan kultur jaringan membuka peluang baru untuk memahami dan memanipulasi jalur metabolisme tanaman secara presisi. Pendekatan ini akan mempercepat pengembangan tanaman super (smart crops) yang tahan terhadap stres lingkungan, efisien dalam penyerapan nutrisi, serta menghasilkan senyawa bioaktif bernilai ekonomi tinggi.

Kemajuan lain yang menjanjikan adalah penerapan teknologi penyuntingan gen (CRISPR-Cas9) dalam sistem *in vitro* untuk menghasilkan tanaman dengan sifat unggul tanpa melalui proses pemuliaan konvensional yang panjang. Teknik ini memungkinkan modifikasi gen secara spesifik, misalnya meningkatkan toleransi terhadap kekeringan atau memperkaya kandungan metabolit penting.

Dalam konteks konservasi, kultur jaringan akan menjadi fondasi utama bank genetik digital (digital gene bank) yang mengintegrasikan data genetik, morfologi, dan ekologi tanaman untuk mendukung pelestarian biodiversitas global. Dengan arah pengembangan ini, kultur jaringan bukan hanya bagian dari laboratorium botani, tetapi juga akan menjadi teknologi kunci dalam bioekonomi hijau masa depan, yang mendukung pertanian presisi, industri biofarmaka, dan ketahanan pangan berbasis inovasi berkelanjutan.

## 9.9. Soal Latihan

### A. Pertanian, Kehutanan, dan Bioindustri

1. Jelaskan bagaimana teknik mikropropagasi melalui kultur jaringan dapat membantu meningkatkan produktivitas pertanian modern. Sertakan contoh tanaman pangan yang relevan.



2. Dalam industri kehutanan, mengapa kultur jaringan menjadi metode strategis dalam penyediaan bibit unggul? Jelaskan hubungannya dengan upaya reboisasi dan konservasi hutan tropis.
3. Kultur jaringan sering disebut sebagai jembatan antara penelitian dasar dan bioindustri. Jelaskan peran bioreaktor tanaman dalam produksi metabolit sekunder dan sebutkan contohnya di sektor farmasi.

#### **B. Konservasi Plasma Nutfah dan Ketahanan Pangan**

4. Mengapa konservasi *in vitro* dianggap lebih efisien dibandingkan konservasi lapangan dalam pelestarian plasma nutfah tanaman langka? Uraikan mekanismenya dan berikan satu contoh aplikasinya di Indonesia.
5. Bandingkan dua pendekatan konservasi *in vitro* yaitu *slow growth culture* dan *cryopreservation*. Jelaskan kelebihan dan kekurangannya masing-masing dalam penyimpanan jangka panjang.
6. Hubungkan konsep konservasi plasma nutfah dengan ketahanan pangan nasional. Bagaimana pemanfaatan teknik kultur jaringan dapat menjaga keberlanjutan varietas unggul lokal di tengah perubahan iklim?

#### **C. Inovasi dan Arah Pengembangan Kultur Jaringan**

7. Teknologi penyuntingan gen (*CRISPR-Cas9*) kini mulai diterapkan dalam sistem kultur jaringan. Jelaskan potensi dan tantangan penerapan teknologi ini dalam menciptakan varietas tanaman unggul.
8. Analisislah bagaimana integrasi antara kultur jaringan dan teknologi “omics” (genomik, transkriptomik, metabolomik) dapat mempercepat pengembangan tanaman super (*smart crops*) di masa depan.
9. Dalam konteks bioteknologi masa depan, jelaskan konsep *digital gene bank* dan bagaimana teknologi ini dapat memperkuat konservasi sumber daya genetik tanaman di Indonesia.

#### **D. Analisis Studi Kasus**

10. Berdasarkan empat studi kasus (anggrek, tembakau, stevia, dan kentang), bandingkan perbedaan tujuan, jenis eksplan, dan hormon yang digunakan. Jelaskan faktor utama yang menentukan keberhasilan perbanyakan *in vitro* di setiap kasus tersebut.
11. Dari keempat studi kasus tersebut, pilih satu yang menurut Anda paling potensial untuk diterapkan di Indonesia. Jelaskan alasannya dari sisi ekonomi, keberlanjutan, dan kesesuaian lingkungan.
12. Refleksikan tantangan umum yang mungkin dihadapi ketika mengimplementasikan teknologi kultur jaringan dalam skala industri, terutama dalam hal biaya, keterampilan teknis, dan ketersediaan fasilitas. Berikan saran solutif berbasis konteks Indonesia.



## Daftar Istilah

1. petualang: perkembangan organ seperti kuncup, daun, akar, pucuk dan embrio somatik dari pucuk dan jaringan akar serta kalus.
2. Agar: Bahan pembentuk gel alami yang terbuat dari alga
3. Teknik aseptik: prosedur yang digunakan untuk mencegah masuknya mikroorganisme seperti jamur, bakteri, virus dan fitoplasma ke dalam kultur sel, jaringan dan organ, dan kontaminasi silang kultur.
4. Autoklaf: Mesin yang mampu mensterilkan dengan uap di bawah tekanan
5. Budaya Axenik: suatu kultur tanpa bentuk kehidupan asing atau yang tidak diinginkan tetapi dapat mencakup kultur bersama yang disengaja dengan berbagai jenis sel, jaringan atau organisme.
6. Kapalan: kumpulan sel tumbuhan berdiferensiasi yang tidak terorganisir.
7. Budaya sel: kultur sel atau pemeliharaannya vitrotermasuk kultur sel tunggal.
8. Media yang ditentukan secara kimia: larutan nutrisi atau substrat untuk kultur sel di mana setiap komponen ditentukan.
9. Perbanyak klon: perbanyak tanaman secara aseksual dari satu individu atau eksplan.
10. Klon: sekelompok tumbuhan yang diperbanyak dari bagian vegetatifnya, yang diturunkan dari perbanyak berulang dari satu individu. Klon dianggap seragam secara genetik.
11. Kontaminasi: terinfeksi oleh mikroorganisme yang tidak diinginkan lingkungan yang tidak terkendali
12. Kriopreservasi: penyimpanan sel, jaringan, embrio, dan biji dengan suhu sangat rendah.
13. Budaya: Tumbuhan yang tumbuh dalam lingkungan yang steril
14. Dibedakan: sel yang dikultur yang mempertahankan semua atau sebagian besar struktur dan fungsi khusus yang khas dari tipe sel in vivo.
15. Kultur embrio: In vitrokultur embrio dewasa atau embrio yang belum matang yang diisolasi.
16. Eksplan: potongan atau bagian tanaman yang digunakan untuk memulai kultur jaringan.
17. Eks vitro: Organisme yang dikeluarkan dari kultur jaringan dan ditransplantasikan; umumnya tanaman untuk campuran tanah atau pot.
18. Hormon: Umumnya bahan kimia alami yang sangat mempengaruhi pertumbuhan tanaman
19. In Vitro: Untuk ditanam di kaca
20. di vivo: Untuk tumbuh secara alami
21. Tudung Aliran Laminar: Area kerja tertutup di mana udara dibersihkan menggunakan filter HEPA
22. Sedang: larutan nutrisi padat atau cair yang digunakan untuk membiakkan sel



23. Meristem: sekelompok sel yang tidak berdiferensiasi yang terletak di ujung pucuk, kuncup dan akar, yang membelah secara aktif dan membentuk jaringan dan organ.
24. Mikropropagasi: perbanyak tanaman dari bagian vegetatifnya dengan menggunakan media nutrisi kultur jaringan.
25. propagul: bagian organisme (pucuk, daun, kalus, dll.) yang digunakan untuk perbanyak.
26. Embrio somatik: struktur seperti embrio bipolar non-zigotik yang diperoleh dari sel somatik.
27. Cabang kebudayaan: pembagian aseptik dan pemindahan kultur atau bagian kultur tersebut ke media sintetik segar.
28. Kultur jaringan: in vitro kultur sel, jaringan, organ dan tanaman dalam kondisi aseptik pada media sintetik.
29. Totipotensi: kapasitas sel tumbuhan untuk meregenerasi seluruh tumbuhan bila dikulturkan pada media yang sesuai.
30. Transgenik: tumbuhan yang memiliki potongan DNA asing



## Daftar Singkatan

Singkatan	Kepanjang / Arti	Keterangan / Konteks Ilmiah
ABA	Abscisic Acid	Hormon tanaman yang mengatur respon terhadap stres abiotik seperti kekeringan dan salinitas.
AI	Artificial Intelligence	Kecerdasan buatan; digunakan untuk otomatisasi dan pengendalian sistem bioreaktor.
ANOVA	Analysis of Variance	Metode statistik untuk menganalisis perbedaan antar kelompok data.
B5	Gamborg's B5 Medium	Media dasar untuk kultur sel tanaman, terutama leguminosa.
BA / BAP	Benzylaminopurine	Jenis sitokinin sintetis untuk induksi tunas dan pembelahan sel.
BBTV	Banana Bunchy Top Virus	Virus penyebab penyakit layu pada tanaman pisang; dapat dieliminasi melalui kultur meristem.
BM	Biomassa	Jumlah total massa jaringan atau sel yang dihasilkan dalam kultur.
Ca	Calcium	Unsur makronutrien penting untuk pembentukan dinding sel.
Cd	Cadmium	Logam berat toksik; digunakan dalam studi ketahanan tanaman terhadap stres logam.
CRISPR	Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats	Teknologi penyuntingan gen presisi untuk rekayasa tanaman unggul.
DKW	Driver and Kuniyuki Walnut Medium	Media khusus untuk tanaman berkayu seperti kenari atau eukaliptus.
DNA	Deoxyribonucleic Acid	Materi genetik yang membawa informasi keturunan.
DMSO	Dimethyl Sulfoxide	Zat pelindung (krioprotektan) dalam penyimpanan jaringan suhu rendah.
DPPH	2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl	Senyawa radikal bebas yang digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan.



Singkatan	Kepanjangan / Arti	Keterangan / Konteks Ilmiah
2,4-D	2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid	Auksin sintetis yang umum digunakan untuk induksi kalus.
FRAP	Ferric Reducing Antioxidant Power	Metode pengujian aktivitas antioksidan berbasis reduksi ion besi.
GA <sub>3</sub>	Gibberellic Acid	Hormon giberelin yang mendorong pemanjangan batang dan pembentukan tunas.
GC-MS	Gas Chromatography-Mass Spectrometry	Instrumen analisis senyawa volatil pada kultur jaringan atau ekstrak tanaman.
HPLC	High Performance Liquid Chromatography	Teknik analisis senyawa kimia seperti fenolik atau metabolit sekunder.
HRMS	High Resolution Mass Spectrometry	Sistem spektrometri massa resolusi tinggi untuk identifikasi molekul kompleks.
IAA	Indole-3-Acetic Acid	Auksin alami yang berperan dalam pembelahan dan pemanjangan sel.
IBA	Indole-3-Butyric Acid	Auksin sintetis untuk induksi akar.
Kn	Kinetin	Sitokinin sintetis yang digunakan untuk pembentukan tunas dan regenerasi jaringan.
LC-HRMS	Liquid Chromatography-High Resolution Mass Spectrometry	Metode metabolomik untuk analisis senyawa non-volatile secara detail.
LED	Light Emitting Diode	Sumber cahaya buatan yang digunakan untuk pengaturan intensitas dan spektrum cahaya <i>in vitro</i> .
MS	Murashige and Skoog Medium	Media dasar paling umum dalam kultur jaringan tanaman.
NAA	Naphthaleneacetic Acid	Auksin sintetis yang digunakan untuk induksi akar dan kalus.
NaOCl	Sodium Hypochlorite	Bahan sterilisasi eksplan (pemutih).
Ni	Nickel	Logam berat yang digunakan dalam studi toleransi stres logam.
OPLS-DA	Orthogonal Partial Least Squares-Discriminant Analysis	Analisis statistik multivariat untuk membedakan kelompok sampel berdasarkan profil metabolit.



Singkatan	Kepanjangan / Arti	Keterangan / Konteks Ilmiah
PCA	Principal Component Analysis	Analisis komponen utama untuk mengevaluasi variasi data metabolomik.
PCR	Polymerase Chain Reaction	Teknik amplifikasi DNA untuk analisis genetik tanaman.
PEG	Polyethylene Glycol	Agen pelindung dalam kriopreservasi atau fusi protoplas.
PGR	Plant Growth Regulator	Zat pengatur tumbuh (auksin, sitokinin, giberelin, inhibitor).
pH	Potensial Hidrogen	Ukuran keasaman atau kebasaan media kultur.
PLS-DA	Partial Least Squares-Discriminant Analysis	Metode statistik untuk klasifikasi dan analisis diskriminan metabolit.
PTB	Pakistan Tobacco Board	Lembaga penyedia bahan tanaman tembakau dalam studi kasus.
QTL	Quantitative Trait Loci	Lokasi genetik pada kromosom yang mempengaruhi sifat kuantitatif.
RNA	Ribonucleic Acid	Molekul genetik yang berperan dalam ekspresi gen dan sintesis protein.
RT-PCR	Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction	Metode PCR untuk menganalisis ekspresi gen.
SD	Standard Deviation	Simpangan baku; ukuran penyebaran data.
TDZ	Thidiazuron	Senyawa sitokinin kuat untuk induksi tunas dan kalus embriogenik.
TEAC	Trolox Equivalent Antioxidant Capacity	Satuan untuk menyatakan kapasitas antioksidan dalam ekivalen Trolox.
UV	Ultraviolet	Radiasi elektromagnetik yang digunakan untuk sterilisasi area kerja.
VW	Vacin and Went Medium	Media khusus untuk kultur anggrek dan tanaman epifit.
ZPT	Zat Pengatur Tumbuh	Hormon alami atau sintetis yang mengontrol pertumbuhan tanaman.
Q-PCR	Quantitative Polymerase Chain Reaction	PCR kuantitatif untuk mengukur tingkat ekspresi gen.



Singkatan	Kepanjangan / Arti	Keterangan / Konteks Ilmiah
CBF/DREB	C-Repeat Binding Factor / Dehydration Responsive Element Binding	Gen pengatur toleransi tanaman terhadap stres abiotik seperti kekeringan dan suhu rendah.
LEA	Late Embryogenesis Abundant Protein	Protein yang melindungi sel tanaman dari kekeringan dan suhu ekstrem.
ROS	Reactive Oxygen Species	Spesies oksigen reaktif yang berperan dalam stres oksidatif tanaman.
TF	Transcription Factor	Faktor transkripsi yang mengatur ekspresi gen tanaman.
QDA	Quadratic Discriminant Analysis	Metode statistik untuk pemisahan kelompok data metabolit.
GCxGC	Comprehensive Two-Dimensional Gas Chromatography	Teknik lanjutan untuk pemisahan senyawa volatil secara resolusi tinggi.
HRA	Hairy Root Aggregate	Sistem kultur akar berbulu hasil transformasi <i>Agrobacterium rhizogenes</i> untuk produksi metabolit sekunder.
Cryobank	Cryogenic Bank	Pusat penyimpanan plasma nutfah dalam suhu ultra-rendah.
Omics	-omics Technologies	Pendekatan integratif (genomik, proteomik, metabolomik) dalam bioteknologi tanaman.
Gene Bank	Bank Genetik	Koleksi sumber daya genetik tanaman yang disimpan untuk konservasi dan pemuliaan.
Bioreaktor	Bioreactor	Sistem tertutup untuk kultur sel atau jaringan dalam volume besar di bawah kondisi terkontrol.



## Daftar Pustaka

1. Aazami, M. A. (2010). Response of some tomato cultivars to sodium chloride stress under *in vitro* culture condition. *African Journal of Agricultural Research*, 5(12), 134–140.
2. Ahmadi, A. (2010). Study of inter-generic hybridization possibility between *Salix aegyptica* and *Populus caspia* to achieve new hybrids. *International Journal of Plant Production*, 4(2), 143–147.
3. Bais, H. P., & Ravishankar, G. A. (2002). Role of polyamines in the ontogeny of plants and their biotechnological applications. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 69(1), 1–34.
4. Basus, B. (2011). *Plant tissue culture: Current status and opportunities*. *Australian Journal of Crop Science*, 5(9), 1087–1093.
5. Benderra, D. J. (2012). *ISRN Agronomy*, Article ID 367851.
6. Bhojwani, S. S., & Razdan, M. K. (1983). *Plant tissue culture: Theory and practice*. Amsterdam: Elsevier.
7. Biswas, M. (2009). Development and evaluation of *in vitro* somaclonal variation in strawberry for improved horticultural traits. *Scientia Horticulturae*, 120(1), 136–141.
8. Campos, J. M. S. (2007). *Obtenção de híbridos hexaplóides e análise genômica de Pennisetum sp. por citometria de fluxo* (Disertasi Doktor). Federal University of Lavras.
9. Cevallos-Cevallos, J. (2009). Metabolomic analysis in food science: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 20(11–12), 557–566.
10. Chauhan, H. (2011). Use of double haploid technology for development of stable drought tolerant bread wheat (*Triticum aestivum* L.) transgenics. *Plant Biotechnology Journal*, 9(3), 408–417.
11. Cheruvathur, M. K. (2012). Shoot organogenesis from leaf callus and ISSR assessment for clonal fidelity in *Rhinacanthus nasutus* (L.) Kurz., a potent anticancerous ethnomedicinal plant. *Industrial Crops and Products*, 35(1), 205–211.\*
12. De Fossard, R. (1976). *Tissue culture for plant propagation*. Armidale: University of New England.
13. Debiasi, C., & Fraguas, C. (2007). Study of polyamines in the morphogenesis *in vitro* of *Hemerocallis* sp. *Ciência Rural*, 37(2), 456–462.
14. Dhamankar, V. S. (1992). Molasses, a source of nutrients for *in vitro* sugar cane culture. *Sugar Cane*, 4(2), 141–145.
15. Doležel, J. (2005). Plant DNA flow cytometry and estimation of nuclear genome size. *Annals of Botany*, 95(1), 99–110.\*
16. Doležel, J. (2010). Nuclear genome size: Are we getting closer? *Cytometry Part A*, 77(7), 635–642.\*



17. Dun, X., & Liu, X. (2012). Genetic transformation of *Populus tomentosa* to improve salt tolerance. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 108(3), 501–509.\*
18. El-Dougdoug, K. (2011). *Plant tissue culture: Current status and opportunities*. *African Journal of Microbiology Research*, 5(32), 5923–5932.\*
19. Garcia Gonzales, R. (2010). *Plant tissue culture: Current status and opportunities*. *Investigación Agraria*, 37(3), 530–540.\*
20. Gamborg, O. L. (1968). Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. *Experimental Cell Research*, 50(1), 151–158.\*
21. Gurela, P. (2010). Large scale cultivation of plant cell and tissue culture in bioreactors. *Transworld Research Network*, 15(4), 1–54.\*
22. Han, M. (2007). Cloning and expression of cDNA encoding key enzymes (DXR, SLS, G10H, STR) in the terpenoid indole alkaloids biosynthetic pathway from *Catharanthus roseus*. *Plant Research*, 27(5), 564–568.\*
23. Harding, K. (2010). *Plant tissue culture: Current status and opportunities*. *Journal of Molecular Biology and Biotechnology*, 18(1), 151–154.\*
24. Hossain, Z. (2007). Development of NaCl-tolerant line in *Chrysanthemum morifolium* Ramat. through shoot organogenesis of selected callus line. *Journal of Biotechnology*, 10(2), 189–198.\*
25. Hussain, A. (2011). *Plant tissue culture: Current status and opportunities*. *Journal of Botany*, 43(2), 1069–1078.\*
26. Jewell, M. (2010). Transgenic plants for abiotic stress resistance. In C. Kole (Ed.), *Transgenic crop plants* (pp. 87–102). Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
27. John, C. (2005). D'Auria: The secondary metabolism of *Arabidopsis thaliana*: Growing like a weed. *Current Opinion in Plant Biology*, 8(3), 317–323.\*
28. Khan, R. (2011). *Plant tissue culture: Current status and opportunities*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 106(1), 112–120.\*
29. Kosová, K. (2011). Plant proteome changes under abiotic stress—Contribution of proteomics studies to understanding plant stress response. *Journal of Proteomics*, 74(8), 1301–1322.\*
30. Lam, T. H., & Street, H. E. (1969). The effect of selected aryloxalcane carboxylic acids on the growth and levels of soluble phenols in cultured cells of *Rosa damescens*. *Pflanzenphysiologie*, 62(1), 45–52.\*
31. Linsmaier, E. M., & Skoog, F. (1965). Organic growth factor requirements of tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 18(1), 100–127.\*
32. Loureiro, J. C. M., et al. (2006). Comparison of four nuclear isolation buffers for plant DNA flow cytometry. *Annals of Botany*, 98(4), 679–689.\*
33. Loureiro, J. C. M., et al. (2007). Two new nuclear isolation buffers for plant DNA flow cytometry: A test with 37 species. *Annals of Botany*, 100(4), 875–888.\*
34. Marinho, M. J. M. (2011). Establishment of a protocol for *Lippia gracilis* Schauer micropagation. *Brazilian Journal of Medicinal Plants*, 13(3), 245–252.\*
35. Martins, L. M. (2011). Micropropagation and conservation of *Macrosyphonia velame* (St. Hil.) Muell. Arg. *Ciência Rural*, 41(3), 465–472.\*



36. Mj Prado Rodriguez. (2010). Detection of somaclonal variants in somatic embryogenesis regenerated plants of *Vitis vinifera* by flow cytometry and microsatellite markers. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 101(3), 301–309.\*
37. Mohan, N. (2011). Studies on seed germination and embryo culture of *Jatropha curcas* L. under *in vitro* conditions. *Biotechnology, Bioinformatics and Bioengineering*, 12(1), 187–194.\*
38. Munns, R. (2008). Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Physiology*, 59, 651–681.\*
39. Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15(3), 473–497.\*
40. Nas, M. N. (2004). Inclusion of polyamines in the medium improves shoot elongation in hazelnut (*Corylus avellana* L.) micropropagation. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 28(4), 237–243.\*
41. Nitsch, J. P., & Nitsch, C. (1969). Haploid plants from pollen grains. *Science*, 163(3862), 587–589.\*
42. Okere, A. (2011). *In vitro* propagation of an endangered medicinal timber species *Khaya grandifoliola* C. DC. *African Journal of Biotechnology*, 10(33), 5335–5339.\*
43. Paek, K. (2009). Culture of ginseng adventitious roots for production of ginsenosides. *Advances in Biochemical Engineering and Biotechnology*, 113(1), 151–176.\*
44. Palama, T. (2010). Shoot differentiation from protocorm callus cultures of *Vanilla planifolia* (Orchidaceae): Proteomic and metabolic responses at early stages. *BMC Plant Biology*, 10(82), 1–13.\*
45. Parida, A. (2005). Salt tolerance and salinity effects on plants: A review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 60(3), 324–349.\*
46. Pierik, R. L. M. (1987). *In vitro culture of higher plants*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers.
47. Pistelli, L. (2010). Hairy root cultures for secondary metabolite production. In *Plant Secondary Metabolism* (pp. 1–24). Springer.
48. Saiprasad, G. V. S. (2004). Effect of various polyamines on production of protocorm-like bodies in orchid *Dendrobium 'Sonia'*. *Scientia Horticulturae*, 99(2), 131–141.\*
49. Sengar, R. (2010). Present status and scope of floriculture developed through different biological tools. *Research Journal of Agricultural Sciences*, 1(4), 306–314.\*
50. Sharifi, A. (2010). Agar alternatives for micropropagation of African violet (*Saintpaulia ionantha*). *African Journal of Biotechnology*, 9(25), 3835–3840.\*
51. Siah, S. B. (2011). *Plant tissue culture: Current status and opportunities*. *Agricultural and Environmental Science*, 11(3), 439–444.\*
52. Skoric, M. (2012). Cytotoxic activity of ethanol extracts of *in vitro* grown *Cistus creticus* subsp. *creticus* L. on human cancer cell lines. *Industrial Crops and Products*, 35(1), 373–379.\*
53. Skoog, F., & Miller, R. (1957). Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissue cultures. *Symposia of the Society for Experimental Biology*, 11, 118–131.\*



54. Takeda, T., & Hayakawa, F. (2002). Effects of exogenous polyamines on embryogenic carrot cells. *Biochemical Engineering Journal*, 10(2), 53–59.\*
55. Thiyagarajan, M. (2012). Large-scale *in vitro* propagation of *Stevia rebaudiana* (Bert.) for commercial application: A pharmaceutically important and antidiabetic medicinal herb. *Industrial Crops and Products*, 37(1), 111–117.\*
56. Todaka, D. (2012). Toward understanding transcriptional regulatory networks in abiotic stress responses and tolerance in rice. *The Rice Journal*, 5(1), 6.\*
57. Trujillo, L. E. (2008). Sugar cane ethylene-responsive factor (ERF) enhances salt and drought tolerance when overexpressed in tobacco plants. *Plant and Cell Physiology*, 49(3), 514–525.\*
58. Vijayasree, N. (2010). Advancements in the production of secondary metabolites. *Journal of Natural Products*, 31(1), 121–123.\*
59. White, P. R. (1943). Nutrient deficiency studies and improved inorganic nutrients for cultivation of excised tomato roots. *Growth*, 7(5), 365–375.



## Sinopsis

Buku ajar **Kultur Jaringan Tanaman** ini disusun untuk membantu mahasiswa memahami konsep, prinsip, dan penerapan teknik kultur jaringan sebagai salah satu pilar bioteknologi modern. Pembahasannya mencakup teori dasar totipotensi sel, jenis eksplan, media dan zat pengatur tumbuh, hingga penerapan teknik kultur jaringan dalam perbanyak tanaman, konservasi plasma nutfah, dan produksi metabolit sekunder. Setiap bab disusun secara sistematis mengikuti pendekatan Outcome-Based Education (OBE), dilengkapi dengan studi kasus, latihan esai analitis, glosarium istilah, serta contoh penerapan nyata di bidang pertanian, farmasi, dan bioindustri.

Buku ini tidak hanya mengulas teori, tetapi juga menghubungkan praktik laboratorium dengan tantangan dunia nyata, seperti rekayasa genetika tanaman, kultur kalus, embriogenesis somatik, hingga arah pengembangan teknologi transgenik dan metabolit sekunder berbasis kultur jaringan. Keunggulan buku ini terletak pada integrasi antara aspek praktis dan ilmiah, dilengkapi dengan studi kasus nyata (anggrek, tembakau, stevia, kentang, dan tanaman obat lainnya) yang memperlihatkan penerapan kultur jaringan dalam pertanian, kehutanan, farmasi, dan bioindustri. Setiap bab disertai soal latihan esai analitis, glosarium istilah, dan daftar singkatan, sehingga memudahkan mahasiswa memahami hubungan antara teori dan praktik.

Dikembangkan dari hasil riset dan pengalaman pengajaran penulis, buku ini diharapkan menjadi referensi utama bagi mahasiswa biologi, pendidikan biologi, agronomi, dan bioteknologi, serta sumber inspirasi bagi siapa pun yang ingin mendalami teknologi kultur jaringan tanaman sebagai solusi inovatif untuk pertanian berkelanjutan di masa depan.



UHAMKA PRESS



ISBN 978-623-7724-59-9 (PDF)

9 786237 724599