

WORKING PAPER

PUSAT KAJIAN SUMBERDAYA PESISIR DAN LAUTAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR

Merupakan media yang diterbitkan oleh Pusat Kajian Sumberdaya Pesisir dan Lautan IPB (PKSPL-IPB) yang memuat hasil-hasil riset, informasi ilmiah, dan pemikiran terkini dalam bidang pengelolaan sumberdaya pesisir dan lautan secara berkelanjutan

DEWAN REDAKSI

Prof. Dr. Ir. Tridoyo Kusumastanto, M.S.
Prof. Dr. Ir. Rokhmin Dahuri, M.S.
Prof. Dr. Luky Adrianto, M.Sc.
Prof. Dr. Ario Damar, M.S.
Dr. Ruddy Suwandi, M.Phil, M.Sc.

REDAKSI PELAKSANA

Ir. Husnileili, M.Si.
Nana Anggraini, S.Sos.
Hermanto, S.Kom.
Agus Soleh, A.Md.
Kamsari, S.Kom.



WORKING PAPER



PUSAT KAJIAN SUMBERDAYA PESISIR DAN LAUTAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
Center for Coastal and Marine Resources Studies
Bogor Agricultural University

PEMBANGUNAN LABORATORIUM KULTUR
JARINGAN (KULJAR) SKALA KECIL DI STASIUN
KOMPRESOR PAGARDEWA, KABUPATEN
MUARA ENIM, SUMATERA SELATAN



WORKING PAPER PKSPL-IPB

**PUSAT KAJIAN SUMBERDAYA PESISIR DAN LAUTAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
Center for Coastal and Marine Resources Studies
Bogor Agricultural University**

PEMBANGUNAN LABORATORIUM KULTUR JARINGAN (KULJAR) SKALA KECIL DI STASIUN KOMPRESOR PAGARDEWA, KABUPATEN MUARA ENIM, SUMATERA SELATAN

Oleh:

Andy Afandy
Wassisa Titi Ilhami
Agus Riyanto
Harkyo Hutri Baskoro
Alin Rahmah Yuliani
Sheikha Ananda Mosa
Khusnul Muassiroh
Dini Septiani
Septian Basman
Alfath
Sabardi



**BOGOR
2024**

DAFTAR ISI

DAFTAR ISI	iii
DAFTAR TABEL	v
DAFTAR GAMBAR	vii
1 LATAR BELAKANG	1
2 TUJUAN PEMBANGUNAN LAB KULJAR	1
3 LOKASI KEGIATAN	2
4 TATA RUANG LAB KULJAR	2
4.1 Ruangannya Lab Kuljar	2
4.2 Pengelolaan Lab Kuljar	3
4.3 <i>Layout</i> Lab Kuljar PGASOL Pagardewa	6
4.4 Pengembangan Bank Benih Kuljar	8
4.4.1 Konservasi <i>In-Situ</i>	8
4.4.2 Bank Benih	8
4.4.3 Konservasi <i>In-Vitro</i>	9
4.4.4 Perbanyak Bibit Tanaman Konservasi	10
4.4.5 Pelatihan Kultur Jaringan	11
5 KEGIATAN LAB KULJAR 2023	14
5.1 Subkultur	14
5.2 Aklimatisasi	15
6 KEGIATAN LAB KULJAR 2024	25
6.1 Penanaman Tanaman Hasil Kuljar	25
6.2 Pengembangan <i>In Vitro Conservation</i> di Lab Kuljar	26
6.2.1 Konservasi <i>in vitro</i> di Lab Kuljar Jaringan PT PGAS Solution	27
6.2.2 Subkultur Flora Endemik	28
6.2.3 Strategi Metode Pertumbuhan untuk Konservasi <i>In Vitro</i>	29
6.2.4 Modifikasi Komponen Media	30
6.2.5 Modifikasi Lingkungan Fisik	31
DAFTAR PUSTAKA	33

DAFTAR TABEL

Tabel 1.	Daftar Peralatan Laboratorium Kuljar	5
Tabel 2.	Materi Pelatihan Teknis Kuljar	12
Tabel 3.	Dokumentasi Peralatan Kuljar	17

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Peta Lokasi Laboratorium Kultur Jaringan di area Stasiun Kompresor Pagardewa, Muara Enim.....	2
Gambar 2. Gambar Denah dan Ilustrasi Laboratorium.....	7
Gambar 3. Gambar Kondisi Laboratorium Pasca Pembangunan	8
Gambar 4. Dokumentasi Kegiatan Pelatihan Kuljar	13
Gambar 5. Planlet Hasil Subkultur.....	15
Gambar 6. Planlet yang Telah Siap Diaklimatisasi.....	16
Gambar 7. Tahap Aklimatisasi.....	17
Gambar 8. Kondisi dan Perbandingan Tinggi Tanaman Pisang Tahun 2024	26
Gambar 9. Berbagai jenis flora yang akan dikembangkan melalui kultur in vitro	28
Gambar 10. Proses subkultur pulai pandak di Laboratorium	29
Gambar 11. Subkultur Pulai Pandak.....	29

PEMBANGUNAN LABORATORIUM KULTUR JARINGAN (KULJAR) SKALA KECIL DI STASIUN KOMPRESOR PAGARDEWA, KABUPATEN MUARA ENIM, SUMATERA SELATAN

(Andy Afandy, Wassisa Titi Ilhami, Agus Riyanto, Harkyo Hutri Baskoro, Alin Rahmah Yuliani, Sheikhha Ananda Mosa)¹, Khusnul Muassiroh², dan (Dini Septiani, Septian Basman, Alfath, Sabardi)³

1 LATAR BELAKANG

Indonesia merupakan negara dengan sumberdaya alam yang melimpah. Iklim tropis mendukung tingginya keanekaragaman sumberdaya hayati di negeri ini (Effendi 2011). Keanekaragaman sumberdaya hayati yang tinggi menjadi potensi besar bagi bangsa Indonesia khususnya di Kawasan Pagar Dewa dalam konservasi tanaman endemik langka. Salah satu upaya konservasi yang dapat dilakukan adalah dengan pengembangan ilmu dan teknologi. Kultur sel (kultur jaringan) tanaman dapat menjadi salah satu teknologi yang prospektif dikembangkan di dalam mengelola keanekaragaman hayati. Kultur jaringan tanaman merupakan dasar bagi bioteknologi pemuliaan tanaman (Wattimena, et all 2011). Melalui teknologi ini dapat dihasilkan bibit tanaman yang berkualitas dan seragam dalam jumlah besar.

Laboratorium kultur jaringan (Lab Kuljar) merupakan tempat untuk melakukan kegiatan kultur jaringan. Pada laboratorium kultur jaringan terdapat beberapa ruangan dengan fungsinya masing-masing. Sebagai ruangan kultur jaringan sebaiknya ruangan-ruangan tersebut memenuhi syarat untuk dijadikan laboratorium kultur jaringan, yaitu:

1. Aseptik atau steril yang artinya bebas dari kotoran dan mikroorganisme
2. Leluasa melakukan kegiatan atau mobilisasi
3. Mudah melakukan pengaturan suhu, kelembaban dan cahaya
4. Kebersihan ruangan dan tempat kerja selalu dijaga serta disiplin ketat..

2 TUJUAN PEMBANGUNAN LAB KULJAR

Tujuan pembangunan Lab Kuljar adalah untuk memperbanyak atau menghasilkan lebih banyak tanaman yang serupa dengan tanaman aslinya yang dikembangkan di laboratorium melalui teknologi tertentu sehingga dihasilkan bibit tanaman yang berkualitas dan seragam dalam jumlah yang besar, lebih cepat dan lebih efisien.

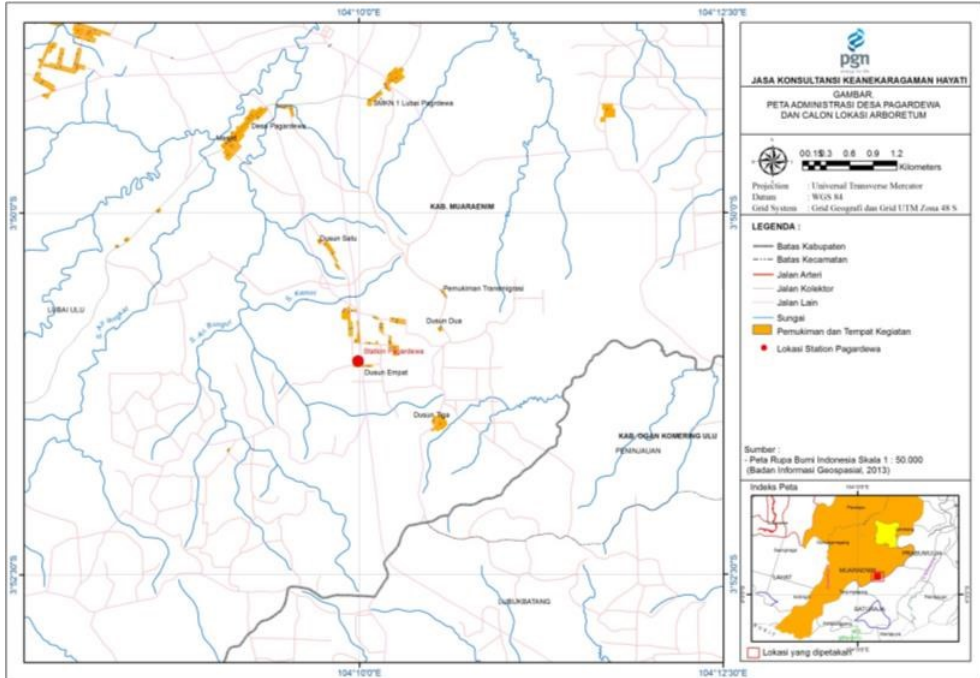
¹ Peneliti PKSPL-IPB

² DLH Muara Enim

³ Tim Kehati PT. PGN SKG Pagardewa

3 LOKASI KEGIATAN

Lokasi kegiatan pembangunan Lab Kuljar berada di area Stasiun Kompresor Pagardewa, Desa Pagardewa Kecamatan Lubai Ulu Kabupaten Muara Enim, Kabupaten Muara Enim, Sumatera Selatan (lihat Gambar 1).



Gambar 1. Peta Lokasi Laboratorium Kultur Jaringan di area Stasiun Kompresor Pagardewa, Muara Enim

4 TATA RUANG LAB KULJAR

4.1 Ruang Lab Kuljar

Ruangan yang diperlukan dalam laboratorium kultur jaringan antara lain:

1. **Ruang Persiapan**, digunakan untuk persiapan alat dan media. Persiapan alat yang dimaksud adalah yang akan dilakukan sterilisasi dan pengelolannya pasca-sterilisasi. Kegiatan yang berlangsung di ruangan ini diantaranya adalah mempersiapkan media kultur, mempersiapkan bahan tanaman, tempat mencuci alat-alat, sterilisasi alat, media, dan eksplan yang akan digunakan untuk keperluan kultur pembungkusan alat-alat kerja dengan kertas koran sebelum diautoklaf, dan penataan botol-botol yang telah disterilisasi. Selain itu, pembuatan media tanam dan hormon juga dilakukan di ruangan ini. Ruang persiapan juga digunakan untuk persiapan inisiasi tanaman misalnya, kapsulasi antibiotic. Komposisi ruang ini diantaranya terdapat kran air dan saluran pembuangan yang baik, beberapa kompor gas dan

2. **Ruang Stok**, berfungsi untuk tempat penyimpanan larutan stok dan media yang telah dibuat di ruang persiapan. Untuk pembuatan media kultur jaringan, dibutuhkan zat hara makro, mikro dan trace element lainnya. Untuk kemudahan pembuatan media dan mengeliminir kesalahan, maka zat - zat hara yang hanya dibutuhkan dalam jumlah sangat sedikit tersebut, dibuat dalam bentuk stok larutan, artinya dilakukan pemekatan larutan, sehingga dalam pembuatan media, kita hanya melakukan pipetasi dalam jumlah kecil sesuai dosis yang dibutuhkan. Oleh karena itu dibutuhkan ruangan yang berfungsi untuk menyimpan stok yang telah dibuat tersebut. Ruangan ini berhubungan dengan ruang preparasi dan ruang kultur. Umumnya alat yang ada di ruangan ini adalah lemari es, untuk menyimpan stok dalam bentuk larutan dan beberapa zat kimia lainnya
3. **Ruang kultur/Ruang Tanam**, berfungsi untuk mengetahui respon fisiologis jaringan yang di kulturkan dan kecepatan pertumbuhannya. Ruang kultur ini terjaga kebersihannya dan mempunyai pengatur suhu dan cahaya yang dilengkapi dengan timer. Ruang kultur difungsikan sebagai tempat berlangsungnya aktivitas inisiasi maupun multiplikasi dengan teknik sub-kultur. Syarat yang diperlukan untuk sebuah ruang kultur adalah sejuk dengan sirkulasi udara bersih yang baik. Dengan demikian, ruangan harus tertutup dan ber-AC untuk menjaga suhu, kelembaban, sirkulasi udara bersih, dan kontaminan. Ruang kultur dilengkapi dengan Laminar Air Flow (LAF) dan enkas. Keduanya dikondisikan dalam keadaan steril untuk berlangsungnya proses kultur.
4. **Ruang Inkubasi**, digunakan sebagai tempat penyimpanan botol-botol kultur tanaman. Ruang inkubasi ini berisi rak-rak penyimpanan botol kultur. Rak-rak inkubasi dilengkapi dengan lampulampu neon pada masing-masing rak penyimpanan 1-2 buah. Oleh karena itu, diperlukan AC untuk mengkondisikan ruangan tetap sejuk, minimal 30 C lebih rendah daripada suhu luar (± 280 C).
5. **Ruang Informasi/display** ditempatkan pada ruang paling depan agar tanaman kultur mudah dilihat. Ruang display berisi lemari etalase sebagai tempat pajangan. Produk-produk kultur jaringan tanaman ditampilkan dalam bentuk beragam disini, baik dalam bentuk kultur sebagai bibit, kultur tanaman yang siap diaklimatisasi, maupun souvenir kultur. Selain itu ruang display juga menampilkan bahan dan alat yang digunakan pada proses kultur tanaman seperti, hormon, pupuk bunga dan daun, media kultur, dan sebagainya.

4.2 Pengelolaan Lab Kuljar

Laboratorium harus dikelola/ditangani dan diatur tata letaknya sedemikian rupa dengan tujuan, agar :

1. Disiplin laboratorium selalu terjaga dengan baik
2. Kebersihan, keamanan dan keselamatan laboratorium selalu terjaga dengan baik
3. Kelancaran penggunaan laboratorium selalu terjaga dengan baik

Dalam melakukan pengelolaan laboratorium, beberapa aspek yang diperhatikan, yaitu:

1. **Perencanaan.** Perencanaan ini dimaksudkan untuk merencanakan konsep dari suatu laboratorium itu sendiri. Karena sebuah laboratorium dibangun untuk tujuan tertentu. Artinya sebelum laboratorium itu dibangun harus tahu dulu untuk keperluan apa dan untuk dipakai siapa laboratorium tersebut.
2. **Penataan Tata letak peralatan** adalah suatu bentuk usaha pengaturan penempatan peralatan di laboratorium, sehingga laboratorium tersebut berwujud dan memenuhi persyaratan untuk beroperasi.
3. **Pengadministrasian.** Pengadministrasian sering juga disebut sebagai kegiatan menginventaris. Inventaris adalah suatu kegiatan dan usaha untuk menyediakan catatan tentang keadaan semua fasilitas maupun barang-barang yang dimiliki. Catatan inventaris yang baik akan mempermudah pergantian tanggung jawab dari pengelola yang satu ke yang lainnya. Inventaris juga akan mempermudah untuk mengetahui dimana suatu peralatan akan ditempatkan. Dengan demikian akan mempermudah pengontrolan, seperti terhadap kehilangan yang disebabkan oleh kecerobohan atau kecurian.
4. **Pengamanan, perawatan, dan pengawasan.** Pada dasarnya pengamanan, perawatan dan pengawasan laboratorium merupakan tanggung jawab bersama baik pengelola maupun pengguna. Mengatur dan memelihara laboratorium merupakan upaya agar laboratorium selalu tetap berfungsi sebagaimana mestinya. Sedangkan upaya menjaga keselamatan kerja mencakup usaha untuk selalu mencegah kemungkinan terjadinya kecelakaan sewaktu bekerja di laboratorium dan penanggannya bila terjadi kecelakaan. Ruang laboratorium yang memenuhi standar adalah salah satu faktor untuk menghindari kecelakaan kerja. Syarat tersebut meliputi kondisi ruangan, susunan ruangan, kelengkapan peralatan keselamatan, nomor telepon penting (pemadam kebakaran, petugas medis), dan lain-lain.

Inventarisasi alat Laboratorium yang dibutuhkan dalam Kultur Jaringan selengkapnya tersaji pada Tabel 1 berikut ini.

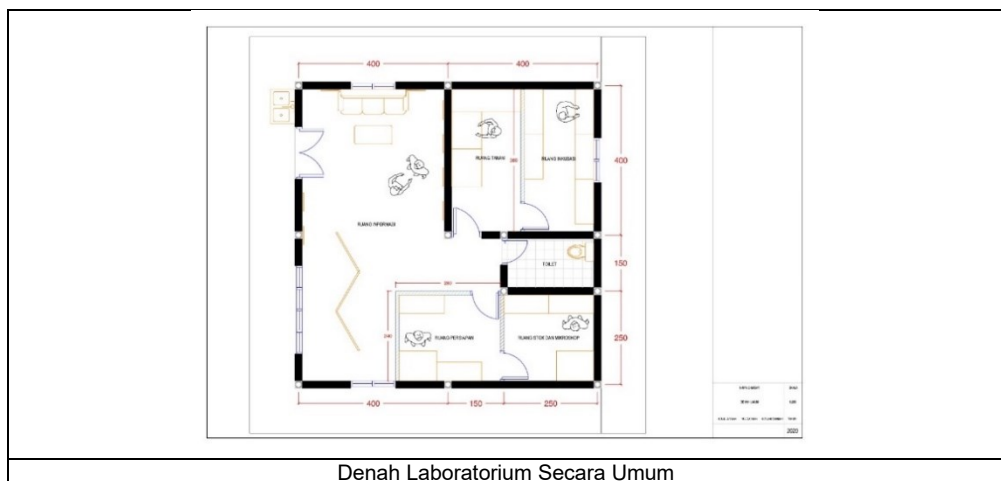
Tabel 1. Daftar Peralatan Laboratorium Kuljar

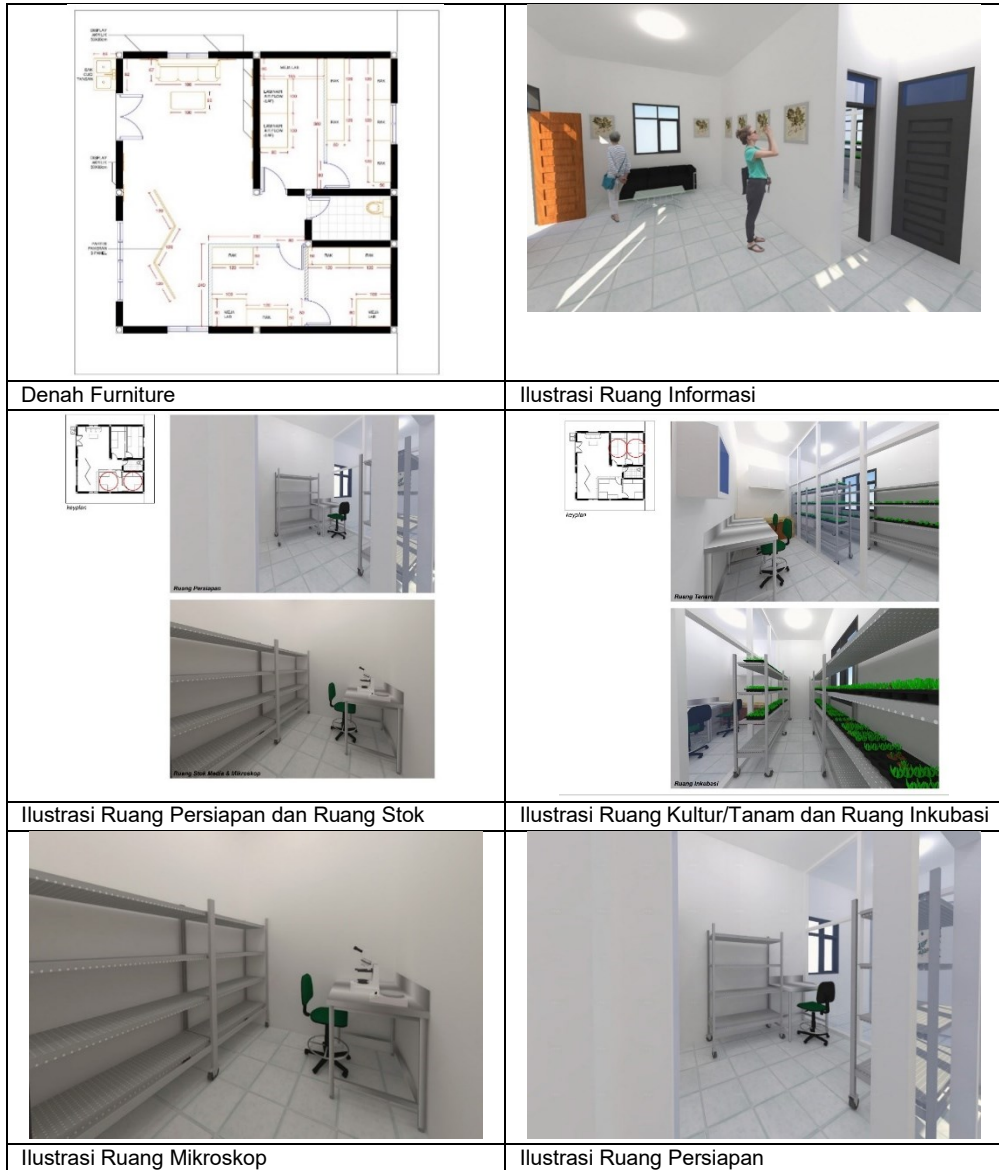
No.	NAMA ALAT	FUNGSI
A PERALATAN TANAM		
1	Petri disk Ø 10 cm	inisiasi dan sub-kultur
2	Petri disk Ø 15 cm	inisiasi dan sub-kultur
3	Skalpel no. 3	pegangan pisau steril
4	Skalpel no. 4	pegangan pisau steril
5	Mata Pisau no. 11	pisau pemotong eksplant
6	Mata Pisau no. 23	pisau pemotong eksplant
7	Spatula 30 cm	pengaduk bahan sterilisasi
8	Gunting Lums	perlengkapan sub-kultur
9	Gunting Dental	perlengkapan sub-kultur
10	Sprayer	spray alkohol
11	Bunsen	Membakar peralatan logam
12	Pinset Dental	pemegang eksplan
13	Pinset 18 cm	pemegang eksplan
14	Pinset 25 cm	pemegang eksplan
B PERALATAN PEMBUATAN MEDIA		
1	Timbangan Digital 0,1-100 gr	menimbang bahan media kultur
2	Gelas piala 1 L	mengukur volume cairan bahan
3	Gelas piala 500 ml	mengukur volume cairan bahan
4	Gelas ukur 10 ml	mengukur volume cairan bahan
5	Gelas beaker	penyimpan larutan stok
6	Corong kaca	alat bantu memasukan cairan
7	Pengaduk kaca pendek	pengaduk formula media
8	Pengaduk kaca panjang	pengaduk formula media
9	Pipet plastik	mengambil larutan
10	Plastik gulung	alat pembungkus seril
11	Plastik PE 40 x 60	alat pembungkus seril
12	Plastik wrap	penutup mulut botol kultur
13	Aluminium foil	penutup mulut botol kultur
14	Karet gelang	pengencang aluminium foil
15	Timer	penghitung waktu
16	Panci SS	memasak media kultur
17	Sarung tangan tahan panas	mengangkat bahan panas
18	Sarung tangan kain	perlindungan dari bahan media
C BAHAN MEDIA KULTUR		
1	Agar kultur	pemadat media kultur
2	Media MS praktis	formula media kultur jadi
3	Media Alternatif (Growmore+hormon)	Media kultur alternatif
4	Aneka Hormon pro analisis	driver pertumbuhan kultur
5	pH meter	mengukur pH
D BAHAN STERILISASI		
1	Fungisida	treatment cendawan patogen
2	Bakterisida	treatment bakteri kontaminasi
3	Clorox	perlengkapan disinfektan

No.	NAMA ALAT	FUNGSI
4	HgCl	perlengkapan disinfektan
5	Tween 20%	perlengkapan disinfektan
6	Iodin	perlengkapan disinfektan
7	Spirtus	perlengkapan disinfektan
8	Alkohol 95%	perlengkapan disinfektan
9	Alkohol 70%	perlengkapan disinfektan
E PERALATAN STERILISASI		
1	Autoclave bakar	alat sterilisasi media dan alat
2	Kompore Gas high press	sumber panas autoclave
3	Lampu neon UV Germisida	sterilisasi ruangan
F BOTOL KULTUR		
1	Botol selai	tempat kultur steril
2	Botol Kecil	tempat kultur steril
G PERALATAN UTAMA		
1	Laminar Air Flow HEPA 0,3 µm	ruang steril kultur tanaman
2	Shaker/Magnetic stirer	pengoyang dan pengaduk otomatis
3	Aerator	suplay udara ke cairan
H PERLENGKAPAN KERJA		
1	Jas lab	standar kelengkapan operator diruang tanam
2	Masker	standar kelengkapan operator diruang tanam
3	Sarung tangan latex	standar kelengkapan operator diruang tanam
4	Tutup kepala	standar kelengkapan operator diruang tanam
5	Sandal lab	standar kelengkapan operator diruang tanam

4.3 Layout Lab Kuljar PGASOL Pagardewa

Dibawah ini merupakan gambar layout dan gambar ilustrasi laboratorium kultur jaringan yang direncanakan transformasi dari Bangunan *Greenhouse* yang sudah ada.





Gambar 2. Gambar Denah dan Ilustrasi Laboratorium

Dari gambar ilustrasi yang telah direncanakan sebelumnya, kondisi eksisting Lab Kuljar yang telah dibangun tersajikan pada gambar eksisting berikut ini.



Gambar 3. Gambar Kondisi Laboratorium Pasca Pembangunan

4.4 Pengembangan Bank Benih Kuljar

Keanekaragaman hayati yang selalu terjaga merupakan harta termewah yang harus bisa diwariskan kepada anak cucu generasi berikutnya. Menjaga dan melakukan konservasi keanekaragaman hayati merupakan langkah nyata dalam mewujudkan keanekaragaman hayati yang lestari. Langkah awal yang dilakukan adalah melakukan inventarisasi dengan dinas terkait, berbagai jenis tanaman langka, endemik atau masuk kategori cites untuk menjadi prioritas dalam langkah konservasi kehati.

4.4.1 Konservasi *In-Situ*

Salah satu langkah yang umum dan mampu dilakukan semua orang adalah dengan menanam tanaman langka atau endemik di lokasi dan habitat tanaman tersebut. Konservasi berbagai tanaman yang terdata bisa dikumpulkan dalam satu lokasi yang terjaga habitat dan ekosistemnya. Terjaganya ekologi kawasan konservasi tanaman ini menjadi perhatian utama dalam suksesnya program konservasi ini.

4.4.2 Bank Benih

Strategi tanaman dalam kelangsungan jenisnya adalah dengan bereproduksi menghasilkan biji atau benih. Tanaman dewasa akan tiba masanya akan menghasilkan bunga dan buah. Buah yang matang secara biologis akan menghasilkan biji atau benih.

Salah satu langkah konservasi tanaman adalah dengan mengkoleksi berbagai macam benih dari tanaman yang telah terinventarisasi sebagai tanaman target konservasi. Benih atau biji yang dipilih untuk disimpan sebagai koleksi atau Bank Benih adalah biji dengan usia biologis yang cukup dan mempunyai fenotif yang sempurna. Usia dan fenotif benih yang baik akan berpengaruh terhadap kemampuan dorman benih tersebut selama di tempat penyimpanan.

Sebelum dilakukan penyimpanan, benih yang telah terseleksi dilakukan beberapa perlakuan sterilisasi untuk mengurangi atau menghilangkan dampak aktifitas cendawan, virus atau patogen lainnya yang berpotensi untuk merusak cadangan makanan benih yang nantinya akan dibutuhkan dalam proses perkecambahan.

Kebutuhan kondisi yang baik saat benih dalam penyimpanan sangat ditentukan oleh kualitas alat penyimpanan yang diaplikasikan. Benih dikondisikan pada situasi yang memungkinkan benih tidak terangsang secara fisiologis untuk proses siklus hidupnya. Benih dikondisikan pada suhu dan kelembaban yang tepat sehingga benih akan dorman atau minimal dalam aktifitas fisiologisnya.

Dalam periode tertentu benih dalam penyimpanan bank benih harus dilakukan pengecekan dan uji viabilitas perkecambahannya. Bank benih juga didesain untuk senantiasa melakukan regenerasi benih agar terjamin viabilitas perkecambahannya.

4.4.3 Konservasi In-Vitro

Seiring perkembangan ilmu pengetahuan memungkinkan berbagai jenis tanaman dapat dilakukan konservasi in-vitro. Konservasi in-vitro dilakukan dengan teknik kultur jaringan. Tanaman kultur jaringan memiliki organ tanaman lengkap dengan ukuran mini yang mampu hidup didalam botol kondisi steril dan tercukupi kebutuhan hidupnya. Melihat kondisi tadi maka konservasi in-vitro mampu menampung ribuan jenis tanaman dalam sebuah ruangan seluas ratusan meter saja.

Berbagai jenis tanaman yang terinventarisasi sebagai tanaman konservasi di alam liar akan diambil bagian tertentu dari tanaman tersebut untuk ditumbuhkan dalam media khusus kultur jaringan. Pengambilan organ/bagian tertentu dari tanaman di alam tertentu mengikuti prosedur dan tata laksana yang ketat.

a. Pengambilan etres pucuk tanaman

Pada prinsipnya pemilihan bagian tanaman yang akan dikulturkan adalah bagian tanaman yang memiliki jaringan meristem. Jaringan meristem umumnya ditemukan pada pucuk tanaman (meristem apikal) dan pada buku-buku tanaman (meristem lateral). Pada umumnya jaringan meristem berukuran sangat kecil sekitar 1 mm dan terdapat pada bagian dalam pucuk yang terlindung sekali. Dengan memilih jaringan meristem maka diharapkan tanaman akan mudah diinisiasikan pada media kultur.

b. Treatment dan perlakuan khusus

Langkah yang perlu dilakukan saat pengambilan etres di lapangan atau di alam adalah dengan memperhatikan bagian bermeristem dan meminimalkan terjadinya kontaminasi berbagai mikroorganisme ke dalam jaringan etres tanaman tadi.

c. Menentukan media kultur jaringan yang tepat

Media tanam kultur jaringan yang dipilih harus disesuaikan dengan karakter tanaman yang akan diinisiasikan ke media kultur tadi. Diharapkan tenaga kerja

yang melakukan kegiatan kultur jaringan ini sudah memahami dan lancar dalam melakukan semua prosedur dilapangan maupun di laboratoriumnya.

Dengan formula dan prosedur kerja yang tepat maka proses inisiasi akan menghasilkan kultur tanaman steril yang akan menjadi cikal bakal tanaman seutuhnya. Dengan perlakuan dan threatment aplikasi beberapa formula maka jaringan tanaman yang dikultur tadi akan terjadi pertumbuhan dan terdifferensiasi menjadi organ tanaman seutuhnya. Dalam kondisi ini maka tujuan konservasi in vitro sudah tercapai.

d. Multiplikasi stok tanaman

Kultur tanaman steril yang sudah tercapai harus dilakukan perbanyak dengan teknik subkultur. Dari satu tanaman kultur steril dengan teknik subkultur akan dihasilkan tanaman kultur steril baru dengan jumlah berapa banyak kita melakukan pemotongan pada tanaman kultur steril hasil inisiasi. Hal tersebut juga berlaku untuk mengsubkultur tanaman hasil dari subkultur yang pertama. Dari proses subkultur ini akan dihasilkan stok tanaman konservasi in-vitro yang tinggal dipantau dan dicukupi kebutuhannya.

e. Aklimatisasi tanaman in-vitro

Ada tiba saatnya kita akan mewujudkan tanaman hasil konservasi in-vitro ini tumbuh ditanah atau habitatnya. Sehingga akan dapat dinikmati secara nyata di alam bebas yang bisa dilihat dan dipegang siapa saja.

Tanaman kultur didalam botol yang akan dikeluarkan maka harus dilakukan beberapa perlakuan untuk merangsang pertumbuhan akar, batang dan daun secara sempurna akar dapat di aklimatisasi pada media non agar.

Tanaman yang awalnya hidup dalam kondisi serba cukup tana ada gangguan, akan dicoba ditumbuhkan di alam sebenarnya. Untuk itu tanaman yang diaklimatisasi harus diperkenalkan perlahan-lahan agar nantinya siap secara morfologis maupun fisiologis ditanam di habitatnya.

4.4.4 Perbanyak Bibit Tanaman Konservasi

Sesuai tujuan dari konservasi tanaman ini adalah untuk mempertahankan keberadaan tanaman tersebut tumbuh dan berkembang di alam. Perbanyak jumlah bibit yang akan ditanam dialamnya atau di lahan konservasi bisa diperoleh dari program Bank Benih dan Konservasi in-vitro kultur jaringan. Benih dari Bank benih sebelum dilakukan penyemaian maka perlu dilakukan beberapa perlakuan untuk menghilangkan kondisi dormansi benih tersebut. Hal tersebut dilakukan untuk kondisi fisiologis benih siap untuk tumbuh berkecambah. Kecambah yang akan terus tumbuh menjadi bibit tanaman baru yang seiring waktu bisa ditanam di habitatnya.

Perbanyak bibit dari program konservasi in-vitro adalah dengan melakukan proses aklimatisasi tanaman kultur ke media mendekati kondisi alam sebenarnya. Tanaman yang sudah melewati masa aklimatisasi maka akan menunjukkan pertumbuhan normal seperti jenis tanaman tersebut dialamnya. Perbanyak bibit dari teknik

konservasi in-vitro kultur jaringan bisa menghasilkan bibit tanaman secara cepat dan banyak dengan kualitas yang sama.

4.4.5 Pelatihan Kultur Jaringan

Dalam mendukung program konservasi in-vitro maka dilakukan langkah pembuatan laboratorium kultur jaringan dan menyiapkan Sumber Daya Manusia (SDM)-nya untuk mengelola dan mengoperasikan laboratorium kultur jaringan tersebut. Diharapkan dengan keberadaan laboratorium kultur jaringan ini menjadi solusi dalam berbagai tantangan dan masalah konservasi in-situ. Dari masalah ketersediaan lahan, ancaman kebakaran, ancaman gangguan hewan dan oknum manusia yang tidak bertanggung jawab. Program penyiapan SDM untuk pengelolaan laboratorium kultur jaringan ini disinergikan dengan pemilihan orang yang tepat sesuai bakat dan kemampuan dengan aktifitas laboratorium kultur jaringan, kemudian dilanjutkan dengan program pelatihan kultur jaringan kepada SDM yang terpilih tadi. Pelatihan kultur jaringan dilakukan selama 4 hari di ESHA FLORA Plant and Tissue Culture Bogor Jawa Barat.

Pelatihan kultur jaringan yang dilaksanakan berisikan perpaduan materi teori dan praktik yang lengkap. Diajar dan disampaikan secara efektif dan mudah dipahami oleh para mentor dengan latar belakang sebagai dosen IPB University, praktisi kultur jaringan serta para pelaku kegiatan laboratorium kultur jaringan. Materi praktik dilakukan di laboratorium kultur jaringan yang dikemas agar para peserta pelatihan berperan secara aktif dan diwajibkan mencoba semua tahapan dalam teknik kultur jaringan. Berbagai metode dalam teknik kultur jaringan diajar dan disampaikan kemudian dipraktikan oleh semua peserta pelatihan kultur jaringan.

4.4.5.1 Jadwal dan Materi

Pelatihan kultur jaringan dilaksanakan selama 4 hari. Materi pada hari pertama dimulai dengan ramah tamah dan orientasi melihat semua fasilitas dan hasil karya dari laboratorium kultur jaringan tempat dilaksanakannya pelatihan ini. Kemudian dilanjutkan penyampaian materi dasar-dasar biologi tumbuhan dan materi dasar teknik kultur jaringan.

Tabel 2. Materi Pelatihan Teknis Kuljar

No.	HARI PELATIHAN	MATERI
1	Hari ke-1	<ul style="list-style-type: none"> - Ceremonial dan pembukaan pelatihan kultur jaringan di PKSPL IPB - Orientasi dan pengenalan laboratorium kultur jaringan - Penyampaian materi Dasar-Dasar Biologi Tanaman - Penyampaian materi Dasar-Dasar Teknik Kultur Jaringan - Penyampaian teori dan sekaligus prakti teknik pembuatan media tanam kultur - Sesi diskusi dan Tanya Jawab
2	Hari ke-2	<ul style="list-style-type: none"> - Penyampaian materi dasar-dasar teknik inisiasi - Praktikum pengambilan etres tanaman untuk diinisiasi - Praktikum threatment dan perlakuan etress untuk disterilisasi sebelum diambil jaringan meristemnya - Praktikum memilih dan mengambil jaringan meristem tanaman untuk diinisiasi - Praktikum inisiasi biji dan tanaman pada media kultur yang dibuat hari sebelumnya - Sesi diskusi dan tanya jawab
3	Hari ke-3	<ul style="list-style-type: none"> - Fieldtrip ke arboretum tanaman anggrek di Kebun Raya Bogor - Penyampaian materi dasar-dasar melakukan sub-kultur tanaman steril - Praktikum subkultur tanaman angrek - Sesi diskusi dan tanya jawab
4	Hari ke-4	<ul style="list-style-type: none"> - Penyampaian materi teknik aklimatisasi tanaman kultur - Penyampaian materi perlakuan kultur tanaman steril pra aklimatisasi - Penyampaian materi hormon dan aplikasinya - Praktikum membuat media aklimatisasi - Praktikum Teknik aklimatisasi - Sesi diskusi dan tanya jawab - Penutupan pelatihan kultur jaringan dan penyerahan sertifikat pelatihan



Gambar 4. Dokumentasi Kegiatan Pelatihan Kuljar

4.4.5.2 Sertifikasi Produk Lab Kuljar

Pembekalan yang singkat dari pelatihan kultur jaringan diharapkan bisa menjadi modal dasar dalam mengoperasikan laboratorium kultur jaringan ini. Beberapa program kerja dan target capaian sudah dipersiapkan untuk optimalisasi fungsi laboratorium kultur jaringan. Beberapa program dan target capaian laboratorium kultur jaringan sebagai berikut:

a. Program awal

- Mempertajam dan mengaktualisasikan kinerja dalam mengopersikan laboratorium

b. Program menengah

- Melakukan sub kultur tanaman pisang (jenis cavendis dan jenis unggulan lainnya) dan tanaman anggrek
- Meningkatkan kuantiti dan kualitas koleksi in-vitro tanaman kultur laboratorium
- Aklimatisasi kultur pisang dan anggrek
- Melakukan program pembagian gratis bibit pisang unggulan produksi laboratorium kultur jaringan PT PEGASOL kepada masyarakat.
- Menambahkan koleksi arboretun di Pagardewa berupa tanaman anggrak dan lainnya

c. Program utama

- Melakukan inisiasi tanaman langka dan endemik hasil inventarisasi PT PEGASOL dengan instansi terkait.
- Melakukan konservasi tanaman langka dan endemik secara in-vitro
- Menjadikan laboratorium kultur jaringan PT PEGASOL sebagai pusat edukasi berbagai kalangan dan instansi di sana.
- Menjadi program percontohan dalam langkah nyata konservasi kehati bagi instansi atau BUMN lainnya.

5 KEGIATAN LAB KULJAR 2023

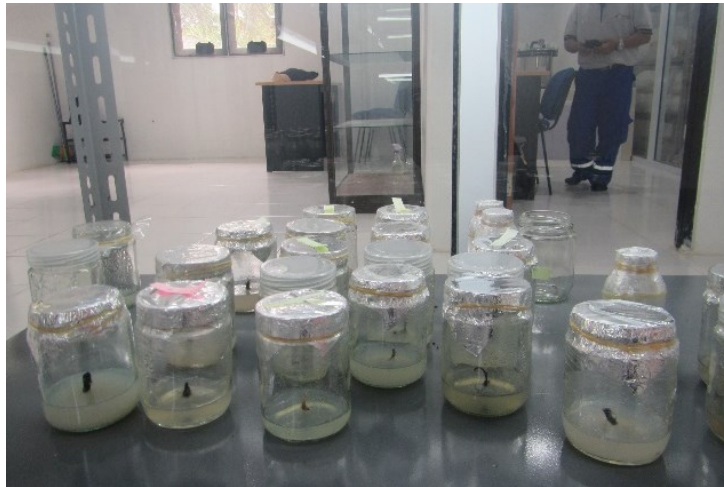
5.1 Subkultur

Subkultur merupakan salah satu tahap dalam perbanyak tanaman melalui kegiatan kultur jaringan. Kegiatan ini meliputi pembelahan dan penanaman kembali eksplan atau planlet yang telah tumbuh sehingga jumlah tanaman akan bertambah banyak. Planlet yang sudah tumbuh sempurna dapat ditinjau melalui keberadaan akar, batang, dan daun. Subkultur merupakan tahap kegiatan yang relatif mudah. Potongan-potongan bagian eksplan ditanam ke dalam media steril yang baru. Di dalam media baru tersebut juga diberikan zat pengatur tumbuh (ZPT) yang disesuaikan dengan tujuan subkultur dan jenis yang disubkultur tersebut, seperti fokus kepada penambahan jumlah daun atau akar.

Subkultur baik dilakukan ketika tanaman mengering atau layu untuk mencegah kematian total, sehingga dilakukan perbanyak terlebih dahulu. Selain itu, subkultur dapat dilakukan ketika eksplan dalam botol sudah setinggi botol atau eksplan sudah berada lama didalam botol kultur sehingga pertumbuhannya sudah mulai berkurang. Pertumbuhan yang sudah mulai berkurang ini terjadi karena hara yang ada sudah mulai berkurang sehingga tidak mampu mendukung pertumbuhan eksplan lagi. Media di dalam botol umumnya akan terlihat menipis, berwarna kecoklatan atau hitam sebagai hasil reaksi pertumbuhan tanaman. Penggantian media ini diharapkan pertumbuhan eksplan akan menjadi baik lagi karena hara yang dibutuhkan sudah tercukupi lagi dan eksplan mendapat tempat yang luas untuk berkembang karena botol juga sudah diganti. Akan tetapi, jika media atau bahkan planlet yang ditanam terkontaminasi jamur atau bakteri, planlet yang baru tidak dapat tumbuh secara optimal.

Tahap subkultur telah dilakukan di laboratorium kultur jaringan PT PGAS Solution Station Pagardewa. Setelah melakukan 4 kali percobaan, percobaan ke-3 sukses

menghasilkan 14 *polybag* jenis pisang (*Musa sp.*) yang siap diaklimatisasi dan 25 botol selai yang berisi eksplan jenis pisang yang sama. Setelah diinkubasi selama sekitar 1 minggu, terdapat 5 botol jar yang diduga terkontaminasi di bagian media. Hal tersebut ditandai dengan media yang encer dan eksplan yang tidak berkembang. Terkontaminasinya media tempat tumbuh diduga terkontaminasi akibat tidak adanya penambahan antibiotik karena habisnya stok di laboratorium. Sebanyak 20 eksplan di dalam 20 botol tumbuh cukup baik.



Gambar 5. Planlet Hasil Subkultur

Keberhasilan subkultur dapat terjadi karena media yang dibuat telah memenuhi standar kebutuhan dan sterilisasi saat pembuatan media dan menanam cukup baik. Planlet yang dikulturkan merupakan tumbuhan yang muda dengan meristematik yang steril, sehingga jauh dari kontaminasi sah akan sangat mudah untuk tumbuh lagi. Organ-organ planlet penting tanaman sudah muncul seperti akar dan daun. Eksplan yang belum lama disubkultur perlu diamati dan ditunggu hingga organ-organ penting tersebut muncul.

5.2 Aklimatisasi

Kultur *in vitro* dianggap selesai pada saat telah terbentuk plantlet (tanaman kecil) yang mempunyai pucuk pada satu ujung dan akar pada ujung lainnya. Planlet tersebut telah siap keluar dari botol kultur. Masa ini merupakan masa kritis karena plantlet harus menyesuaikan diri dari kondisi heterotrof (*aseptik* dan terpenuhi semua kebutuhan untuk proses pertumbuhannya) menjadi kondisi autotrof (*septik* dan kondisi alam yang serba tidak teratur). Di lingkungan autotrof, tanaman dipaksa untuk mampu melakukan fotosintesis sendiri sehingga dapat tumbuh dan berkembang. Masa penyesuaian diri (adaptasi) ini secara umum disebut aklimatisasi. Aklimatisasi merupakan proses yang penting dalam rangkaian aplikasi kultur jaringan untuk mendukung pengembangan pertanian.

Masa aklimatisasi menjadi masa yang rentan kematian karena pucuk atau planlet yang diregenerasikan dari kultur *in vitro* menunjukkan beberapa sifat yang kurang menguntungkan. Contohnya, planlet yang melalui kultur *in vitro* memiliki lapisan lilin (kutikula) yang tidak berkembang dengan baik, kurangnya lignifikasi batang, jaringan pembuluh dari akar ke pucuk kurang berkembang dan stomata sering sekali tidak berfungsi (tidak menutup ketika penguapan tinggi). Keadaan ini menyebabkan pucuk-pucuk *in vitro* sangat peka terhadap transpirasi, serangan cendawan dan bakteri, cahaya dengan intensitas yang tinggi, dan suhu yang tinggi. Di samping itu, media tempat tumbuh pun memiliki peranan yang cukup penting, khususnya bila pucuk-pucuk mikro yang diaklimatisasikan belum membentuk sistem perakaran yang baik.







Gambar 6. Planlet yang Telah Siap Diaklimatisasi




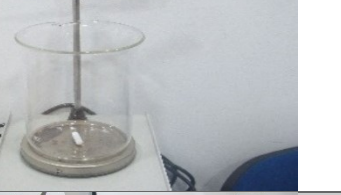



Seperti yang sudah disinggung sebelumnya, di laboratorium kultur jaringan PT PGAS Solution Station Pagardewa terdapat 14 *polybag* pisang (*Musa* sp.) yang siap diaklimatisasi. *Polybag* tersebut sudah berisi media tanam arang sekam namun masih ditaruh di dalam laboratorium untuk penyesuaian suhu. Terdapat 4 *polybag* pisang yang telah dipindahkan ke *greenhouse* untuk aklimatisasi. Diperlukan pengamatan beberapa waktu untuk mengetahui tingkat keberhasilan aklimatisasi pisang tersebut yang telah dilakukan.










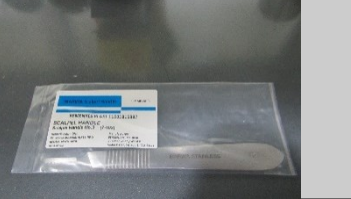






Gambar 7. Tahap Aklimatisasi








Tabel 3. Dokumentasi Peralatan Kuljar

No.	Proses	List alat	Ketersediaan
1	Peralatan sterilisasi	<i>Autoclave</i> bakar 24 liter + timer	
2	Peralatan Pembuatan Media	Satu set kompor gas biasa	
		Selang kompor gas	
		Tabung gas 3 kg	

No.	Proses	List alat	Ketersediaan
		<i>Hot plate & magnetic stirrer</i>	
		Panci <i>stainless</i> 5 L	
		Gelas piala plastik 500 ml	
		Gelas <i>beaker</i> 500 ml	
		Gelas ukur 10 ml	
		Corong kaca 50 mm	
		Batang pengaduk kaca 20 cm	

No.	Proses	List alat	Ketersediaan
		Batang pengaduk kaca 25 cm	
		Batang pengaduk kaca 30 cm	
		pH meter manual	
		Timbangan digital	
		Pipet plastik 2 ml	
		Pipet plastik 5 ml	
3	Peralatan untuk menanam	<i>Petridish 15 cm</i>	

No.	Proses	List alat	Ketersediaan
		Pisau/Skalpel	
		Mata pisau No.23	
		Mata pisau No.23	
		Spatula panjang	
		Gunting lurus/dental	
		Pinset dental	
		Pinset pendek	

No.	Proses	List alat	Ketersediaan
		Pinset panjang	
		Sprayer	
		Laboratory gloves	
		Sarung tangan tahan panas	
		Sarung tangan kain	
		Masker	
		Tisu	

No.	Proses	List alat	Ketersediaan
		Api bunsen	
		Botol asi kaca 100 ml	
		Botol selai kaca 330 ml	
		Plastik gulung 2 kg	
		Plastik Ukuran 40 X 60	
		Aluminium foil	
		Karet gelang	

No.	Proses	List alat	Ketersediaan
		<u>Plastic wrap</u>	
		Isolasi/lakban besar Aerator	
4	Laminar Air Flow		
5	Perlengkapan kerja lab	Jas lab, sepatu <i>boots</i> , penutup kepala	
6	Rak sepatu plastik		
7	Alat tulis kantor		

No.	Proses	List alat	Ketersediaan
8	Rak kultur siku (5 susun)		

6 KEGIATAN LAB KULJAR 2024

6.1 Penanaman Tanaman Hasil Kuljar

Setelah proses aklimatisasi, di mana tanaman kultur jaringan telah beradaptasi dengan lingkungan luar dari media kultur, maka langkah selanjutnya adalah pemindahan tanaman ke lapangan terbuka atau pot besar. Penanaman tanaman yang telah aklimatisasi dilakukan pada awal tahun 2024 (sekitar bulan Maret-April) di area penghijauan Station Pagardewa. Tanaman yang telah berakar dengan baik dan tumbuh subur dari kultur jaringan dipindahkan ke lubang tanam yang telah dipersiapkan, tanaman ditanam dengan hati-hati untuk memastikan pertumbuhan yang optimal dengan memperhatikan jarak tanam yang sesuai untuk menghindari kompetisi nutrisi. Selama tahap awal pertumbuhan di lapangan, dilakukan perawatan intensif meliputi penyiraman rutin untuk menjaga kelembapan tanah, pemberian pupuk yang tepat untuk mendukung pertumbuhan, dan perlindungan terhadap hama atau penyakit yang mungkin muncul. Pemantauan berkala terhadap perkembangan tanaman dan penyesuaian perawatan sesuai kebutuhan juga dilakukan untuk memastikan keberhasilan penanaman dan adaptasi tanaman ke lingkungan barunya. Pemantauan pada bulan Juli menunjukkan bahwa sebagian besar tanaman pisang yang ditanam berada dalam kondisi baik dan sehat. Tinggi tanaman rata-rata telah mencapai 1,3 meter, daun pisang memiliki bentuk yang besar dan lebar, dengan tulang di tengahnya. Bentuk daun memanjang dan memiliki ujung tumpul dengan bagian tepi yang rata, batang pisang berbentuk bulat silindris berlapis dengan rata-rata keliling batang lebih dari 15 cm. Kondisi tanaman pisang hasil kultur jaringan di lapangan disajikan pada Gambar 8 berikut ini.





Gambar 8. Kondisi dan Perbandingan Tinggi Tanaman Pisang Tahun 2024

6.2 Pengembangan *In Vitro Conservation* di Lab Kuljar

Konservasi plasma nutfah umumnya dilakukan dalam keadaan tanaman tumbuh optimal secara *ex situ* di lapangan. Namun, metode tersebut memiliki kelemahan yaitu resiko terjadinya kematian akibat serangan organisme pengganggu tanaman atau cengkaman lingkungan abiotik. Selain itu metode konservasi secara langsung di lapangan umumnya membutuhkan lahan yang cukup luas, sehingga tidak efisien dalam beberapa aspek.

Untuk mengatasi kelemahan ini, konservasi *in vitro* melalui kultur jaringan tanaman merupakan salah satu pendekatan yang dinilai lebih efektif dalam konservasi *ex situ*. Teknik ini melibatkan penyimpanan bahan tumbuhan dalam media kultur jaringan yang aseptis. Dengan cara ini, bagian tanaman seperti sel, jaringan, atau organ dipisahkan dan dibudidayakan dalam lingkungan yang terkendali dan steril. Hal ini memungkinkan tanaman untuk tumbuh dan berkembang tanpa terpengaruh oleh kondisi lingkungan luar, sehingga memungkinkan penyimpanan yang lebih efektif dan efisien. Pendekatan konservasi berbasis *in vitro* mencakup beberapa metode, seperti penyimpanan dalam pertumbuhan normal untuk penyimpanan jangka pendek, penyimpanan dalam media yang memperlambat pertumbuhan untuk penyimpanan jangka menengah, dan kriopreservasi untuk penyimpanan jangka panjang (Panis et al., 2020).

Konservasi *in vitro* memiliki beberapa kelebihan dan kekurangan dibandingkan dengan metode konservasi lainnya. Kelebihan Konservasi *In Vitro* diantaranya:

1. Efisiensi Ruang: Konservasi *in vitro* tidak memerlukan banyak tempat untuk penyimpanan, sehingga sangat efektif dalam menyimpan koleksi jenis tanaman dalam jumlah besar.
2. Kontrol Lingkungan: Tanaman yang disimpan dalam kultur jaringan dapat dikontrol lingkungannya dengan sangat baik, sehingga tidak terpengaruh oleh perubahan kondisi lingkungan luar.
3. Pertumbuhan yang Rendah: Tanaman yang disimpan dengan laju pertumbuhan yang rendah dapat bertahan lebih lama dan meminimalkan risiko hilangnya koleksi.
4. Penghematan Biaya: Metode ini relatif lebih murah dibandingkan dengan metode konservasi lainnya, seperti konservasi *ex situ*, karena tidak memerlukan biaya yang besar untuk perawatan dan infrastruktur.

5. Pengembangan Segera: Tanaman yang disimpan dalam kultur jaringan dapat diperbanyak dan didistribusikan kapan saja diperlukan, sehingga mempercepat siklus tumbuh tanaman.

Sementara itu kekurangan Konservasi In Vitro:

1. Ketergantungan pada Media: Tanaman yang disimpan dalam kultur jaringan harus tetap dalam media yang tepat untuk bertahan, sehingga memerlukan subkultur secara berkala untuk memperbarui nutrisi.
2. Keterbatasan Jangka Waktu: Tanaman yang disimpan dalam kultur jaringan biasanya hanya dapat bertahan selama beberapa bulan sebelum memerlukan subkultur kembali ke media baru.
3. Ketergantungan pada Teknologi: Konservasi in vitro memerlukan teknologi yang canggih dan aseptis untuk menjaga kesterilan lingkungan, sehingga memerlukan sumber daya yang cukup untuk mempertahankannya

Dengan demikian, konservasi in vitro melalui kultur jaringan tanaman merupakan alternatif yang sangat efektif dalam menjaga plasma nutfah dan mendukung upaya konservasi di masa mendatang, terutama pada spesies langka, terancam punah, dan tanaman yang sulit dibudidayakan dari benih atau diperbanyak secara vegetative (Sarasan et al. 2006; Engelmann 2011).

6.2.1 Konservasi in vitro di Lab Kuljar Jaringan PT PGAS Solution

Konservasi in vitro melalui kultur jaringan telah menunjukkan hasil yang sangat positif dalam menjaga plasma nutfah tumbuhan di Indonesia. Salah satu contoh sukses adalah penyelamatan hilangnya beberapa aksesori sumberdaya genetik lokal talas (*Colocasia esculenta*) yang telah dilaporkan berhasil menggunakan konservasi in vitro. Penelitian Sabda et al. (2024) menunjukkan bahwa teknik ini efektif dalam mengurangi risiko kehilangan plasma nutfah akibat serangan organisme pengganggu tanaman atau cekaman lingkungan abiotik, serta meminimalkan kebutuhan lahan yang luas untuk konservasi di lapang. Penelitian ini juga berhasil melakukan pengujian kemampuan tumbuh dan kestabilan karakter morfologi tanaman talas koleksi in vitro. Plasma nutfah talas yang telah dikonservasi secara in vitro selama 6 sampai 8 tahun masih memiliki daya tumbuh yang bagus di lapang dan masih terjaga kestabilan genetiknya. Pemanfaatan kultur in vitro untuk konservasi plasma nutfah ubi-ubian telah dilakukan di berbagai pusat penelitian di Indonesia. Strategi metode pertumbuhan lambat telah digunakan untuk mengurangi frekuensi subkultur dan meminimalkan risiko kehilangan koleksi. Dengan cara ini, tanaman dapat bertahan lebih lama dan memungkinkan penyimpanan yang lebih efektif dan efisien (Dewi et al. 2014).

Melihat hasil positif kultur in vitro ini PT PGAS Solution Station Pagardewa pada tahun 2024 berinisiatif mengimplementasikan konservasi in vitro melalui kultur jaringan pada beberapa jenis flora endemik langka yaitu pulau pandak (*Rauvolfia serpentina*), anggrek hitam (*Coelogyne pandurata*), Anggrek Mutiara (*Coelogyne asperata*), Anggrek lilin (*Aerides odoratum*), Anggrek *Dilochia wallichii*, Anggrek *Dendrobium spectabile*.



Gambar 9. Berbagai jenis flora yang akan dikembangkan melalui kultur in vitro

6.2.2 Subkultur Flora Endemik

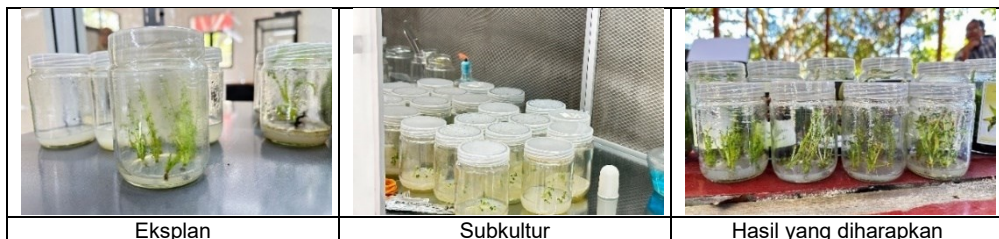
Proses subkultur flora endemik di Laboratorium Kuljar Station Pagardewa memalui proses yang sama dengan proses subkultur pada pisang dan jenis tanaman lain. Tahapan subkultur dimulai dengan pemilihan eksplan, yaitu bagian tanaman yang akan dipindahkan, seperti tunas atau kalus. Eksplan tersebut kemudian dipindahkan ke media kultur baru yang telah disiapkan, biasanya mengandung nutrisi dan hormon tertentu yang disesuaikan dengan tujuan subkultur dan jenis yang disubkultur tersebut, seperti fokus kepada penambahan jumlah daun atau akar. Proses ini dilakukan dalam kondisi steril untuk menghindari kontaminasi. Setelah pemindahan, eksplan dibiarkan tumbuh di inkubator dengan pengaturan suhu, cahaya, dan kelembapan yang sesuai. Subkultur dilakukan secara berkala untuk menjaga pertumbuhan tanaman dan memastikan ketersediaan eksplan yang siap diperbanyak.

Tahap awal subkultur flora langka yang dilakukan di laboratorium kultur jaringan PT PGAS Solution station Pagardewa bertujuan untuk perbanyak terlebih dulu, di mana eksplan ditanam dengan menggunakan formulasi media untuk perbanyak. Pada tahap awal ini dilakukan perbanyak pada jenis pulai pandak sebanyak 30 individu pulai yang dikulturkan di dalam 10 botol kaca dari 3 individu eksplan. Harapannya eksplan hasil subkultur dapat tumbuh baik dan tinggi sehingga dapat dilakukan perbanyak kembali hingga jumlah yang dirasa cukup untuk kebutuhan konservasi di laboratorium. Tahapan subkultur dan ilustrasi hasil yang diharapkan disajikan pada Gambar 10 dan Gambar 11 sebagai berikut.

Pada tahapan selanjutnya, jenis tanaman endemic dan langka lainnya akan diperbanyak di laboratorium secara bertahap. Selain itu tanaman yang telah disubkultur juga perlu dilakukan monitoring dan perawatan secara berkala. Ketika media di dalam botol terlihat menipis, berwarna kecoklatan atau hitam sebagai hasil reaksi pertumbuhan tanaman maka harus dilakukan penggantian media tanam. Penggantian media tanam bertujuan untuk menyediakan media yang baik untuk tumbuh kembang eksplan, karena hara yang dibutuhkan sudah tercukupi lagi dan eksplan mendapat tempat yang luas untuk berkembang karena botol juga sudah diganti. Akan tetapi, jika media atau bahkan planlet yang ditanam terkontaminasi jamur atau bakteri, planlet yang baru tidak dapat tumbuh secara optimal.



Gambar 10. Proses subkultur pulai pandak di Laboratorium



Gambar 11. Subkultur Pulai Pandak

6.2.3 Strategi Metode Pertumbuhan untuk Konservasi In Vitro

Penyimpanan tanaman secara in vitro dalam koleksi aktif umumnya dilakukan dengan kondisi tanaman yang tumbuh secara normal menggunakan media perbanyakan. Namun, tanaman di media ini biasanya hanya dapat bertahan selama 2-3 bulan sebelum kehabisan nutrisi, sehingga memerlukan subkultur ke media baru (Ramkhrisna et al., 2005). Frekuensi subkultur akan memengaruhi durasi penyimpanan dan biaya perawatan konservasi plasma nutfah in vitro. Sebaliknya, penyimpanan dengan metode pertumbuhan lambat yang memperlambat laju pertumbuhan dapat mengurangi frekuensi subkultur dan memperpanjang intervalnya. Hal ini dapat mengurangi risiko kehilangan koleksi akibat penurunan vigor, kontaminasi, atau kesalahan pelabelan. Tujuan utama penyimpanan in vitro adalah agar tanaman dapat

disimpan dalam jangka waktu lama, diperbanyak, dan didistribusikan kapan saja diperlukan (Towill, 2005).

Setelah perbanyakkan melalui subkultur selesai dilakukan di Laboratorium PT PGAS solution maka tahapan selanjutnya dalam konservasi *in vitro* adalah menghambat metabolisme tanaman dalam konservasi *in vitro*. Strategi perlambatan metabolisme ini dapat dilakukan melalui (1) memodifikasi komponen media, seperti penggunaan osmoregulator dan zat penghambat pertumbuhan, penurunan konsentrasi garam makro, atau perubahan konsentrasi sukrosa, serta (2) memodifikasi lingkungan tumbuh dengan penyimpanan pada suhu rendah dan pengurangan intensitas cahaya. Menurut Keller (2006) Kedua metode ini juga dapat digunakan secara bersamaan untuk menekan laju pertumbuhan. Beberapa strategi perlambatan metabolisme tanaman yang dapat dilakukan di laboratorium kultur jaringan PT PGAS Solution Pagardewa diuraikan lebih jelas pada subbab di bawah ini.

6.2.4 Modifikasi Komponen Media

a. Penggunaan regulator osmotik

Regulator osmotik (osmoregulator) adalah senyawa organik yang mempengaruhi tekanan osmotik dalam media kultur, sehingga mengurangi penyerapan hara mineral dan air oleh sel atau jaringan, yang pada akhirnya menghambat pertumbuhan kultur (Dodds dan Roberts, 1985). Beberapa zat yang berfungsi sebagai osmoregulator dan banyak digunakan diantaranya, sukrosa, manitol, dan sorbitol. Dalam beberapa penelitian diketahui bahwa zat tersebut dapat memperpanjang masa simpan *in vitro* (Chaorensu dan Phansiri, 2004; Dewi, 2002; Hassan et al., 2007; Shawky dan Aly, 2007).

Dalam kaitannya dengan metabolisme tanaman, sukrosa berfungsi sebagai sumber energi dan sumber karbon utama dalam kultur *in vitro* dan berperan dalam siklus sel. (Tyas et al. 2013). Konsentrasi sukrosa dalam media dasar untuk mendapatkan pertumbuhan normal adalah 30 g/l (Murashige dan Skoog, 1962), sementara itu jika sukrosa akan digunakan sebagai osmoregulator, konsentrasi sukrosa dapat ditingkatkan menjadi (90 g/l) (Pookmanee et al., 2001) atau diturunkan menjadi kurang dari 30g/l sehingga tanaman memperlambat siklus selnya dan menyebabkan pembelahan dan pembentukan sel berjalan lambat sehingga pertumbuhan terhambat. Hasil penelitian Tyas et al. (2012) menunjukkan bahwa jeruk besar hanya dapat disimpan minimal tujuh bulan pada media MS dengan sukrosa 1-2%.

Manitol dan sorbitol adalah gula alkohol polihidrik yang berperan dalam translokasi asimilat pada beberapa tanaman (Deguchi et al., 2004). Penambahan manitol atau sorbitol ke media kultur pada konsentrasi tertentu dapat menghambat pertumbuhan ubi-ubian dengan meningkatkan tekanan osmotik, sehingga menghalangi aliran nutrisi ke jaringan tanaman (Acedo, 1995; Bessembinder et al., 1993; Borges et al., 2004; Dewi, 2002; Sunarlim et al., 2004; Unnikrishnan et al., 1992; Xin, 1988; Zandvoort et al., 1994). Sayangnya, penggunaan mannitol dan sorbitol memiliki efek samping yakni setelah beberapa bulan, keduanya dapat dimetabolisme sebagai sumber

energi, sehingga mengurangi efektivitas penyimpanan karena pertumbuhan tanaman meningkat. Namun hal ini dapat dicegah dengan penambahan sukrosa pada media tanam. Penelitian Divakaran et al. (2006) pada vanili menunjukkan bahwa penambahan manitol (10-15 g/l) yang seimbang dengan pemberian sukrosa pada konsentrasi rendah (15-10 g/l) dapat menginduksi pertumbuhan lambat dan 80-90% kultur dapat disimpan sampai 360 hari (1 tahun) dengan syarat penyimpanan dalam wadah yang tertutup rapat dengan aluminium foil. Dengan disimpan berkali-kali pada media yang sama, baru setelah 7 tahun, planlet vanila pada media tersebut mulai menunjukkan penurunan laju pertumbuhan dan akhirnya mati.

b. Penggunaan zat penghambat tumbuh

Zat penghambat tumbuh yang dapat digunakan untuk konservasi *in vitro* antara lain *paclobutrazol* (PBZ), *cycozel* (*chlormequat chloride/chlorocholine chloride/CCC*), ancymidol, dan asam absisat (ABA). PBZ adalah senyawa sintetik yang menghambat pembentukan asam giberelin (GA) dengan menghentikan oksidasi ent-kaurene (Dewi et al 2014), sering digunakan dalam media kultur untuk memperpanjang masa simpan. Penghambatan GA mencegah pemanjangan sel, sehingga buku dan tunas tetap pendek (Arteca, 1996). PBZ juga memodifikasi morfologi tanaman, seperti memperkecil pori stomata, menebalkan daun (Keatmetha et al., 2006), meningkatkan biosintesis klorofil (Pinchera dan Fletcher, 1994), serta memperpendek ruas dan mempertebal batang (Cathey, 1975). Pada penelitian Roostika dan Sunarlim (2001) PBZ juga dapat memperbaiki penampilan dan memperpanjang masa simpan beberapa aksesori ubi jalar. Selain PBZ ancymidol dan cycozel juga digunakan sebagai zat penghambat tumbuh. Penggunaan ancymidol hingga 5 ppm dapat menghambat pertumbuhan ubi jalar hingga masa simpan 8 bulan. Penggunaan Cycocel hingga konsentrasi 500 mg/l dapat menghambat pertumbuhan ubi jalar, namun konsentrasi yang lebih tinggi dapat bersifat toksik bagi tanaman. Pada penelitian yang sama, penambahan ABA 5-20 mg/l ke dalam media juga dapat menghambat pertumbuhan ubi jalar (Golmirzaie dan Toledo, 1999) (Golmirzaie dan Toledo, 1999).

6.2.5 Modifikasi Lingkungan Fisik

a. Penggunaan suhu rendah

Perlambatan metabolisme tanaman dapat dilakukan dengan menurunkan suhu lingkungan hingga mendekati 0°C untuk tanaman subtropis dan beberapa derajat di bawah normal untuk tanaman tropis (Dodds dan Roberts, 1985; George dan Sherington, 1984). Suhu rendah menyebabkan akumulasi lemak tidak jenuh di membran sel, yang menebalkan membran dan menghambat pembelahan serta pemanjangan sel. Penyimpanan pada suhu 4°C pada talas terbukti memperpanjang masa simpan hingga 1–3 tahun (He dan Li, 1999) sementara itu pada jenis ubi jalar diperlukan suhu penyimpanan yang bervariasi, antara 18–27°C (Panta et al., 2009). Sebaiknya modifikasi lingkungan dengan penurunan suhu dikombinasikan dengan modifikasi media untuk penyimpanan *in vitro*, perlu menjadi catatan juga bahwa tanaman tropis

sering kehilangan viabilitas pada suhu rendah sehingga derajat penurunan suhu perlu diperhatikan (Golmirzaie dan Toledo, 1999).

b. Pengurangan intensitas cahaya

Selain memanfaatkan gula dari media sebagai sumber energi dan karbon, tanaman juga menggunakan gula hasil fotosintesis. Pengurangan intensitas cahaya dapat memperpanjang masa simpan dengan menekan laju pertumbuhan melalui pengurangan laju fotosintesis dan metabolisme (Huges, 1981 dalam Golmirzaie dan Toledo, 1999).

DAFTAR PUSTAKA

- Basri AHH. 2016. Kajian pemanfaatan kultur jaringan dalam perbanyakan tanaman bebas virus. *Agrica Eshtensia*. 10(1):64-73.
- Dewi N, Dewi IS, Roostika I. 2014. Pemanfaatan Teknik Kultur In Vitro untuk Konservasi Plasma Nutfah Ubi-ubian. *Jurnal AgroBiogen* 10(1):34-44.
- Rodinah, Hardarani N, Ariani HD. 2018. Modifikasi media dan periode subkultur pada kultur jaringan pisang talas (*Musa paradisiaca var. sapientum* L.). 2(1):30-35.
- Sabda M, Hidayatun N, Dewi N. 2024. Kestabilan Karakter Fenotipik Plasma Nutfah Talas (*Colocasia esculenta*) Pasca Pemeliharaan pada Media Pertumbuhan Minimal dalam Kultur In vitro. *Vegetalika* 13(1): 49-62
- Yuniardi F. 2019. Aplikasi *dimmer switch* pada rak kultur sebagai pengatur kebuthan intensitas cahaya optimum bagi tanaman *in vitro*. *Indonesian Journal of Laboratory*. 2(1):8-13.