

PUPUK  KALTIM

KULTUR *Katalog* JARINGAN

PUPUK KALTIM



Misbakhul Bait ❖ Verawati S.B ❖ Fitriana Malik

Katalog

KULTUR JARINGAN
PT PUPUK KALTIM

Misbakhul Bait ❖ Verawati S.B. ❖ Fitriana Malik

PUPUK  **KALTIM**

Katalog Kultur Jaringan PT Pupuk Kaltim

Pertama kali diterbitkan dalam bahasa Indonesia oleh
PT Pupuk Kalimantan Timur
Jl. James Simanjuntak No.1 Bontang Utara, Kalimantan Timur

Penulis	: Misbakhul Bait : Verawati S.B. : Fitriana Malik
Editor	: Fitriana Malik : Fitri Yanti
Pengarah	: Insyiah Meida Luktyansyah
Layout & Desain Sampul	: Fitri Yanti : Muliadi
Foto	: Tim Penulis

Hak cipta dilindungi oleh undang-undang.
Dilarang mengutip atau memperbanyak sebagian atau seluruh isi buku ini tanpa izin
tertulis dari penerbit.

Katalog Kultur Jaringan
Judul, Cet.1
Bontang:

ISBN: 978-623-91339-XX

Isi di luar tanggung jawab percetakan.

PRAKATA

Segala puji dan syukur kami panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan rahmat dan karunia-Nya pada kami sehingga Buku Katalog Kultur Jaringan PT Pupuk Kaltim 2023 ini dapat diterbitkan.

Buku ini dibuat sebagai upaya dalam memberikan informasi kepada pembaca mengenai kegiatan kultur jaringan yang dilakukan oleh Pupuk Kaltim pada fasilitas laboratorium kultur jaringan yang dikelola oleh Departemen Riset. Kegiatan ini dilaksanakan selaras dengan komitmen Manajemen puncak beserta karyawan perusahaan atas pentingnya kelestarian alam melalui berbagai cara yang salah satunya melalui perbanyakan flora yang dilindungi, endemic, maupun bernilai ekonomis.

Tak lupa kami sampaikan terima kasih kepada Bapak Propan Weber Suhardiyatno selaku Senior Vice President Pengembangan dan Ibu Insyiah Meida Luktyansyah selaku Vice President Riset atas dukungannya yang selalu mendorong kami untuk berbagi pengetahuan.

Semoga hadirnya buku ini memberikan banyak manfaat bagi pembaca, serta menjadi amal jariah bagi penulis dan bagi semua pihak yang mendukung terselesainya buku ini. Kami menyadari bahwa buku ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, saran yang membangun sangat kami harapkan untuk perbaikan buku ini. Terima kasih.

Bontang, Mei 2024

Penulis



KATA SAMBUTAN

Pupuk Kaltim merupakan perusahaan pupuk dengan produktivitas tertinggi di bawah naungan Pupuk Indonesia. Pupuk Kaltim berkomitmen untuk dapat menjadi pelopor dalam kegiatan pengembangan pupuk dan juga tanaman. Departemen Riset hadir sebagai perwujudan dari komitmen tersebut.

Kultur jaringan merupakan kegiatan untuk memperbanyak suatu bibit dengan memanfaatkan ruang yang sangat minimalis. Kegiatan ini menjadi alternatif untuk penanaman sehingga tidak memerlukan usaha dan ruang yang banyak. Selain itu juga dapat menghasilkan tanaman yang unggul sehingga memiliki tanaman yang lebih baik. Kultur jaringan juga menjadi upaya dalam pengembangbiakan serta pengkonservasian tanaman langka. Sehingga kultur jaringan menjadi hal yang menarik untuk dipelajari.

Buku Kultur Jaringan hadir sebagai salah satu perwujudan nyata dalam usaha Pupuk Kaltim untuk selalu mengembangkan kegiatan penanaman. Satu tahun lamanya bagi kami untuk pada akhirnya mampu menerbitkan buku ini. Dalam buku ini termuat secara lengkap dan mudah dimengerti untuk siapa saja yang ingin belajar serta melakukan kegiatan kultur jaringan. Harapan kami dengan adanya buku ini bisa membantu siapapun untuk memulai kegiatan kultur jaringan.

Terima kasih kepada seluruh pihak yang terlibat dalam pembuatan hingga penerbitan buku ini. Kami juga memohon

maaf bila ditemukannya kekurangan dalam buku ini. Semoga buku ini dapat diterima dengan baik kepada seluruh yang membacanya.

Bontang, Mei 2024

Insyiah Meida Luktyansyah

VP Riset PKT



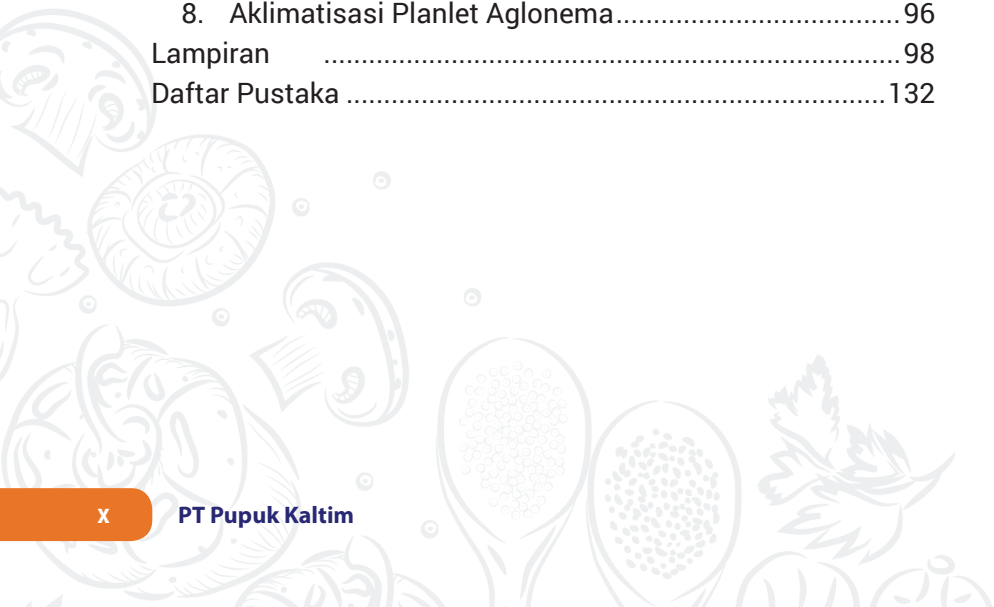
DAFTAR ISI

Prakata	iii
Kata Sambutan	v
Daftar Isi	v
Bab I Pendahuluan	1
A. Definisi Kultur Jaringan	3
B. Kelebihan Dan Kekurangan Kultur Jaringan	3
C. Media Tanam Kultur Jaringan.....	37
Bab II Kultur Jaringan	49
A. Kultur Jaringan Pisang.....	51
1. Persiapan Alat Dan Bahan Kultur Jaringan Pisang	51
2. Prosedur Pembuatan Media Tanam.....	52
3. Pengambilan Eksplan Pisang	52
4. Inisiasi Eksplan Pisang	53
5. Inokulasi Eksplan Pisang	54
6. Multiplikasi Eksplan Pisang.....	54
7. Perakaran Eksplan Pisang	54
8. Aklimatisasi Planlet Pisang	55
B. Kultur Jaringan Anggrek.....	57
1. Prosedur Pembuatan Media Tanam Eksplan Anggrek.....	57
2. Inisiasi Eksplan Anggrek	57
3. Inokulasi Eksplan Anggrek.....	58
4. Multiplikasi Eksplan Anggrek.....	58
5. Aklimatisasi Planlet Anggrek.....	58
C. Kultur Jaringan Porang	61
1. Persiapan Alat Dan Bahan Kultur Jaringan Eksplan Porang.....	62

2.	Prosedur Pembuatan Media Tanam.....	62
3.	Pengambilan Eksplan Porang.....	63
4.	Inisiasi Eksplan Porang.....	63
5.	Inokulasi Eksplan Porang.....	64
6.	Perakaran Eksplan Porang.....	64
7.	Multiplikasi Eksplan Porang	65
8.	Aklimatisasi Planlet Porang.....	65
D.	Kultur Jaringan Kelapa Kopyor	66
1.	Persiapan Alat Dan Bahan Kultur Jaringan Ekplan Kelapa Kopyor.....	66
2.	Prosedur Pembuatan Media Tanam Eksplan Kelapa Kopyor	66
3.	Pengambilan Eksplan Kelapa Kopyor.....	67
4.	Inisiasi Eksplan Kelapa Kopyor.....	68
5.	Inokulasi Eksplan Kelapa Kopyor	68
6.	Multiplikasi Eksplan Kelapa Kopyor	68
7.	Aklimatisasi Planlet Kelapa Kopyor.....	69
E.	Kultur Jaringan Kelapa Kelapa Sawit	70
1.	Persiapan Alat Dan Bahan Kultur Jaringan Eksplan Kelapa Sawit	70
2.	Prosedur Pembuatan Media Eksplan Kelapa Sawit	70
3.	Inisiasi Eksplan Kelapa Sawit	71
4.	Inokulasi Eksplan Kelapa Sawit.....	72
5.	Multiplikasi Kelapa Sawit.....	72
6.	Aklimatisasi Planlet Kelapa Sawit.....	73
F.	Kultur Jaringan Jati Prima	74
1.	Persiapan Alat Dan Bahan Kultur Jaringan Eksplan Jati Prima.....	74
2.	Prosedur Pembuatan Media Tanam Eksplan	

Jati Prima.....	74
3. Prosedur Pembuatan Media Tanam Eksplan Jati Prima.....	75
4. Pengambilan Eksplan Jati Prima.....	75
5. Inisiasi Eksplan Jati Prima.....	76
6. Inokulasi Eksplan Jati Prima	77
7. Multiplikasi Eksplan Jati Prima	77
8. Aklimatisasi Planlet Jati Prima.....	77
G. Kultur Jaringan Gaharu	78
1. Persiapan Alat Dan Bahan Kultur Jaringan Eksplan Gaharu.....	79
2. Prosedur Pembuatan Media Tanam Eksplan Gaharu ..	79
3. Prosedur Pembuatan Media Tanam Eksplan Gaharu ..	79
4. Pengambilan Eksplan Gaharu.....	80
5. Inisiasi Eksplan Gaharu.....	80
6. Inokulasi Eksplan Gaharu.....	81
7. Perakaran Eksplan Gaharu.....	82
8. Multiplikasi Eksplan Gaharu	82
9. Aklimatisasi Planlet Gaharu.....	82
H. Kultur Jaringan Jati Putih (<i>Gmelina Arborea</i> Roxb.).....	83
1. Persiapan Alat Dan Bahan Kultur Jaringan Eksplan Jati Putih.....	84
2. Pembuatan Media Eksplan Jati Putih	84
3. Prosedur Pembuatan Media Tanam Eksplan Jati Putih.....	84
4. Pengambilan Eksplan Jati Putih.....	85
5. Inisiasi Eksplan Jati Putih.....	85
6. Inokulasi Eksplan Jati Putih.....	86
7. Multiplikasi Eksplan Jati Putih	86
8. Aklimatisasi Planlet Jati Putih.....	87

I. Kultur Jaringan Kentang.....	88
1. Persiapan Alat Dan Bahan Kultur Jaringan Eksplan Kentang.....	88
2. Pembuatan Media Eksplan Kentang	88
3. Prosedur Pembuatan Media Tanam Eksplan Kentang	89
4. Pengambilan Eksplan Kentang.....	89
5. Inisiasi Eksplan Kentang	90
6. Inokulasi Eksplan Kentang.....	91
7. Multiplikasi Eksplan Kentang	91
8. Aklimatisasi Planlet Kentang.....	91
J. Kultur Jaringan Aglonema.....	93
1. Persiapan Alat Dan Bahan Kultur Jaringan Eksplan Aglonema	93
2. Pembuatan Media Eksplan Agalonema	93
3. Prosedur Pembuatan Media Tanam Eksplan Aglonema.....	93
4. Pengambilan Eksplan Aglonema.....	94
5. Inisiasi Eksplan Aglonema	94
6. Inokulasi Eksplan Aglonema.....	96
7. Multiplikasi Eksplan Aglonema	96
8. Aklimatisasi Planlet Aglonema.....	96
Lampiran	98
Daftar Pustaka	132



Bab I

PENDAHULUAN



A. DEFINISI KULTUR JARINGAN

Kultur jaringan adalah suatu metode mengisolasi bagian tanaman seperti sekelompok sel atau jaringan (daun, akar, batang, tunas, dan sebagainya) serta membudidayakan dalam lingkungan yang terkendali secara *in-vitro* dan aseptik sehingga bagian tanaman tersebut dapat beregenerasi menjadi tanaman lengkap. Kultur jaringan ditanam pada media buatan yang kaya akan nutrisi dan zat pengatur tumbuh serta ditumbuhkan dalam kondisi steril agar mampu tumbuh sempurna dan menghasilkan tanaman baru yang memiliki sifat fisiologis dan morfologi yang sama persis seperti induknya.

Metode kultur jaringan dikembangkan untuk memperbanyak tanaman, khususnya yang sulit dikembangbiakkan secara generatif. Metode kultur jaringan dapat menghasilkan tanaman baru dalam jumlah yang banyak dengan waktu yang relatif singkat. Sel yang ditumbuhkan melalui jaringan yaitu akar, daun, batang, dan mata tunas dan lain-lain sedangkan melalui jaringan generatif yaitu ovul, embrio, dan biji.

B. KELEBIHAN DAN KEKURANGAN KULTUR JARINGAN

Perbanyak tanaman melalui kultur jaringan merupakan upaya bioteknologi untuk mendapatkan benih unggul dalam waktu yang singkat, bibit yang dihasilkan mempunyai sifat yang sama persis dengan induknya, dapat diperbanyak dalam waktu yang relatif singkat dengan jumlah yang banyak, tidak membutuhkan tempat yang luas, kesehatan dan mutu bibit sangat terjamin.

Selain memiliki kelebihan teknik ini juga memiliki kekurangan, antara lain yaitu membutuhkan biaya yang cukup tinggi sehingga harga hasil bibit kultur jaringan ini lebih mahal dibandingkan bibit biasa. Hal ini karena bibit yang akan dikulturkan harus memenuhi syarat pokok dalam pelaksanaannya yaitu harus memiliki laboratorium beserta fasilitasnya yang menyediakan bahan-bahan kimia dan alat-alat kerja yang harganya yang tidak murah, serta harus menciptakan kondisi yang steril dan fasilitas, seperti air, listrik, dan bahan bakar.

Teknik kultur jaringan ini membutuhkan keterampilan dan keahlian yang khusus. Pelaksana harus memiliki ilmu-ilmu dasar tertentu karena akan menemui berbagai macam bahan kimia, proses fisiologi tanaman (biokimia dan fisika), microbiologi, sitologi, dan histologi. Dalam pelaksanaan teknik ini memerlukan ketelitian dan dituntut dalam hal keterampilan kerja, ketekunan, dan kesabaran yang tinggi, serta intensif.

Adapun beberapa tahapan dalam pelaksanaan kultur jaringan yang harus dikerjakan secara berurutan yaitu:

1. Pembuatan Media

Media merupakan faktor utama dalam perbanyakan dengan kultur jaringan. Komposisi media yang digunakan tergantung dengan jenis tanaman yang akan diperbanyak. Media yang digunakan biasanya terdiri dari garam mineral unsur hara makro dan unsur hara mikro, vitamin, dan Zat Pengatur Tumbuh (hormon) yang ditimbang menggunakan timbangan analitik. Adapun alat-alat yang digunakan untuk

membuat media kultur jaringan peralatan yang digunakan antara lain:

➤ Autoklaf

Peralatan sterilisasi merupakan alat paling penting dalam kegiatan kultur jaringan. Alat-alat berupa *glassware* maupun *dissecting set* sebelum digunakan harus disterilkan. Demikian juga media yang sudah dimasukkan ke dalam botol media harus disterilkan terlebih dahulu. Alat yang digunakan untuk mensterilkan semua peralatan dan media kultur dalam kegiatan kultur jaringan adalah autoklaf dengan uap panas bertekanan tinggi. Alat ini terdiri atas suatu bejana tahan tekanan tinggi yang dilengkapi dengan monometer, termometer, dan klep bahaya (Anonim, 1976).

➤ Timbangan analitik digital

Dalam lab kultur, alat ini digunakan untuk menimbang bahan/zat yang digunakan dalam pembuatan kultur media, misalnya zat pengatur tumbuh, bahan kimia, gula, agar, dan lain sebagainya.

➤ *Glassware* dan *Dissecting set*

Glassware yang sering digunakan pada laboratorium kultur jaringan antara lain *beaker glass*, gelas ukur, cawan petridish, erlenmeyer, dan pipet. *Glassware* digunakan untuk tempat menampung bahan kimia berupa larutan, padatan, tempat melarutkan bahan dan tempat memanaskan bahan. Sedangkan *dissecting set* merupakan alat yang digunakan untuk kegiatan memotong atau membedah

tanaman. *Dissecting set* yang sering digunakan pada laboratorium kultur jaringan adalah gunting *dissecting*, pisau skapel, dan pinset.

➤ Kulkas/freezer

Agar tidak terjadi infeksi patogen pada bahan media maupun eksplan, kulkas atau freezer digunakan untuk mendinginkan dan menjaga/menyimpan larutan stock, hormon, enzim, air steril, dan bahan-bahan eksplan.

➤ Magnetik stirrer dengan hot plate

Magnetic stirrer dengan *Hot plate* digunakan untuk melarutkan bahan kimia yang dilengkapi pemanas apabila bahan kimia tersebut agak sulit dilarutkan. Alat ini berupa logam yang dapat dipanaskan dengan menggunakan tenaga listrik dan dilengkapi dengan magnet yang bisa berputar pada motor penggerak di bawah lapisan logam tersebut.

➤ Kompor, panci, dan pengaduk

Kompor, panci, dan pengaduk digunakan untuk memasak media kultur dan sterilisasi alat pada kegiatan kultur jaringan seperti pinset, dan spatula kecil.

➤ pH meter

pH meter biasanya digunakan untuk mengukur pH suatu cairan atau media. Pada pH untuk media biasanya berkisar antara 5,0–5,8. Apabila pH terlalu rendah (<4,5) atau pH terlalu tinggi (>7,0) dapat menghambat atau menghentikan pertumbuhan dan perkembangan kultur secara *in vitro* (Pierik 1987).

➤ Rak dorong

Rak dorong digunakan untuk memudahkan pada saat memindahkan botol dari satu tempat ke tempat lainnya.

➤ Bahan kimia dan agar

Media kultur merupakan salah satu faktor penentu keberhasilan terpenting. Komposisi media masing-masing berbeda sesuai dengan kebutuhan jenis tanaman. Media yang digunakan terdiri dari unsur hara makro (N, P, K, Ca, S, Mg), unsur hara mikro (Fe, Mn, B, Zn, Cu, Co, I, Mo), vitamin (Thiamine, Nicotinamide, Myo-Inositol, Asam Panthothenate, B6, Asam Folat), Iron (Fe_2SO_4 dan Na_2EDTA), hormon atau Zat Pengatur Tumbuh (ZPT). Selain dapat dikulturkan dengan media cair, eksplan dapat dikulturkan dengan media padat atau setengah padat menggunakan bacto agar (bisa diganti dengan agar-agar biasa yang berwarna bening sebagai pamadat media, gula sebagai sumber energi, dan lain-lain).

➤ Tisu, alumunium foil, karet dan plastik tahan panas



Gambar 1. Timbangan analitik



Gambar 2. Cawan petridish



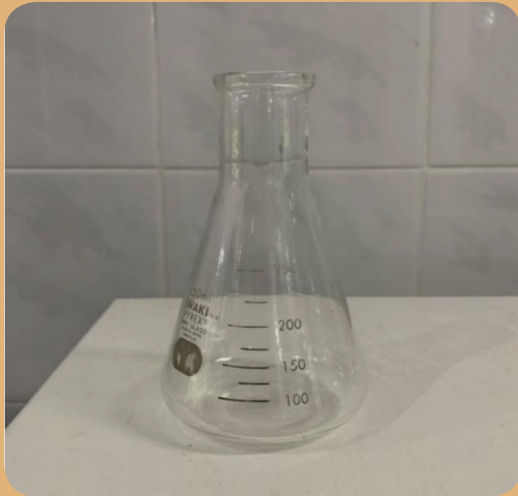
Gambar 3. Autoklaf



Gambar 4. Pipet



Gambar 5. Gelas ukur



Gambar 6. Erlenmeyer



Gambar 7. A) Kompor dan panci. B) Pengaduk



Gambar 8. Dissecting set



Gambar 9. Kulkas



Gambar 10. pH meter



Gambar 11. Magnetik stirrer dengan hot plate



Gambar 12. Rak dorong



Gambar 13. Bahan kimia

2. Sterilisasi

Sterilisasi artinya terbebas dari mikroorganisme penyebab kontaminasi. Kegiatan dalam kultur jaringan harus dilakukan di tempat yang steril dan menggunakan alat-alat yang sudah di sterilkan sebelum digunakan. Sterilisasi alat dilakukan dengan cara diautoklaf dan kemudian disimpan di oven sebelum digunakan. Alat yang akan digunakan untuk tahapan selanjutnya sebaiknya disemprot alkohol sebelum digunakan. Sterilisasi bukan hanya pada peralatan atau eksplan saja melainkan juga pada teknisnya juga harus memakai APD sesuai dengan prosedur pada laboratorium kultur jaringan. Alat dan bahan yang harus ada pada proses sterilisasi antara lain: autoklaf, Laminar Air Flow, oven, wastafel, sabun cuci, dan sikat sikat panjang digunakan untuk mencuci botol yang kotor.

Sterilisasi dengan Autoklaf

Pada prinsipnya, cara kerja autoklaf dalam mensterilkan alat ataupun media tanam menggunakan dan tekanan dari uap air dengan temperatur suhu 121°C. Lama waktu proses sterilisasi tergantung pada jenisnya, untuk alat-alat dan air disterilkan selama 30 menit, sedangkan pada media hanya antara 15-20 menit tergantung pada volume media yang akan disterilkan.

Sterilisasi dengan Oven

Teknik panas kering digunakan untuk sterilisasi botol yang akan digunakan, alat logam, dan bahan lainnya tidak mudah

rusak dalam kondisi temperatur tinggi. Cutter bedah tidak perlu disetrilkan karena sudah dalam keadaan tertutup dan hanya sekali pakai. Oven adalah alat yang digunakan untuk menyimpan alat-alat yang sudah disterilkan dengan autoklaf. Setelah alat-alat di autoklaf sebelum dipakai terlebih dahulu disimpan di oven agar tidak terkena bakteri atau jamur dan alat tetap steril. Metode sterilisasi dengan oven dikenal dengan dry heating, karena proses sterilisasi menggunakan udara kering yang panas. Berikut prosedur sterilisasi botol dengan menggunakan oven:

1. Pengecekan (kontrol) untuk melihat kebersihan botol yang akan dioven, botol yang masih kotor harus dicuci lagi sampai bersih.
2. Botol di masukan ke dalam oven dengan cara disusun secara horizontal.
3. Oven dinyalakan dengan menekan tombol ON Proses sterilisasi kering berlangsung selama 1 jam dengan suhu 80 °C.
4. Setelah 1 jam oven dimatikan dengan menekan tombol OFF, tunggu beberapa menit, untuk mengeluarkan botol dari dalam oven.
5. Selesai dioven botol dikeluarkan kemudian dimasukkan ke dalam box yang telah dibersihkan dengan alkohol 70 % dan disusun dalam box.
6. Catat jumlah botol yang dioven pada list yang disediakan.
7. Botol bersih disimpan dalam ruangan penyimpanan botol dan diserahkan ke unit persiapan media.
8. Matikan oven bila tidak digunakan

Sterilisasi dengan Laminar Air low (LAF)

LAF digunakan pada saat penanaman eksplan dan proses lain yang membutuhkan keadaan steril. Berikut adalah prinsip kerja LAF:

1. LAF sebagai meja kerja untuk melakukan kegiatan steril pada proses penanaman. Sterilisasi diawali dengan menyalakan lampu UV selama 30 menit hingga 1 jam.
2. LAF mengutamakan adanya hembusan udara steril yang digerakkan oleh blower yang disaring melalui dua filter, yaitu prefilter dan HEPA filter yang dihembuskan kira-kira 100 hembusan permenit.
3. Pada saat bekerja dengan menggunakan LAF, pastikan lampu UV dalam kondisi mati tetapi blowernya harus dinyalakan karena blower ini nantinya akan menghembuskan udara ke meja kerja, dan lampu neon dinyalakan sebagai penerang.

Prosedur penggunaan LAF:

1. Bersihkan meja kerja dengan menggunakan alkohol 70% kemudian usap dengan menggunakan tisu/kapas dan cara mengusapnya dengan satu arah dari ujung meja keluar.
2. Dianjurkan/jika sempat untuk menyalakan tombol on lampu UV selama 30 menit hingga 1 jam sebelum pekerjaan inisiasi dimulai dengan cara menekan tombol UV yang ada dibagian depan LAF, dan matikan jika sudah selesai.

3. Tekan tombol fan untuk mengalirkan udara steril selama 10 – 15 menit sebelum pekerjaan dimulai.
4. Nyalakan lampu penerang.
5. Masukkan media, bahan dan alat-alat untuk pekerjaan keatas meja steril.
6. Setelah selesai, pindahkan keluar semua bahan dan barang dari meja kerja serta bersihkan selalu kotoran seperti tumpahan media atau media agar meja kerja selalu steril.

Sterilisasi Eksplan

Untuk menghilangkan sumber kontaminasi, eksplan harus disterilkan sebelum ditanam pada media tumbuh yang sudah disiapkan. Organ atau jaringan yang dapat menyebabkan infeksi jamur dan bakteri lebih baik di buang. Apabila kontaminan tidak dihilangkan, maka media yang mengandung gula, vitamin, dan hormon, kontaminan terutama jamur dan bakteri akan cepat berkembangbiak. Dalam hitungan hari kontaminan akan memenuhi seluruh permukaan botol kultur, eksplan yang tertutup rapat akan mati karena diselimuti oleh kontaminan akan mati. Berikut merupakan teknik sterilisasi eksplan secara umum:

1. Pengambilan eksplan dari induknya.
2. Eksplan dipotong sesuai dengan ukuran yang diinginkan.
3. Eksplan dibawa ke laboratorium kultur jaringan.
4. Eksplan dicuci bersih dengan air yang mengalir.
5. Eksplan dibaluri dengan bakterisida dan fungisida lalu dibungkus dengan aluminium foil.

6. Diamkan selama semalam.
7. Setelah didiamkan, eksplan dicuci dengan air mengalir sampai bersih.
8. Eksplan dikecilkan kemudian direndam dengan fungisida 2 g, bakterisida 2 g dan ditambah tween 10 tetes.
9. Kocok sebentar lalu diamkan selama 60 menit.
10. Cuci eksplan 3x dengan air steril (sampai bersih).
11. Eksplan dibawa ke Laminar air flow.
12. Eksplan direndam dengan cairan klorok 20% selama 20 menit.
13. Cuci eksplan sebanyak 3x (sampai bersih) dengan air steril.
14. Rendam eksplan dengan cairan klorok 10% selama 10 menit. Lalu bilas eksplan sebanyak 3x dengan air steril.
15. Setelah itu, potong bagian eksplan yang terkena cairan klorok.
16. Kemudian tanam dimedia yang disediakan (dalam keadaan steril).



Gambar 14. Laminar Air Flow



Gambar 15. Oven

3. Inisiasi

Tahap ini sangat penting dalam menentukan keberhasilan yang dapat dilihat pada proses penanaman eksplan ke media pertumbuhan buatan pada kondisi aseptis (bebas dari segala kontaminan) dan harus diikuti dengan pertumbuhan awal eksplan sesuai dengan tujuan penanamnya (perpanjangan pucuk, pertumbuhan awal tunas, atau pertumbuhan kalus). Tahap ini dianggap berhasil apabila eksplan tidak

terkontaminasi dan tumbuh dengan baik (misalnya tumbuh tunas atau kalus). Faktor-faktor yang mempengaruhi keberhasilan pada tahap ini adalah umur induk eksplan, umur fisiologis dari eksplan, dan ukuran dari eksplan. Kultur bisa dipindahkan ketahap selanjutnya. Pada proses inisiasi adapun alat dan bahan yang digunakan yaitu:

- LAF
- Oven
- Hotplate dengan magnetic stirrer
- *Dissecting set*

Dalam kultur jaringan *dissecting set* digunakan untuk memegang atau mengambil irisan eksplan atau untuk membuat eksplan. Teknik penanam eksplan harus diusahakan agar ujung pinset tidak mengenai media supaya tidak terkontaminasi.

- Labu Erlenmeyer

Labu Erlenmeyer yang terbuat dari kaca dan berbentuk kerucut dilengkapi dasar yang datar memiliki fungsi untuk tempat mencampur bahan kimia. Biasanya pada tahap inisiasi bagian tanaman yang telah dipotong di masukan kedalam erlenmeyer yang sudah terisi cairan fungisida, belerang, cairan klorok dan twin (sabun).

- Gelas ukur

Gelas ini biasanya dipakai untuk menakar cairan kimia yang akan digunakan pada saat proses inisiasi.

- Air steril/air demineral

Air steril atau air demineral di sterilisasi dengan menggunakan autoklaf selama 30 menit merupakan air yang hanya mengandung H₂O yang digunakan untuk melarutkan unsur hara dan membilas eksplan pada saat proses sterilisasi.

➤ Larutan Dithane

Larutan dithane digunakan untuk menghambat adanya pertumbuhan mikroorganisme penyebab kontaminasi

➤ Larutan belerang

Perendaman belerang pada potongan tanaman dimaksudkan sebagai bakterisida dan fungisida sebagai penghambat berkembangnya sumber kontaminasi.

➤ Tween

Sama halnya seperti larutan dithane dan belerang, tween digunakan untuk meningkatkan efektivitas pada proses sterilisasi

➤ Cairan klorok

Cairan klorok (bayclin) ini dipakai sebagai bahan desinfektan pada eksplan yang akan dikembangkan pada kultur jaringan.

➤ Agrept

Agrept digunakan sebagai bakterisida pada eksplan.



Gambar 16. Air steril atau air demineral



Gambar 17. Dhitane M-45



Gambar 18. Belerang



Gambar 19. Tween



Gambar 20. Cairan klorok



Gambar 21. Agrept

4. Multiplikasi

Multiplikasi adalah kegiatan memperbanyak calon tanaman dengan menanam eksplan atau propagul pada media. Media pada multiplikasi biasanya disesuaikan dengan kebutuhan yang akan dicapai. Contohnya untuk menumbuhkan tunas-tunas pada media tersebut yang ditambahkan ZPT golongan sitokinin. Kegiatan ini dilakukan di LAF untuk menghindari adanya kontaminasi yang menyebabkan gagalnya pertumbuhan eksplan. Botol yang telah ditanami eksplan diletakkan pada rak-rak dan ditempatkan di tempat yang steril dengan suhu kamar atau disebut dengan ruang inkubasi. Kegiatan multiplikasi dilakukan setiap 2 bulan sekali kedalam media yang sama. Alat dan bahan yang perlu dipersiapkan untuk tahapan ini adalah:

- Cawan Petridish
Petridish yang sudah disterilisasi menggunakan autoklaf digunakan untuk tempat multiplikasi planlet. Planlet yang sudah dikeluarkan kemudian dipotong menjadi bagian-bagian kecil lalu ditanam menggunakan media tanam yang telah disiapkan.
- Media kultur
Media kultur disiapkan sesuai dengan kebutuhan jenis tanaman agar sel atau jaringan yang diisolasi dapat tumbuh dan berkembang menjadi tanaman yang lengkap.
- *Dissecting set*
- Penutup botol (plastik anti panas, karet)
Planlet yang sudah ditanam/dipindah pada media tanam

ditutup menggunakan karet anti panas agar pada saat media disterilisasi tidak rusak atau meleleh.

➤ Shield

Shield dipakai pada saat botol yang sudah ditutup rapat menggunakan plastik dan karet anti panas yang sudah disterilisasi agar tidak ada sumber kontam yang dapat menghambat pertumbuhan pada planlet.

➤ Alat Pelindung Diri (APD)

APD yang dipakai pada kegiatan ini adalah jas lab, safety glasses, masker, topi dan sarung tangan lateks. APD ini bertujuan untuk menghindari atau meminimalisir kecelakaan didalam laboratorium.

➤ Bunsen

Bunsen adalah alat laboratorium dengan fungsi utama untuk membakar. Pada tahapan multiplikasi, bunsen ini digunakan untuk proses sterilisasi dengan cara membakar bagian yang akan disterilkan.

➤ Spiritus

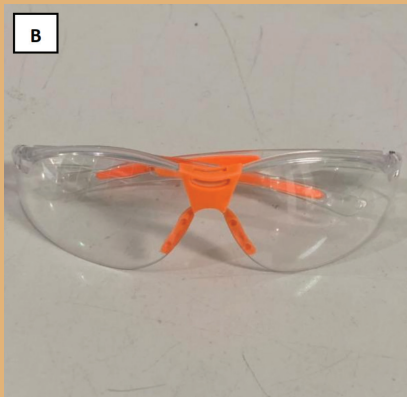
Spiritus digunakan sebagai bahan bakar api bunsen yang memiliki ciri khas berwarna ungu yang memiliki zat aditif beracun dan berbau tajam.

➤ Alkohol

Alkohol yang digunakan pada tahap ini mengandung konsentrasi 70% dan 95% yang dimanfaatkan untuk antiseptik pada kegiatan sterilisasi agar dapat menurunkan tingkat kontaminasi yang berasal dari jamur ataupun bakteri.



Gambar 22. Botol media yang di tutup dengan plastik, karet dan shield yang tahan panas



Gambar 23. A) Topi, jas lab, dan sarung tangan lateks. B) Safety glasses



Gambar 24. Bunsen



Gambar 25. Spiritus



Gambar 26. Alkohol

5. Pengakaran

Pengakaran adalah fase dimana eksplan akan menunjukkan adanya pertumbuhan akar yang menandai bahwa proses kultur jaringan yang dilakukan mulai berjalan dengan baik. Untuk perakaran digunakan media standar (MS) + Naftalena Acetic Acid (NAA), Indole Butyric Acid (IBA) sesuai takaran dan bahan tambahan organik lainnya. Planlet (tunas yang telah berakar) diaklimatisasikan hingga bibit cukup kuat untuk ditanam di lapangan. Pengamatan dilakukan setiap hari untuk melihat pertumbuhan dan perkembangan

akar serta untuk melihat adanya kontaminasi oleh bakteri ataupun jamur. Tanaman atau eksplan yang sudah muncul akar tidak perlu dipindah ke media perakaran. Alat dan bahan yang diperlukan pada tahap perakaran ini sama seperti tahapan multiplikasi, hanya saja yang membedakan adalah media yang digunakan memiliki kandungan yang dapat merangsang tumbuhnya akar.

6. Aklimatisasi

Aklimatisasi adalah proses mengadaptasikan tanaman dari yang semula kondisinya terkendali ke kondisi yang tak terkendali seperti cuaca yang tidak menentu dan banyaknya bakteri dan jamur yang berpotensi merusak bagian jaringan tanaman. Pindahan dilakukan secara hati-hati dan bertahap, yaitu dengan cara memberikan sungkup. Sungkup digunakan untuk melindungi bibit dari udara luar dan serangan hama penyakit karena bibit hasil kultur jaringan sangat rentan terhadap serangan hama dan penyakit. Setelah bibit mampu beradaptasi dengan lingkungan barunya, maka secara bertahap sungkup dilepaskan dan pemeliharaan bibit dilakukan dengan cara yang sama dengan pemeliharaan bibit generatif lainnya. Aklimatisasi dapat dilakukan di rumah kaca atau pesemaian, yang kondisinya lembab dapat dikendalikan. Pada tahap aklimatisasi alat dan bahan yang akan digunakan antara lain:

- Spatula kecil

Spatula kecil digunakan untuk membantu mengeluarkan

tanaman dari botol kultur yang selanjutnya kan dicuci dengan air bersih ataupun air mengalir.

➤ Wadah untuk perendaman

Pada saat aklimatisasi tanaman wadah ini berfungsi untuk tempat perendaman dithane pada tanaman yang sudah dicuci bersih.

➤ Media tanam

Media tanam yang digunakan pada tahap aklimatisasi berbeda-beda sesuai dengan kebutuhan tanaman. Biasanya media yang dipakai pada tahap ini adalah pasir, topsoil, sekam, kompos, pakis yang di letakkan di pot ataupun baki sebagai tempat tanam

➤ Sungkup

Sungkup yang digunakan berfungsi sebagai pelindung tanaman dari udara bebas, menjaga kelembaban, mencegah serangan hama dan penyakit serta mengurangi intensitas cahaya matahari.

➤ Larutan IBA

Larutan IBA (Indole Butyric Acid) berperan untuk merangsang pertumbuhan suatu akar atau sebagai zat pengatur tumbuh.

➤ Bedak tabur

Pemberian bedak tabur bertujuan untuk merekatkan cairan dithane dan larutan IBA agar tetap menempel pada tanaman

➤ Dithane M-45

Penataan ruangan dikaitkan dengan langkah-langkah dalam prosedur kultur jaringan dan alat-alat tersendiri yang diperlukan karena kegiatan tersebut memiliki fungsi yang berbeda tetapi saling berhubungan.

1. Ruang Pembuatan Larutan Stok

Stok yang akan kita buat sebelumnya dilakukan penimbangan bahan kimia dan bahan penunjang lainnya seperti vitamin dan hormon. Pada ruangan ini terdapat timbangan analitik, *hot plate* dengan *magnetic stirrer*, kulkas, lemari penyimpanan bahan kimia dan pH meter.



Gambar 27. Ruang Pembuatan Larutan Stok

2. Ruang Sterilisasi Alat dan Media

Ruangan ini merupakan tempat memasak, pembuatan media, penuangan media ke botol, sterilisasi media dan sterilisasi bahan dan alat-alat yang akan digunakan. Pada ruangan ini terdapat kompor listrik, oven, autoklaf, meja untuk tempat menuangkan media ke dalam botol, dan wastafel untuk tempat pencucian alat-alat yang telah digunakan.



Gambar 28. Ruang Sterilisasi Alat dan Media

3. Ruang Tanam

Ruang tanam merupakan ruang untuk memindahkan eksplan ke dalam jar yang sudah steril serta tempat untuk subkultur. Ruangan ini harus dijaga sterilitasnya agar pekerjaan kultur dapat terhindar dari kontaminasi hingga vegetatif tanaman dapat berkembang. Ruang tanam dilengkapi dengan lampu pembunuh mikroorganisme atau lampu ultra violet (UV). Lampu ini dinyalakan 30 menit sebelum pekerjaan dimulai dan dimatikan ketika sudah mulai penanaman. Pada laboratorium kultur yang lebih modern, sebelum memasuki ruang tanam, setiap orang harus disterilisasi dengan memasuki ruang pembersih yang dilengkapi dengan sprayer otomatis yang menyemburkan desinfektan ke seluruh tubuh ruang tanam sebaiknya dilengkapi dengan pendingin (AC) untuk memberikan kenyamanan pada teknisi kultur. Di dalam ruang kultur terdapat meja kerja steril atau LAF.



Gambar 29. Ruang tanam

4. Ruang Inkubasi

Ruang inkubasi harus dijaga kebersihannya dan harus dalam kondisi steril. Setiap seminggu sekali ruangan disterilkan dengan formalin 20% dan dilakukan penyemprotan dengan formalin 20% setiap sebulan sekali untuk menjaga ruangan tetap steril dan mengurangi kontaminasi. Ruangan dilengkapi dengan rak-rak untuk meletakkan botol-botol kultur yang sudah ditanami eksplan dan botol-botol hasil multiplikasi serta ruang dilengkapi air conditioner (AC) dengan suhu yang berkisar antara 19-20°C karena morfogenesis dalam kultur umumnya terjadi pada kisaran suhu tersebut. Sterilisasi dijaga dengan cara menyemprotkan desinfektan secara berkala serta membersihkan ruangan dan menyingkirkan kultur yang sudah terkontaminasi. Kultur yang sudah terkontaminasi ini akan menjadi sumber kontaminan untuk kultur yang sehat.



Gambar 30. Ruang Inkubasi

5. Ruang Aklimatisasi

Ruangan aklimatisasi merupakan ruang untuk menyimpan planlet sebelum dipindahkan ke lapangan. Di dalam ruangan ini planlet mengalami penyesuaian terhadap kondisi alam. Pada saat pemindahan planlet harus dilakukan secara berhati-hati dengan memberikan sungkup yang berguna untuk melindungi tanaman dari serangan hama dan penyakit. Adapun faktor-faktor yang perlu diperhatikan pada saat proses aklimatisasi yaitu, seperti temperatur dengan suhu ruang 25°C-30°C, tingkat cahaya yang rendah, dan tingkat kelembaban yang tinggi pada beberapa hari pertama agar tanaman tidak mengalami stres.



Gambar 31. Ruang Aklimatisasi

C. MEDIA TANAM KULTUR JARINGAN

Media tumbuh tanam yang dikulturkan merupakan bagian yang penting. Media kultur dalam teknik perbanyakan vegetatif ini tidak lepas dari adanya komponen yang terdiri dari berbagai unsur pendukung pertumbuhan tanaman seperti hara makro, hara mikro, vitamin, zat perangsang tumbuh dan sumber energi dalam bentuk gula dan agar sebagai bahan pematat.

Media kultur jaringan tanaman tidak hanya menyediakan unsur hara makro dan mikro, tetapi juga sumber karbohidrat yang pada umumnya berupa gula menggantikan karbon yang biasanya dihasilkan dari atmosfer melalui proses fotosintesis. Campuran media yang satu sesuai untuk jenis tanaman tertentu tetapi tidak sesuai untuk jenis-jenis tanaman yang lain (Hendaryono dan Wijayanti, 1994).

1. Komposisi Media

Beberapa formula media sudah umum digunakan dalam pekerjaan kultur jaringan dan sudah dikomersilkan. Media tersebut antara lain White, Murashige & Skoog (MS), Gamborg (B5), Gautheret, Schenk & Hilderbrandt (SH), Nitch & Nitch, dan lain-lain. Berikut adalah penjabaran dari masing-masing komposisi media.

a. Hara Makro

Hara makro terdiri dari unsur utama yang dibutuhkan untuk pertumbuhan sel dan jaringan tanaman biasanya dalam jumlah yang besar daripada hara mikro, terdiri dari unsur nitrogen (N), fosfor (P), kalium (K), kalsium (Ca), magnesium (Mg), dan sulfur (S).

b. Hara mikro

Adapun hara mikro yang paling dibutuhkan oleh pertumbuhan sel dan jaringan yaitu mencakup besi (Fe), mangan (Mn), boron (B), tembaga (Cu), dan molibdenum (Mo).

c. Sumber energi

Sumber energi yang biasanya digunakan pada teknik perbanyakan *in-vitro* dalam membuat media tanaman adalah sukrosa atau glukosa. Karbohidrat harus tersedia dalam media kultur karena sangat sedikit sel dari jenis tanaman yang diisolasi dapat bersifat autotropik, yaitu kemampuan menyediakan karbohidrat.

d. Vitamin

Vitamin memiliki katalitik pada enzim dan dibutuhkan dalam jumlah kecil. Satu-satunya vitamin yang dianggap esensial pada kultur *in-vitro* adalah thiamine (vitamin B₁), Pemberian niasin (asam nikotinat). Prydoxsine (vitamin B6) dapat meningkatkan pertumbuhan kultur (*Gemborg et al.*, 1976).

Setiap vitamin memiliki fungsi yang berbeda-beda antara lain:

1. Thiamine (vitamin B₁) memiliki peran sebagai koenzim dari siklus kreb.
2. Nicotinic Acid (vitamin B₃) berperan dalam fotosintesa.
3. Pyridoxine (vitamin B₆) berperan sebagai koenzim pada beberapa enzim.

4. Myo-Inositol (vitamin B₆) memiliki peran sebagai untuk memperbaiki pertumbuhan dan morfogenesis.
5. Biotin (vitamin B₇) adalah vitamin esensial yang penting untuk metabolisme asam amino dan energi, serta sintesis asam lemak.
6. Ca Pantothenate (vitamin B₅) sebagai koenzim A dalam metabolisme lemak.

Beberapa vitamin lain yang digunakan pada kultur in-vitro meliputi asam p-aminobenzoat (PABA; vitamin B_x), asam askorbat (vitamin C), biotin (vitamin H), kolin klorida, kyanokobalamin (vitamin B₁₂), asam folat (vitamin B₉), kalsium pantotenat, dan riboflavin (vitamin B₂) (Gemborg dan Shyluk, 1981). Asam askorbat yang terkadang diberikan bersama-sama dengan asam-asam organik lain, berguna sebagai senyawa antioksidan untuk menghindari terjadinya pencoklatan medium akibat adanya senyawa fenol yang dikeluarkan oleh eksplan dari spesies tanaman tertentu, terutama tanaman bergetah (Reynolds dan Murashige, 1979).

Asam Amino Dan Sumber Nitrogen Lainnya

Kecuali glisin (asam aminoasetat), asam-asam amino lain tidak banyak diberikan pada media kultur in-vitro. Jika dianggap perlu untuk menambahkan sesuatu campuran nitrogen organik maka medium dapat ditambah dengan 0,05-0,10% (w/v) hidrolisat kasein atau asam-asam kasamino. Hidroli-

kasein yang mengandung protein susu dapat dilakukan melalui berbagai cara, dimana hidrolisat mengandung suatu campuran yang terdiri atas paling sedikit 18 asam-asam amino yang berbeda (Klein dan Klein, 1970).

Bahan Organik Kompleks

1. Arang aktif (activated charcoal)

Arang aktif memiliki pengaruh terhadap penyerapan senyawa-senyawa penghambat yang dihasilkan oleh eksplan sebagai antioksidan yang juga sering digunakan untuk memacu pertumbuhan akar, penyerapan zat pengatur tumbuh, atau menggelapkan warna media. Beberapa hasil penelitian menunjukkan pengaruh yang menguntungkan dan juga dapat merugikan. Pada kultur beberapa tanaman seperti anggrek, bawang, wortel, dan tomat dapat menstimulir pertumbuhan dan diferensiasi, tetapi pada kultur tanaman tembakau, kedelai, dan teh justru akan menghambat pertumbuhan. Penambahan arang aktif 0.8-1 g/l menghambat pembekuan agar (Horner *et al.*, 1977 dalam (George & Sherrington, 1984). Tetapi dengan adanya penambahan agar-agar dan pH yang sesuai dalam pembuatan media maka media akan berubah menjadi padat.

2. Air kelapa

Air kelapa sering dijumpai pada saat membuat media kultur anggrek. Air kelapa sendiri mengandung zat atau bahan-bahan seperti vitamin, mineral, asam amino dan asam nukleat, fosfor serta zat tumbuh auksin dan giberelin Penggunaan air kelapa sebagai bahan organik merupakan salah satu cara untuk

menggantikan penggunaan bahan sintetis yang dipakai dalam pembuatan media kultur, seperti kinetin.

3. Ekstrak ragi

Ekstrak ragi merupakan salah satu bahan organik alamiah yang diperoleh dari hasil samping dalam proses fermentasi yang dimanfaatkan sebagai substrat yang sangat baik bagi pertumbuhan mikroorganisme serta sumber produksi enzim dalam skala besar. Ekstrak ragi sebagai sumber nitrogen berperan dalam proses fisiologis, seperti pembentukan protein, asam nukleat, dan koenzim. Di samping itu juga berperan dalam pertumbuhan sel serta menjaga dan memelihara kemampuan sel untuk membentuk enzim (Fukamoto *et al.* 1957).

4. Ekstrak pisang

Hasil penelitian Arditti & Ernts (1992) menunjukkan bahwa buah pisang mengandung hormon tumbuh seperti auksin dan giberelin serta nutrisi penting sebagai zat pengatur tumbuh eksogen. Ekstrak pisang dalam kultur jaringan, menurut Untari dan Puspitaningtyas (2006) umumnya digunakan sebanyak 150-200 g/L. Ekstrak pisang yang ditambahkan pada media kultur jaringan dapat merangsang pembelahan sel dan mendorong diferensiasi sel, sehingga tunas dapat tumbuh dengan baik. Kandungan ekstrak pisang ambon juga mengandung unsur-unsur kalium (K), fosfor (P) dan besi (Fe) dan sehingga memberikan pengaruh positif terhadap pertumbuhan tunas.

5. Ekstrak tomat

Ekstrak tomat menyumbangkan hormon auksin dan sitokinin yang mendorong pertumbuhan tanaman. Buah

tomat selain mengandung hormon sitokinin dan auksin juga mengandung unsur hara, mineral, asam amino yang dapat mempercepat biji untuk berkecambah dan sebagai penyedia nutrisi tambahan (Hendaryono dan Wijayani, 1994).

Bahan Pekat

Bahan yang digunakan untuk membuat media padat dan semipadat pada kultur jaringan yaitu dengan menambahkan bahan pekat berupa agar. Agar berfungsi sebagai penopang eksplan yang ditanam dalam media tetap pada tempatnya (tidak bergerak dan tidak berpindah).

Jenis Jenis Media

Jenis media yang digunakan dapat berupa media cair, padat, semipadat, dan semisolid, sesuai dengan jenis eksplan tanaman yang akan kita pakai. Resep media dasar adalah resep kombinasi zat yang mengandung hara esensial (makro dan mikro), sumber energi dan vitamin.

Menurut George dan Sherrington (1984), adapun jenis-jenis media kultur jaringan adalah sebagai berikut dan komponen bahan dapat dilihat dilampiran pada Tabel 1:

1. Media Knudson dan media Vacin and Went

Media ini dikembangkan khusus untuk kultur angrek. Tanaman yang ditanam di kebun dapat tumbuh dengan baik dengan pemupukan yang hanya mengandung N dari Nitrat. Knudson pada tahun 1922, menemukan penambahan 7.6 mM NH_4^+ disamping 8.5 mM NO_3^- , sangat baik untuk

perkecambahan dan pertumbuhan biji anggrek. Penambahan NH_4^+ ternyata dibutuhkan untuk perkembangan protocorm (bentuk perkecambahan dari biji anggrek sebelum menjadi plantlet). Media Nitsch & Nitsch menggunakan NO_3^- dan K^+ dengan kadar yang cukup tinggi untuk mengkulturkan jaringan tanaman artichoke Jerusalem. Penambahan ammonium klorida sebanyak 0.1 mM, menghasilkan pertumbuhan jaringan yang menurun.

2. Media White

Merupakan perbaikan komposisi media Skoog, terutama kebutuhan garam anorganik yang mendukung pertumbuhan optimum pada kultur jaringan tembakau. Media MS mengandung 40 mM N dalam bentuk NO_3^- dan 29 mM N dalam bentuk NH_4^+ . Kandungan N ini, lima kali lebih tinggi dari N total yang terdapat pada media Miller, 15 kali lebih tinggi dari media tembakau Hildebrandt, dan 19 kali lebih tinggi dari media White. Kalium juga ditingkatkan sampai 20 mM, sedangkan P, 1.25 mM. Unsur makro lainnya konsentrasinya dinaikkan sedikit. Senyawa-senyawa di dalam media MS dapat terjadi pengendapan persenyawaan, ini terlihat jelas pada media cair. Kebanyakan dari persenyawaan yang mengendap adalah fosfat dan besi, kemudian dalam jumlah yang lebih sedikit adalah Ca, K, N, Zn dan Mn. Senyawa paling sedikit adalah senyawa yang mengandung unsur C, Mg, H, Si, Mo, S, Ca dan Co. Setelah tujuh hari dibiarkan, maka kira-kira 50% dari Fe dan 13% dari PO_4^+ , mengendap (Dalton et al, 1983). Endapan unsur-unsur tersebut mungkin tidak penting, karena unsur-unsur tersebut masih tersedia

bagi jaringan tanaman dan pengaruh pengendapannya belum diketahui. Untuk mengatasi pengendapan Fe, Dalton dan grupnya menganjurkan supaya konsentrasi Fe dikurangi sampai 1/3 dengan EDTA yang tetap.

3. Media Nitsch & Nitsch

Menggunakan NO_3^- dan K^+ dengan kadar yang cukup tinggi untuk mengkulturkan jaringan tanaman artichoke Jerusalem. Penambahan ammonium klorida sebanyak 0.1 mM, menghasilkan pertumbuhan jaringan yang menurun. Mereka mengambil kesimpulan, bahwa NH_4^+ sangat menunjang pertumbuhan kalus tembakau (Gunawan, 1988).

4. Media Murashige & Skoog (media MS)

Dikembangkan oleh Hildebrandt untuk keperluan kultur jaringan tumor bunga matahari, ditemukan bahwa unsur makro yang dibutuhkan kultur tersebut, lebih tinggi dari pada yang dibutuhkan oleh kultur tembakau. Unsur F, Ca, Hg dan S pada media untuk tumor bunga matahari ini, sama dengan media untuk jaringan normal yang dikembangkan kemudian. Konsentrasi NO_3^- dan K^+ yang digunakan Hildebrandt ini lebih tinggi dari media white, tetapi masih lebih rendah dari pada media-media lain yang umum digunakan sekarang. Media ini adalah media yang paling banyak digunakan dalam kegiatan kultur jaringan, karena media MS lebih kompleks dan mengandung hampir semua unsur yang dibutuhkan oleh tanaman. Media ini memiliki komponen seperti unsur hara makro dan mikro dan vitamin seperti KNO_3 ; NH_4NO_3 ; MgSO_4 ; KH_2PO_4 . CaCl_2 ; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; Na_2EDTA . $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$; H_3BO_3 . KI; $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$. Na_2MoO_4 .

2H₂O; ZnSO₄. 7H₂O ; Glycine; Myo inositol; Nicotinic acid, Pyridoxin HCl dan Thiamine HCl (Murashige & Skoog, 1962).

5. Media Gamborg B5 (media B5)

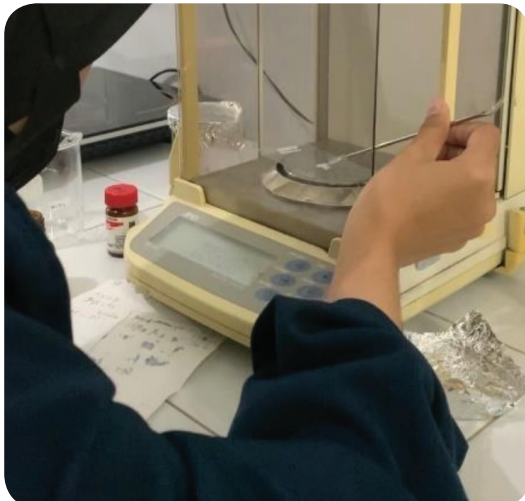
Pertama kali dikembangkan untuk kultur kalus kedelai dengan konsentrasi nitrat dan amonium lebih rendah dibandingkan media MS. Untuk selanjutnya media B5 dikembangkan untuk kultur kalus dan suspensi, serta sangat baik sebagai media dasar untuk meregenerasi seluruh bagian tanaman. Pada masa ini media B5 juga digunakan untuk kultur-kultur lain. Media ini dikembangkan dari komposisi PRL- 4, media ini menggunakan konsentrasi NH₄⁺ yang rendah, karena konsentrasi yang lebih tinggi dari 2 mM menghambat pertumbuhan sel kedelai. Fosfat yang diberikan setelah 1 mM, Ca²⁺ antara 1-4 mM, sedangkan Mg²⁺ antara 0.5-3 mM (Gamborg et al, 1968).

PEMBUATAN MEDIA

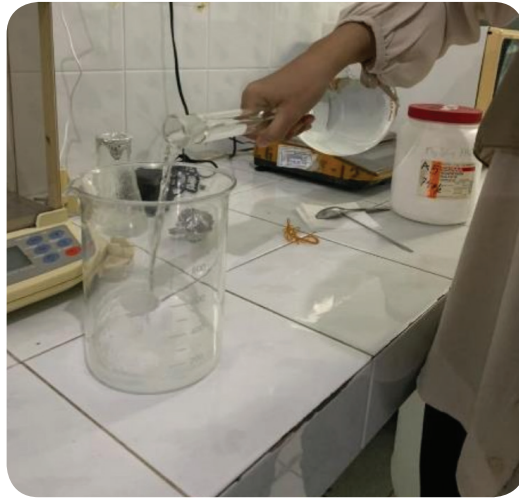
Penggunaan larutan stok dapat menghemat pekerjaan menimbang bahan yang terulang setiap kali membuat media. Pembuatan larutan stok berdasarkan pengelompokan dalam stok makro, stok mikro, stok Fe, stok vitamin, dan stok hormon. Hal yang perlu diperhatikan dalam pembuatan larutan stok ini adalah pada penyimpanan larutan. Larutan yang sudah mengalami pengendapan, pada saat akan digunakan maka larutan diaduk hingga larutan kembali homogen baru bisa digunakan kembali dan sisa larutan stok dapat di simpan kembali di kulkas untuk penggunaan pembuatan media selanjutnya.

Cara pembuatan larutan stok :

1. Menimbang senyawa yang sudah ditentukan takarannya.
2. Bahan yang telah ditimbang, dilarutkan satu persatu dengan menggunakan hot plate dengan *magnetic stirrer* sampai larutan homogen.
3. Larutan dipindahkan kedalam gelas ukur yang lebih besar kemudian larutan di campur jadi satu lalu ditambahkan air steril 500 ml dan dishaker hingga larutan homogen. Setelah itu larutan dipindahkan kedalam botol penyimpanan yang diberi label sesuai dengan kode yang diberikan.
4. Simpan larutan didalam kulkas agar larutan tidak terkontaminasi.



Gambar 32. Proses penimbangan bahan kimia



Gambar 33. Proses pencampuran bahan kimia dan air steril ke dalam gelas piala



Gambar 34. Larutan stok dipindahkan ke dalam botol

Bab II

KULTUR JARINGAN



A. KULTUR JARINGAN PISANG

Pisang (*Musa sp*) merupakan salah satu tanaman buah-buahan yang diperbanyak secara komersial dengan teknik kultur jaringan *in-vitro*. Pisang biasanya diperbanyak secara vegetatif menggunakan anakannya atau melalui bonggolnya. Untuk ukuran anakan pohon pisang yang cukup besar dapat menyulitkan dalam proses pengiriman atau transportasi bibit dari satu tempat ke tempat penanamannya. Pisang cavendish merupakan pisang yang dikembangkan oleh Pupuk Kaltim di dalam laboratorium kultur jaringan ini. Pisang yang memiliki tekstur lembut dan kulit tipis mengandung vitamin C, vitamin B6, vitamin A, folat, magnesium, dan besi, yang mampu mencegah anak mengalami stunting. Anakan pisang yang diproduksi dalam satu induk pisang ukuran dan umurnya juga beragam, sehingga sangat sulit untuk memperoleh anakan berukuran seragam untuk dikomersilkan. Oleh karena itu kultur jaringan dapat mengatasi kendala-kendala tersebut. Berikut adalah tahapan-tahapan dalam proses kultur jaringan tanaman pisang:

1. PERSIAPAN ALAT DAN BAHAN KULTUR JARINGAN PISANG

Alat-alat yang digunakan adalah botol kultur, erlenmeyer, pipet, gelas piala, autoklaf, cawan petridish, gelas ukur, alumunium foil, pH meter, gunting, pisau skalpel, bunsen, pinset, dan LAF. Bahan yang digunakan pada proses kultur jaringan adalah bahan kimia, kapas, alkohol 70% dan 95%, sukrosa, agar, hormon tambahan (jika ada), spiritus, cairan klorok, air steril, bakterisida, dan fungisida.

2. PROSEDUR PEMBUATAN MEDIA TANAM

Untuk formula media tanam dan bahan fresh yang langsung ditimbang pada media eksplan pisang dapat dilihat dilampiran pada tabel 2 dan 3. Adapun prosedur pembuatan media tanam untuk eksplan pisang yaitu:

- a. Siapkan alat dan bahan yang sudah disterilkan.
- b. Timbang semua bahan yang akan digunakan.
- c. Larutkan bahan kimia satu persatu hingga homogen kemudian dicampurkan kedalam satu wadah sesuai dengan jumlah media yang akan dibuat.
- d. Sebelum media dimasak, letakkan media di atas stirrer plate dan ukur pH media hingga 5,8 menggunakan pH meter.
- e. Setelah itu, media dimasak sambil diaduk hingga mendidih. Kemudian tambahkan agar-agar sedikit demi sedikit hingga larut.
- f. Setelah selesai, tuang media ke dalam jar steril yang sudah disiapkan.
- g. Tutup jar menggunakan plastik roll yang sudah dipotong dan direkatkan menggunakan karet.
- h. Kemudian dimasukkan kedalam autoklaf selama 15 menit dengan suhu 121°C.

3. PENGAMBILAN EKSPLAN PISANG

- a. Sebelum pengambilan eksplan, seleksi induk yang akan diambil eksplannya (usahakan memilih induk yang sehat atau terhindar dari penyakit).
- b. Ambil bagian eksplan (pucuk, bonggol, tunas, daun, atau buah) sesuai yang diperlukan.

4. INISIASI EKSPLAN PISANG

- a. Pengambilan eksplan /pisang dari induknya.
- b. Eksplan dikecilkan sesuai dengan ukuran yang diinginkan.
- c. Eksplan dibawa ke laboratorium kultur jaringan.
- d. Eksplan dicuci bersih dengan air yang mengalir.
- e. Eksplan dibaluri dengan bakterisida dan fungisida lalu dibungkus dengan aluminium foil.
- f. Diamkan selama semalam.
- g. Setelah didiamkan, eksplan dicuci dengan air mengalir sampai bersih.
- h. Eksplan dikecilkan kemudian direndam dengan fungisida 2 g, bakterisida 2 g dan ditambah tween 10 tetes.
- i. Kocok sebentar lalu diamkan selama 60 menit.
- j. Cuci eksplan 3x dengan aquades (sampai bersih).
- k. Eksplan dibawa ke LAF.
- l. Eksplan direndam dengan cairan klorok 20% selama 20 menit.
- m. Cuci eksplan sebanyak 3x (sampai bersih) dengan aquades.
- n. Rendam eksplan dengan cairan klorok 10% selama 10 menit. Lalu bilas eksplan sebanyak 3x dengan aquades.
- o. Setelah itu, potong bagian eksplan yang terkena cairan klorok.
- p. Kemudian tanam dimedia yang disediakan (dalam keadaan steril).

5. INOKULASI EKSPLAN PISANG

- a. LAF disemprot menggunakan alkohol 70% lalu diusapkan dengan kapas.
- b. Kemudian nyalakan lampu Ultra Violet selama 30-60 menit.
- c. Hidupkan blower, lalu alat-alat tanam yang sudah disiapkan disemprot alkohol 70% kemudian dimasukkan dalam LAF.
- d. Eksplan diambil menggunakan pinset steril, dimasukkan dalam media kultur yang sudah disiapkan.
- e. Botol diberi label sesuai dengan tanggal, jenis eksplan, kode media, kemudian disimpan pada ruang inkubasi dengan temperatur 22-25°C.

6. MULTIPLIKASI EKSPLAN PISANG

- a. Setelah 1-2 bulan, eksplan yang sudah tumbuh tunas baru kemudian dimultiplikasi ke media yang sudah disiapkan.
- b. Botol diberi label sesuai dengan tanggal, jenis eksplan, kode media, kemudian disimpan pada ruang inkubasi dengan temperatur 22-25°C.

7. PERAKARAN EKSPLAN PISANG

Untuk planlet yang sudah dimultiplikasi, dipindahkan ke media MS + arang aktif (charcoal) 2g tanpa hormon untuk memacu perakaran. Pierik (1987) menyatakan bahwa arang aktif dapat memacu terbentuknya akar tetapi pada kondisi tertentu senyawa tersebut dapat menyerap zat pengatur

tumbuh terutama auksin. Dengan demikian apabila diberikan secara bersamaan dengan auksin, zat pengatur tumbuh tersebut sebaiknya diberikan dengan konsentrasi yang relatif lebih tinggi. Apabila pada eksplan telah tumbuh akar maka eksplan tidak perlu dipindah kemedi perakaran.

8. AKLIMATISASI PLANLET PISANG

- a. Planlet atau tanaman yang sudah lengkap dikeluarkan dalam ruang inkubasi dan dibiarkan selama satu minggu untuk masa penyesuaian kondisi lingkungan pada perubahan cuaca dari ruang tertutup menjadi keruangan terbuka.
- b. Setelah itu, rendam planlet dengan fungisida dan bakterisida kurang lebih selama 5 menit. Kemudian planlet siap ditanam didalam baki. Media yang digunakan pada proses aklimatisasi yaitu terdiri dari pasir dan kompos dengan perbandingan 2 : 1 yang telah dikukus kurang lebih selama 1 jam dengan ketebalan 7 cm.
- c. Lalu baki yang sudah terisi tanaman kemudian disungkup menggunakan plastik transparan.
- d. Setelah satu minggu tanaman bisa disemprot dengan pupuk cair atonik dan vitamin B₁ dengan takaran 2 ml/L air yang dilakukan sebanyak 2 kali seminggu.



B. KULTUR JARINGAN ANGGREK

Indonesia memiliki keaneragaman hayati yang luar biasa, salah satunya adalah tanaman anggrek. Diperkirakan ada sekitar 5000 jenis anggrek yang tersebar di hutan wilayah Indonesia. Potensi ini sangat berharga bagi pengembang dan pecinta tanaman anggrek di Indonesia. Tidak dipungkiri bahwa metode terbaik hingga saat ini dalam pelestarian dan perbanyakan anggrek adalah dengan kultur jaringan, karena melalui kultur jaringan ini banyak hal yang bisa dilakukan dibandingkan dengan secara konvensional. Adapun anggrek yang dikembangkan di Laboratorium Kultur Jaringan Pupuk Kaltim yaitu anggrek hitam, anggrek tebu, anggrek, papua, anggrek kelinci, anggrek vanda, anggrek lasiantera papua, anggrek celebensis, dan anggrek bulan. Namun ada beberapa jenis anggrek yang sudah melalui tahap aklimatisasi yaitu anggrek hitam, anggrek tebu, dan anggrek papua.

1. PROSEDUR PEMBUATAN MEDIA TANAM EKSPLAN ANGGREK

Untuk formula media tanam dan bahan fresh yang langsung ditimbang pada media eksplan anggrek dapat dilihat dilampiran pada tabel 3 dan 4. Adapun tahapan kultur jaringan anggrek yaitu:

2. INISIASI EKSPLAN ANGGREK

- a. Ambil buah anggrek yang sudah tua dan siap untuk di tabur.
- b. Seprotkan buah anggrek dengan alkohol 70% sebelum

dimasukkan kedalam laminar air flow.

- c. Kemudian eksplan dibakar sebentar kemudian potong kedua ujung eksplan lalu dibelah.
- d. Taburkan biji angrek kemedial yang sudah disiapkan.

3. INOKULASI EKSPLAN ANGGREK

- a. LAF disemprot menggunakan alkohol 70% lalu diusapkan dengan kapas.
- b. Kemudian lampu Ultra Violet selama 30-60 menit.
- c. Hidupkan blower, lalu alat-alat tanam yang sudah disiapkan disemprot alkohol 70% kemudian dimasukkan dalam LAF.
- d. Eksplan diambil menggunakan pinset steril, dimasukkan dalam media kultur yang sudah disiapkan.
- e. Botol diberi label sesuai dengan tanggal, jenis eksplan, kode media, kemudian disimpan pada ruang inkubasi dengan temperatur 22-25°C.

4. MULTIPLIKASI EKSPLAN ANGGREK

- a. Setelah 1-2 bulan, eksplan yang sudah tumbuh tunas baru kemudian dimultiplikasi kemedial yang sudah disiapkan.
- b. Botol diberi label sesuai dengan tanggal, jenis eksplan, kode media, kemudian disimpan pada ruang inkubasi dengan temperatur 22-25°C.

5. AKLIMATISASI PLANLET ANGGREK

- a. Planlet atau tanaman yang sudah lengkap dikeluarkan

dari ruang inkubasi dan dibiarkan selama satu minggu untuk masa penyesuaian kondisi lingkungan pada perubahan cuaca dari ruang tertutup menjadi keruangan terbuka.

- b. Setelah itu, bersihkan planlet dari media agar hingga bersih, rendam planlet dengan fungisida dan bakterisida kurang lebih selama 5 menit, lalu planlet dicelupkan kedalam larutan IBA, kemudian planlet siap ditanam ke dalam baki. Media yang digunakan pada proses pemindahan dari botol kebaki menggunakan media pakis, setelah sekitar kurang lebih 2 bulan, tanaman siap dipindah ke dalam pot kecil yang diisi media pakis.
- c. Setelah tanaman anggrek kurang lebih 6 bulan dipot kecil, anggrek dipindah ke pot besar dengan media arang, kompos, dan sabut kelapa pada perbandingan 2 : 1 : 1.
- d. Setelah satu minggu tanaman bisa disemprot dengan pupuk cair atonik dan vitamin B₁ dengan takaran 2 ml/L air yang dilakukan sebanyak 2 kali seminggu.



B. KULTUR JARINGAN PORANG

Pertanian tanaman porang di Indonesia saat ini mengalami kenaikan pesat. Banyaknya manfaat tepung porang menjadikan porang sebagai komoditas primadona yang mampu menggeser minat petani. Manfaat porang ternyata dapat menjadi bagian penting untuk industri dan kesehatan seperti halnya sebagai bahan baku lem yang ramah lingkungan, campuran bahan baku kertas agar kertas menjadi lemas dan kuat serta pengkilap kain, lem kertas, dan cat. Dalam membuat perbanyakan bahan tanaman dengan cara kultur jaringan, gel porang dapat menjadi media tumbuh pengganti media tumbuh mikroba, gel porang dapat pula digunakan sebagai pengganti gel sisilicion karena glukomanan dapat menjadi isolator listrik, campuran dalam alat-alat pesawat terbang dan parasut, di Jepang tepung porang dapat dijadikan makanan mie shirataki dan konyaku, bahan pengental sirup dan perekat es krim agar tidak cepat meleleh, dapat pula dijadikan penjernih air pengganti kaporit, pengikat formulasi tablet, bahan baku pembentuk kapsul obat, porang dapat bermanfaat juga atau berkhasiat untuk kesehatan seperti mengurangi kadar kolesterol, cocok untuk diet dan diabetes dimakan dalam bentuk agar-agar yang mengandung Vitamin A dan B lebih tinggi dari kentang. Banyak petani beralih tanam menjadi petani porang. Hal ini menimbulkan permintaan akan bibit porang meningkat tajam. Namun selama ini penyediaan bibit porang masih dilakukan secara konvensional baik dengan menanam biji, maupun umbi generasi pertama. Oleh karena itu, dengan adanya metode *in-vitro* ini porang dikembangkan dalam jumlah yang banyak dengan waktu yang relatif singkat dan seragam.

1. PERSIAPAN ALAT DAN BAHAN KULTUR JARINGAN EKSPLAN PORANG

Alat-alat yang digunakan adalah botol kultur, erlenmeyer, labu ukur, pipet, gelas piala, autoklaf, cawan petridish, gelas ukur, alumunium foil, pH meter, gunting, pisau skalpel, pinset, LAF. Bahan yang digunakan pada proses kultur jaringan adalah bahan kimia, kapas, alkohol 70% dan 95%, sukrosa, hormon tambahan (jika ada), spiritus, klorok, air steril, bakterisida, dan fungisida.

2. PROSEDUR PEMBUATAN MEDIA TANAM

Untuk formula media tanam dan bahan fresh yang langsung ditimbang pada media eksplan porang dapat dilihat dilampiran pada tabel 5 dan 6. Adapun prosedur pembuatan media tanam untuk eksplan porang yaitu:

- a. Siapkan alat dan bahan yang sudah disterilkan.
- b. Timbang semua bahan yang akan digunakan.
- c. Larutkan satu persatu hingga homogen kemudian dicampurkan kedalam satu wadah sesuai dengan jumlah media yang akan dibuat.
- d. Sebelum media dimasak, letakkan media di atas stirrer plate dan ukur pH media menggunakan pH meter hingga 5,8.
- e. Setelah itu, media dimasak sambil diaduk hingga mendidih. Kemudian tambahkan agar-agar sedikit demi sedikit hingga larut.
- f. Setelah selesai, tuang media ke dalam jar yang sudah

disiapkan.

- g. Tutup jar menggunakan plastik roll yang sudah di potong dan direkatkan menggunakan karet.
- h. Kemudian dimasukkan kedalam autoklaf selama 15 menit dengan suhu 121°C.

3. PENGAMBILAN EKSPLAN PORANG

- a. Sebelum pengambilan eksplan, seleksi induk yang akan diambil eksplannya (usahakan memilih induk yang sehat atau terhindar dari penyakit).
- b. Ambil bagian eksplan (pucuk, bonggol, tunas, daun, atau buah) sesuai yang diperlukan.

4. INISIASI EKSPLAN PORANG

- a. Pengambilan eksplan dari induknya.
- b. Eksplan dipotong sesuai dengan ukuran yang diinginkan.
- c. Eksplan dibawa ke laboratorium kultur jaringan.
- d. Eksplan dicuci bersih dengan air yang mengalir.
- e. Eksplan kemudian direndam dengan fungisida 2 g, bakterisida 2 g dan ditambah tween 5 tetes.
- f. Kocok sebentar lalu diamkan selama 60 menit.
- g. Cuci eksplan 3x dengan aquades (sampai bersih).
- h. Eksplan dibawa ke Laminar Air Flow.
- i. Eksplan direndam dengan cairan klorok 20% selama 15 menit.
- j. Cuci eksplan sebanyak 3x (sampai bersih) dengan

- aquades.
- k. Rendam eksplan dengan cairan klorok 10% selama 10 menit. Lalu bilas eksplan sebanyak 3x dengan aquades.
 - l. Setelah itu, potong bagian eksplan yang terkena cairan klorok
 - m. Kemudian tanam dimedia yang disediakan (dalam keadaan steril).

5. INOKULASI EKSPLAN PORANG

- a. Laminar Air Flow disemprot menggunakan alkohol 70% lalu diusapkan dengan kapas.
- b. Kemudian lampu Ultra Violet selam 30-60 menit.
- c. Hidupkan blower, lalu alat-alat tanam yang sudah disiapkan disemprot alkohol 70% kemudian dimasukkan dalam Laminar Air Flow.
- d. Eksplan diambil menggunakan pinset steril, dimasukkan dalam media kultur yang sudah disiapkan.
- e. Botol diberi label sesuai dengan tanggal, jenis eksplan, kode media, kemudian disimpan pada ruang inkubasi dengan temperatur 22-25°C.

6. PERAKARAN EKSPLAN PORANG

Pada tahap ini masing-masing planlet dipindahkan ke media perakaran untuk memacu pembesaran, perakaran dan perangsang aktivitas fotosintesisnya. Untuk planlet porang yang sudah dimultiplikasi namun belum tumbuh perakarannya, planlet akan dipindakan ke media MS + arang aktif sebanyak 2 g tanpa hormon.

7. MULTIPLIKASI EKSPAN PORANG

- a. Setelah 1-2 bulan, eksplan yang sudah tumbuh tunas baru kemudian dimultiplikasi ke media yang sudah disiapkan.
- b. Botol diberi label sesuai dengan tanggal, jenis eksplan, kode media, kemudian disimpan pada ruang inkubasi dengan temperatur 22-25°C.

8. AKLIMATISASI PLANLET PORANG

- a. Planlet atau tanaman yang sudah lengkap dikeluarkan dari ruang inkubasi dan dibiarkan selama satu minggu untuk masa penyesuaian kondisi lingkungan pada perubahan cuaca dari ruang tertutup menjadi keruangan terbuka.
- b. Setelah itu, bersihkan planlet dari media agar hingga bersih, rendam planlet dengan fungisida dan bakterisida dengan takaran 2 g/l kurang lebih selama 5 menit, kemudian planlet siap ditanam ke dalam baki. Media yang digunakan pada proses pemindahan dari botol ke baki menggunakan media kompos dan top soil dengan perbandingan 2 : 1
- c. Lalu baki yang sudah terisi tanaman kemudian disungkup menggunakan plastik transparan.
- d. Setelah satu minggu tanaman bisa disemprot dengan pupuk cair atonik dan vitamin B₁ dengan takaran 2 ml/L air yang dilakukan sebanyak 2 kali seminggu.

D. KULTUR JARINGAN KELAPA KOPYOR

Kelapa kopyor merupakan kelapa yang terbentuk akibat adanya proses genetik yang memiliki daging buah tebal dan kadar air yang sangat minim. Kelapa ini memiliki 2 jenis yaitu kelapa kopyor genjah dan kelapa kopyor biasa yang memiliki jangkauan harga sekitar 25.000 hingga 30.000 rupiah. Latar belakang masalah kelapa kopyor ini adalah jumlah kelapa kopyor yang dihasilkan oleh bibit biasa relatif hanya 2 sampai 4 butir saja yang berhasil menjadi kopyor untuk satu tandannya. Namun hal ini dapat diatasi dengan teknologi kultur jaringan embrio. Melalui teknologi kultur embrio ini bibit mampu menghasilkan kopyor hingga 100%.

1. PERSIAPAN ALAT DAN BAHAN KULTUR JARINGAN EKPLAN KELAPA KOPYOR

Alat-alat yang digunakan adalah botol kultur, erlenmeyer, labu ukur, pipet, gelas piala, autoklaf, cawan petridish, gelas ukur, alumunium foil, pH meter, gunting, pisau skalpel, pinset, LAF. Bahan yang digunakan pada proses kultur jaringan adalah bahan kimia, kapas, alkohol 70%, sukrosa, hormon tambahan (jika ada), spiritus, klorok, air steril, bakterisida, dan fungisida.

2. PROSEDUR PEMBUATAN MEDIA TANAM EKSPAN KELAPA KOPYOR

Untuk formula media tanam dan bahan fresh yang langsung ditimbang pada media eksplan kelapa kopyor dapat dilihat dilampiran pada tabel 7 dan 8. Adapun prosedur

pembuatan media tanam untuk eksplan kelapa kopyor yaitu:

- a. Siapkan alat dan bahan yang sudah disterilkan.
- b. Timbang semua bahan yang akan digunakan.
- c. Larutkan satu persatu hingga homogen kemudian dicampurkan kedalam satu wadah sesuai dengan jumlah media yang akan dibuat.
- d. Sebelum media dimasak, letakkan media di atas stirrer plate dan ukur pH media menggunakan pH meter hingga 5,8.
- e. Setelah itu, media dimasak sambil diaduk hingga mendidih. Kemudian tambahkan agar-agar sedikit demi sedikit hingga larut.
- f. Setelah selesai, tuang media ke dalam jar yang sudah disiapkan.
- g. Tutup jar menggunakan plastik roll yang sudah di potong dan direkatkan menggunakan karet.
- h. Kemudian dimasukkan kedalam autoklaf selama 15 menit dengan suhu 121°C.
- i. Untuk media perakaran tambahkan air kelapa 200 ml/l media.

3. PENGAMBILAN EKSPLAN KELAPA KOPYOR

- a. Sebelum pengambilan eksplan, seleksi induk yang akan diambil eksplannya (usahakan memilih induk yang sehat atau terhindar dari penyakit).
- b. Eksplan yang diambil dari kelapa kopyor yaitu bagian embrio yang terdapat di dalam buah.

- c. Embrio di ambil menggunakan pinset steril, kemudian letakkan embrio kedalam erlenmeyer yang berisi air stereril. Tutup erlenmeyer menggunakan alumunium foil lalu rekatkan dengan menggunakan karet.

4. INISIASI EKSPLAN KELAPA KOPYOR

Pada prinsipnya embrio terletak didalam atau dilindungi oleh jaringan-jaringan yang berada dari luar embrio, seperti kulit buah, daging buah maupun kulit biji. Hal ini menjadikan embrio tetap dalam keadaan steril. Karena embrio terletak didalam, sterilisasi dapat dilakukan dengan pembakaran buah/biji.

5. INOKULASI EKSPLAN KELAPA KOPYOR

- a. Laminar Air Flow disemprot menggunakan alkohol 70% lalu diusapkan dengan kapas.
- b. Kemudian lampu Ultra Violet selam 30-60 menit.
- c. Hidupkan blower, lalu alat-alat tanam yang sudah disiapkan disemprot alkohol 70% kemudian dimasukkan dalam Laminar Air Flow.
- d. Eksplan diambil menggunakan pinset steril, dimasukkan dalam media kultur yang sudah disiapkan.
- e. Botol diberi label sesuai dengan tanggal, jenis eksplan, kode media, kemudian disimpan pada ruang inkubasi dengan temperatur 22-25°C.

6. MULTIPLIKASI EKSPLAN KELAPA KOPYOR

- a. Setelah 1-2 bulan, eksplan yang sudah tumbuh tunas

baru kemudian dimultiplikasi ke media yang sudah disiapkan.

- b. Botol diberi label sesuai dengan tanggal, jenis eksplan, kode media, kemudian disimpan pada ruang inkubasi dengan temperatur 22-25°C.

7. AKLIMATISASI PLANLET KELAPA KOPYOR

- a. Planlet atau tanaman yang sudah lengkap dikeluarkan dalam ruang inkubasi dan dibiarkan selama satu minggu untuk masa penyesuaian kondisi lingkungan pada perubahan cuaca dari ruang tertutup menjadi keruangan terbuka.
- b. Setelah itu, bersihkan planlet dari media agar hingga bersih, rendam planlet dengan fungisida dan bakterisida dengan takaran 2 g/l kurang lebih selama 5 menit, kemudian planlet siap ditanam ke dalam baki. Media yang digunakan pada proses pemindahan dari botol ke baki menggunakan media pasir dan kompos dengan perbandingan 2 : 1.
- c. Lalu baki yang sudah terisi tanaman kemudian disungkup menggunakan plastik transparan.
- d. Setelah satu minggu tanaman bisa disemprot dengan pupuk cair atonik dan vitamin B₁ dengan takaran 2 ml/l air yang dilakukan sebanyak 2 kali seminggu.

E. KULTUR JARINGAN KELAPA KELAPA SAWIT

Kebutuhan produksi yang menjadikan kelapa sawit sebagai bahan baku utama menjadikan tanaman kelapa sawit sangat penting dimasa kini dan masa yang akan datang, maka perlu dipikirkan usaha peningkatan kualitas dan kuantitas produksi kelapa sawit secara tepat supaya sasaran yang diinginkan dapat tercapai. Para produsen didesak untuk mengutamakan kualitas tanaman sehingga pemilihan bibit unggul sangatlah penting untuk menunjang proses produksi kelapa sawit yang baik, saat ini produsen masih mengalami kesulitan dalam pemilihan bibit unggul secara cepat dan hasil yang akurat sehingga sangat dibutuhkan suatu alat yang dapat membantu proses pemilihan bibit unggul yang berkualitas baik.

1. PERSIAPAN ALAT DAN BAHAN KULTUR JARINGAN EKSPLAN KELAPA SAWIT

Alat -alat yang digunakan adalah botol kultur, erlenmeyer, labu ukur, pipet, gelas piala, autoklaf, cawan petridish, gelas ukur, alumunium foil, pH meter, gunting, pisau skalpel, pinset, LAF. Bahan yang digunakan pada proses kultur jaringan adalah bahan kimia, kapas, alkohol 70%, sukrosa, hormon tambahan (jika ada), spiritus, klorok, air steril, bakterisida, dan fungisida.

2. PROSEDUR PEMBUATAN MEDIA EKSPLAN KELAPA SAWIT

Untuk komposisi dan prosedur pembuatan media eksplan kelapa sawit dapat dilihat dilampiran. Untuk pembuatan media kelapa sawit sendiri agak sedikit berbeda dengan media tanaman lainnya. Media untuk kelapa sawit memiliki 6 tahap yang memiliki komposisi yang berbeda dan memiliki fungsi

masing-masing yang akan dijelaskan pada lampiran yang tertera. Berikut prosedur untuk membuat media kelapa sawit:

- a. Siapkan alat dan bahan yang sudah disterilkan.
- b. Timbang semia bahan yang akan digunakan.
- c. Larutkan satu persatu hingga homogen kemudian dicampurkan kedalam satu wadah sesuai dengan jumlah media yang akan dibuat.
- d. Sebelum media dimasak, letakkan media di atas stirrer plate dan ukur pH media menggunakan pH meter.
- e. Setelah itu, media dimasak sambil diaduk hingga mendidih. Kemudian tambahkan agar-agar sedikit demi sedikit hingga larut.
- f. Setelah selesai, tuang media ke dalam test tube yang sudah disiapkan.
- g. Tutup test tube menggunakan plastik roll yang sudah di potong dan tutup test tube lalu rekatkan tutup menggunakan shield anti panas.
- h. Kemudian dimasukkan kedalam autoklaf selama 15 menit dengan suhu 121°C.

3. INISIASI EKSPLAN KELAPA SAWIT

- a. Ortet yang telah diambil dibersihkan dan dibuang dari pelepah yang tidak digunakan.
- b. Bagian pelepah yang diambil biasanya -2, -5, -6, -7, dan -8.
- c. Setiap pelepah dibagi menjadi beberapa blok tergantung kebutuhannya, misalnya ingin mendapatkan 500

eksplan, dengan 5 pelepah maka setiap pelepah dibagi menjadi 10 blok, dimana setiap blok diambil 10 daun, dst.

- d. Eksplan disterilisasi perblok unuk memudahkan dokumentasi/pengambilan data.
- e. Eksplan per blok disterilisasi di dalam larutan klorin selama 10 menit.
- f. Eksplan kemudian dipindahkan ke larutan gula minimal 5 menit. Dan dapat langsung ditanamn ke dalam test tube.
- g. Ukuran eksplan disesuaikan dengan ukuran test tube.

4. INOKULASI EKSPLAN KELAPA SAWIT

- a. Laminar Air Flow disemprot menggunakan alkohol 70% lalu diusapkan dengan kapas.
- b. Kemudian lampu Ultra Violet selam 30-60 menit.
- c. Hidupkan blower, lalu alat-alat tanam yang sudah disiapkan disemprot alkohol 70% kemudian dimasukkan dalam Laminar Air Flow.
- d. Eksplan diambil menggunakan pinset steril, dimasukkan dalam media kultur yang sudah disiapkan.
- e. Test tube diberi label sesuai dengan tanggal, jenis eksplan, kode media, kemudian disimpan pada ruang inkubasi dengan temperatur 22-25°C.

5. MULTIPLIKASI KELAPA SAWIT

- a. Setelah 1-2 bulan, eksplan yang sudah tumbuh tunas baru kemudian dimultiplikasi ke media yang sudah

disiapkan.

- b. Test tube diberi label sesuai dengan tanggal, jenis eksplan, kode media, kemudian disimpan pada ruang inkubasi dengan temperatur 22-25°C.

6. AKLIMATISASI PLANLET KELAPA SAWIT

- a. Planlet atau tanaman yang sudah lengkap dikeluarkan dalam ruang inkubasi dan dibiarkan selama satu minggu untuk masa penyesuaian kondisi lingkungan pada perubahan cuaca dari ruang tertutup menjadi keruangan terbuka.
- b. Setelah itu, bersihkan planlet dari media agar hingga bersih, rendam planlet dengan fungisida dan bakterisida dengan takaran 2 g/l kurang lebih selama 5 menit, kemudian planlet siap ditanam ke dalam baki. Media yang digunakan pada proses pemindahan dari botol ke baki menggunakan media pasir dan kompos dengan perbandingan 2 : 1
- c. Lalu baki yang sudah terisi tanaman kemudian disungkup menggunakan plastik transparan.
- d. Setelah satu minggu tanaman bisa disemprot dengan pupuk cair atonik dan vitamin B₁ dengan takaran 2 ml/L air yang dilakukan sebanyak 2 kali seminggu.

F. KULTUR JARINGAN JATI PRIMA

Jati (*Tectona grandis* Linn.f.) merupakan salah satu jenis tanaman yang sudah banyak dikenal dan dikembangkan oleh masyarakat luas dalam bentuk hutan tanaman maupun hutan rakyat. Hal ini dikarenakan hingga saat ini jati prima merupakan komoditas kayu mewah, berkualitas tinggi, harga jualnya mahal, dan bernilai ekonomis tinggi. Namun produksi jati di Indonesia menurun 36% pada tahun 2016. Jati sering kali ditanam dengan menggunakan biji, namun memiliki beberapa kelemahan beberapa diantaranya seperti rentan penyakit dan tingkat keberhasilan yang rendah. Solusi utama dari permasalahan tersebut adalah teknik kultur jaringan atau *in vitro* (Prameswari dkk, 2019).

1. PERSIAPAN ALAT DAN BAHAN KULTUR JARINGAN EKSPAN JATI PRIMA

Alat-alat yang digunakan adalah botol kultur, erlenmeyer, labu ukur, pipet, gelas piala, autoklaf, cawan petridish, gelas ukur, alumunium foil, pH meter, gunting, pisau skalpel, pinset, LAF. Bahan yang digunakan pada proses kultur jaringan adalah bahan kimia, kapas, alkohol 70% dan 95%, sukrosa, hormon tambahan (jika ada), spiritus, klorok, air steril, bakterisida, dan fungisida.

2. PROSEDUR PEMBUATAN MEDIA TANAM EKSPAN JATI PRIMA

Untuk formula media tanam dan bahan fresh yang langsung ditimbang pada media eksplan jati prima dapat

dilihat dilampiran pada tabel 9 dan 10. Adapun prosedur pembuatan media tanam untuk eksplan jati prima yaitu:

3. PROSEDUR PEMBUATAN MEDIA TANAM EKSPLAN JATI PRIMA

- a. Siapkan alat dan bahan yang sudah disterilkan.
- b. Timbang semua bahan yang akan digunakan.
- c. Larutkan satu persatu hingga homogen kemudian dicampurkan kedalam satu wadah sesuai dengan jumlah media yang akan dibuat.
- d. Sebelum media dimasak, letakkan media di atas stirrer plate dan ukur pH media menggunakan pH meter hingga 5,8.
- e. Setelah itu, media dimasak sambil diaduk hingga mendidih. Kemudian tambahkan agar-agar sedikit demi sedikit hingga larut.
- f. Setelah selesai, tuang media ke dalam jar yang sudah disiapkan.
- g. Tutup jar menggunakan plastik roll yang sudah di potong dan direkatkan menggunakan karet
- h. Kemudian dimasukkan kedalam autoklaf selama 15 menit dengan suhu 121°C.

4. PENGAMBILAN EKSPLAN JATI PRIMA

- a. Sebelum pengambilan eksplan, seleksi induk yang akan diambil eksplannya (usahakan memilih induk yang sehat atau terhindar dari penyakit).

- b. Ambil bagian eksplan (pucuk, bonggol, tunas, daun, atau buah) sesuai yang diperlukan.

5. INISIASI EKSPLAN JATI PRIMA

- a. Pengambilan eksplan dari induknya.
- b. Eksplan dikecilkan sesuai dengan ukuran yang diinginkan.
- c. Eksplan dibawa ke laboratorium kultur jaringan.
- d. Eksplan dicuci bersih dengan air yang mengalir.
- e. Eksplan dibaluri dengan bakterisida dan fungisida lalu dibungkus dengan aluminium foil.
- f. Diamkan selama semalam.
- g. Setelah didiamkan, eksplan dicuci dengan air mengalir sampai bersih.
- h. Eksplan dikecilkan kemudian direndam dengan fungisida 2g, bakterisida 2g dan ditambah tween 10 tetes.
- i. Kocok sebentar lalu diamkan selama 60 menit.
- j. Cuci eksplan 3x dengan aquades (sampai bersih).
- k. Eksplan dibawa ke Laminar Air flow.
- l. Eksplan direndam dengan cairan klorok 20% selama 20 menit.
- m. Cuci eksplan sebanyak 3x (sampai bersih) dengan aquades.
- n. Rendam eksplan dengan cairan klorok 10% selama 10 menit. Lalu bilas eksplan sebanyak 3x dengan aquades.

- o. Setelah itu, potong bagian eksplan yang terkena cairan klorok.
- p. Kemudian tanam di media yang disediakan (dalam keadaan steril).

6. INOKULASI EKSPLAN JATI PRIMA

- a. LAF disemprot menggunakan alkohol 70% lalu diusapkan dengan kapas.
- b. Kemudian lampu Ultra Violet selama 30-60 menit.
- c. Hidupkan blower, lalu alat-alat tanam yang sudah disiapkan disemprot alkohol 70% kemudian dimasukkan dalam LAF.
- d. Eksplan diambil menggunakan pinset steril, dimasukkan dalam media kultur yang sudah disiapkan
- e. Botol diberi label sesuai dengan tanggal, jenis eksplan, kode media, kemudian disimpan pada ruang inkubasi dengan temperatur 22-25°C.

7. MULTIPLIKASI EKSPLAN JATI PRIMA

- a. Setelah 1-2 bulan, eksplan yang sudah tumbuh tunas baru kemudian dimultiplikasi ke media yang sudah disiapkan.
- b. Botol diberi label sesuai dengan tanggal, jenis eksplan, kode media, kemudian disimpan pada ruang inkubasi dengan temperatur 22-25°C.

8. AKLIMATISASI PLANLET JATI PRIMA

- a. Planlet atau tanaman yang sudah lengkap dikeluarkan dalam ruang inkubasi dan dibiarkan selama satu

minggu untuk masa penyesuaian kondisi lingkungan pada perubahan cuaca dari ruang tertutup menjadi keruangan terbuka.

- b. Setelah itu, rendam planlet dengan fungisida dan bakterisida kurang lebih selama 5 menit. kemudian planlet siap ditanam didalam baki. Media yang digunakan pada proses aklimatisasi yaitu terdiri dari kompos dan top soil dengan perbandingan 2 : 1 yang telah di kukus kurang lebih selama 1 jam dengan ketebalan 7 cm.
- c. Lalu baki yang sudah terisi tanaman kemudian disungkup menggunakan plastik transparan.
- d. Setelah satu minggu tanaman bisa disemprot dengan pupuk cair atonik dan vitamin B₁ dengan takaran 2 ml/L air yang dilakukan sebanyak 2 kali seminggu.

G. KULTUR JARINGAN GAHARU

Agar pohon gaharu tidak punah dan pemanfaatannya terus berkembang maka perlu adanya konservasi, baik *insitu* (di dalam habitat) maupun *exsitu* (di luar habitat) dan budidaya, serta rekayasa untuk mempercepat produksi gaharu dengan teknologi perbanyakan bibit secara *in-vitro* yang perlu dilakukan mengingat melalui teknologi ini akan dihasilkan bibit yang unggul yang memiliki sifat-sifat sama dengan induknya, dihasilkan bibit dalam jumlah yang banyak, tidak memerlukan tempat yang luas, memerlukan waktu yang singkat, dan tidak tergantung pada musim.

1. PERSIAPAN ALAT DAN BAHAN KULTUR JARINGAN EKSPLAN GAHARU

Alat -alat yang digunakan adalah botol kultur, erlenmeyer, labu ukur, pipet, gelas piala, autoklaf, cawan petridish, gelas ukur, alumunium foil, pH meter, gunting, pisau skalpel, pinset, LAF. Bahan yang digunakan pada proses kultur jaringan adalah bahan kimia, kapas, alkohol 70%, sukrosa, hormon tambahan (jika ada), spiritus, klorok, air steril, bakterisida, dan fungisida.

2. PROSEDUR PEMBUATAN MEDIA TANAM EKSPLAN GAHARU

Untuk formula media tanam dan bahan fresh yang langsung ditimbang pada media eksplan gaharu dapat dilihat dilampiran pada tabel 11 dan 12. Adapun prosedur pembuatan media tanam untuk eksplan gaharu yaitu:

3. PROSEDUR PEMBUATAN MEDIA TANAM EKSPLAN GAHARU

- a. Siapkan alat dan bahan yang sudah disterilkan.
- b. Timbang semua bahan yang akan digunakan.
- c. Larutkan satu persatu hingga homogen kemudian dicampurkan kedalam satu wadah sesuai dengan jumlah media yang akan dibuat.
- d. Sebelum media dimasak, letakkan media di atas stirrer plate dan ukur pH media menggunakan pH meter.
- e. Setelah itu, media dimasak sambil diaduk hingga mendidih. Kemudian tambahkan agar-agar sedikit demi

sedikit hingga larut.

- f. Setelah selesai, tuang media ke dalam jar yang sudah disiapkan.
- g. Tutup jar menggunakan plastik roll yang sudah di potong dan direkatkan menggunakan karet.
- h. Kemudian dimasukkan kedalam autoklaf selama 15 menit dengan suhu 121°C.

4. PENGAMBILAN EKSPLAN GAHARU

- a. Sebelum pengambilan eksplan, seleksi induk yang akan diambil eksplannya (usahakan memilih induk yang sehat atau terhindar dari penyakit).
- b. Ambil bagian eksplan (pucuk, bonggol, tunas, daun, atau buah) sesuai yang diperlukan.

5. INISIASI EKSPLAN GAHARU

- a. Pengambilan eksplan dari induknya.
- b. Eksplan dikecilkan sesuai dengan ukuran yang diinginkan.
- c. Eksplan dibawa ke laboratorium kultur jaringan.
- d. Eksplan dicuci bersih dengan air yang mengalir.
- e. Eksplan dibaluri dengan bakterisida dan fungisida lalu dibungkus dengan aluminium foil.
- f. Diamkan selama semalam.
- g. Setelah didiamkan, eksplan dicuci dengan air mengalir sampai bersih.
- h. Eksplan dikecilkan kemudian direndam dengan

fungisida 2 g, bakterisida 2 g dan ditambah tween 10 tetes.

- i. Kocok sebentar lalu diamkan selama 60 menit.
- j. Cuci eksplan 3x dengan aquades (sampai bersih).
- k. Eksplan dibawa ke Laminar Air flow.
- l. Eksplan direndam dengan cairan klorok 20% selama 20 menit.
- m. Cuci eksplan sebanyak 3x (sampai bersih) dengan aquades.
- n. Rendam eksplan dengan cairan klorok 10% selama 10 menit. Lalu bilas eksplan sebanyak 3x.
- o. Setelah itu, potong bagian eksplan yang terkena cairan klorok.
- p. Kemudian tanam dimedia yang disediakan (dalam keadaan steril).

6. INOKULASI EKSPLAN GAHARU

- a. Laminar Air Flow disemprot menggunakan alkohol 70% lalu diusapkan dengan kapas.
- b. Kemudian lampu Ultra Violet selama 30-60 menit.
- c. Hidupkan blower, lalu alat-alat tanam yang sudah disiapkan disemprot alkohol 70% kemudian dimasukkan dalam Laminar Air Flow.
- d. Eksplan diambil menggunakan pinset steril, dimasukkan dalam media kultur yang sudah disiapkan.
- e. Botol diberi label sesuai dengan tanggal, jenis eksplan, kode media, kemudian disimpan pada ruang inkubasi dengan temperatur 22-25°C.

7. PERAKARAN EKSPLAN GAHARU

Induksi perakaran adalah tahapan dimana tunas-tunas yang dihasilkan pada tahap multiplikasi tunas ditumbuhkan dimedia yang mengandung Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) sehingga dapat merangsang pertumbuhan akar. Induksi perakaran dapat dilakukan secara *in vitro* maupun *ex vitro*. Adapun komposisi dalam pembuatan media perakaran pada tanaman gaharu dapat dilihat dilampiran pada tabel 13 dan 14.

8. MULTIPLIKASI EKSPLAN GAHARU

- a. Setelah 1-2 bulan, eksplan yang sudah tumbuh tunas baru kemudian dimultiplikasi ke media yang sudah disiapkan.
- b. Botol diberi label sesuai dengan tanggal, jenis eksplan, kode media, kemudian disimpan pada ruang inkubasi dengan temperatur 22-25°C.

9. AKLIMATISASI PLANLET GAHARU

- a. Planlet atau tanaman yang sudah lengkap dikeluarkan dalam ruang inkubasi dan dibiarkan selama satu minggu untuk masa penyesuaian kondisi lingkungan pada perubahan cuaca dari ruang tertutup menjadi keruangan terbuka.
- b. Setelah itu, rendam planlet dengan fungisida dan bakterisida kurang lebih selama 5 menit. kemudian planlet siap ditanam didalam baki. Media yang digunakan pada proses aklimatisasi yaitu terdiri dari kompos dan top soil dengan perbandingan 2 : 1 yang telah di kukus

- kurang lebih selama 1 jam dengan ketebalan 7 cm.
- c. Lalu baki yang sudah terisi tanaman kemudian disungkup menggunakan plastik transparan.
 - d. Setelah satu minggu tanaman bisa disemprot dengan pupuk cair atonik dan vitamin B₁ dengan takaran 2 ml/L air yang dilakukan sebanyak 2 kali seminggu.

H. KULTUR JARINGAN JATI PUTIH (*Gmelina arborea* Roxb.)

Gmelina merupakan tanaman fast growing yang memiliki nilai ekonomis cukup tinggi dan sangat bermanfaat sebagai tanaman obat. Berbeda dengan pohon jati prima, *gmelina* ini memiliki warna kayu yang putih kekuning-kuningan dengan kulit berserat halus dan berwarna abu-abu. Bagian daun, kulit batang dan akar dari pohon jati putih bisa dimanfaatkan untuk kesehatan tubuh, seperti ekstrak daun yang dapat dimanfaatkan sebagai meringankan sakit kepala, desinfektan untuk membersihkan atau mencuci bisul, akarnya mengandung senyawa yang berfungsi sebagai obat pencahar dan obat cacing, dan bagian bunganya untuk mengobati penyakit kusta. Tanaman jati putih yang sudah masuk ke Indonesia mulai tahun 1500 an ini belum banyak dibudidaya seperti jati tectona, namun memiliki potensi yang besar karena kebutuhan kayu di Indonesia untuk berbagai keperluan industri masih sangat besar. Oleh karena itu, teknologi kultur jaringan dapat digunakan untuk mendorong kecepatan dan kualitas pertumbuhan yang akan menjadi peluang memenuhi kebutuhan kayu ini.

1. PERSIAPAN ALAT DAN BAHAN KULTUR JARINGAN EKSPLAN JATI PUTIH

Alat -alat yang digunakan adalah botol kultur, erlenmeyer, labu ukur, pipet, gelas piala, autoklaf, cawan petridish, gelas ukur, alumunium foil, pH meter, gunting, pisau skalpel, pinset, LAF. Bahan yang digunakan pada proses kultur jaringan adalah bahan kimia, kapas, alkohol 70% dan 95%, sukrosa, hormon tambahan (jika ada), spirtus, klorok, air steril, bakterisida, dan fungisida.

2. PEMBUATAN MEDIA EKSPLAN JATI PUTIH

Tahap inisiasi adalah pengambilan eksplan dari bagian tanaman yang akan dikulturkan. Biasanya, bagian eksplan yang diambil berupa tunas, daun, cabang, batang, akar, embrio, kotiledon, hipokotil, dan epikotil sebagai eksplan. Pada tahap ini sangat penting untuk menentukan keberhasilan penanaman. Untuk formula media tanam dan bahan fresh yang langsung ditimbang pada media eksplan gaharu dapat dilihat dilampiran pada tabel 15 dan 16. Adapun prosedur pembuatan media tanam untuk eksplan gaharu yaitu:

3. PROSEDUR PEMBUATAN MEDIA TANAM EKSPLAN JATI PUTIH

- a. Siapkan alat dan bahan yang sudah disterilkan.
- b. Timbang semua bahan yang akan digunakan.
- c. Larutkan satu persatu hingga homogen kemudian dicampurkan kedalam satu wadah sesuai dengan

jumlah media yang akan dibuat.

- d. Sebelum media dimasak, letakkan media di atas stirrer plate dan ukur pH media menggunakan pH meter.
- e. Setelah itu, media dimasak sambil diaduk hingga mendidih. Kemudian tambahkan agar-agar sedikit demi sedikit hingga larut.
- f. Setelah selesai, tuang media ke dalam jar yang sudah disiapkan.
- g. Tutup jar menggunakan plastik roll yang sudah di potong dan direkatkan menggunakan karet.
- h. Kemudian dimasukkan kedalam autoklaf selama 15 menit dengan suhu 121°C.

4. PENGAMBILAN EKSPLAN JATI PUTIH

- a. Sebelum pengambilan eksplan, seleksi induk yang akan diambil eksplannya (usahakan memilih induk yang sehat atau terhindar dari penyakit).
- b. Ambil bagian eksplan (pucuk, bonggol, tunas, daun, atau buah) sesuai yang diperlukan.

5. INISIASI EKSPLAN JATI PUTIH

- a. Pengambilan eksplan dari induknya.
- b. Eksplan dikecilkan sesuai dengan ukuran yang diinginkan.
- c. Eksplan dibawa ke laboratorium kultur jaringan.
- d. Eksplan dicuci bersih dengan air yang mengalir.
- e. Eksplan dibaluri dengan bakterisida dan fungisida lalu

- dibungkus dengan aluminium foil.
- f. Diamkan selama semalam.
 - g. Setelah didiamkan, eksplan dicuci dengan air mengalir sampai bersih.
 - h. Eksplan dicekikan kemudian direndam dengan fungisida 2 g, bakterisida 2 g dan ditambah tween 10 tetes.
 - i. Kocok sebentar lalu diamkan selama 60 menit.
 - j. Cuci eksplan 3x dengan aquades (sampai bersih).

6. INOKULASI EKSPLAN JATI PUTIH

- a. Laminar Air Flow disemprot menggunakan alkohol 70% lalu diusapkan dengan kapas.
- b. Kemudian lampu Ultra Violet selama 30-60 menit.
- c. Hidupkan blower, lalu alat-alat tanam yang sudah disiapkan disemprot alkohol 70% kemudian dimasukkan dalam Laminar Air Flow.
- d. Eksplan diambil menggunakan pinset steril, dimasukkan dalam media kultur yang sudah disiapkan.
- e. Botol diberi label sesuai dengan tanggal, jenis eksplan, kode media, kemudian disimpan pada ruang inkubasi dengan temperatur 22-25°C.

7. MULTIPLIKASI EKSPLAN JATI PUTIH

- a. Setelah 1-2 bulan, eksplan yang sudah tumbuh tunas baru kemudian dimultiplikasi ke media yang sudah disiapkan.

- b. Botol diberi label sesuai dengan tanggal, jenis eksplan, kode media, kemudian disimpan pada ruang inkubasi dengan temperatur 22-25°C.

8. AKLIMATISASI PLANLET JATI PUTIH

- a. Planlet atau tanaman yang sudah lengkap dikeluarkan dalam ruang inkubasi dan dibiarkan selama satu minggu untuk masa penyesuaian kondisi lingkungan pada perubahan cuaca dari ruang tertutup menjadi keruangan terbuka.
- b. Setelah itu, rendam planlet dengan fungisida dan bakterisida kurang lebih selama 5 menit. kemudian planlet siap ditanam di dalam baki. Media yang digunakan pada proses aklimatisasi yaitu terdiri dari kompos dan top soil dengan perbandingan 2 : 1 yang telah di kukus kurang lebih selama 1 jam dengan ketebalan 7 cm.
- c. Lalu baki yang sudah terisi tanaman kemudian disungkup menggunakan plastik transparan.
- d. Setelah satu minggu tanaman bisa disemprot dengan pupuk cair atonik dan vitamin B₁ dengan takaran 2 ml/L air yang dilakukan sebanyak 2 kali seminggu.

I. KULTUR JARINGAN KENTANG

Perbanyak kentang dengan kultur jaringan dilakukan untuk memproduksi bibit kentang yang berkualitas, bebas penyakit dalam jumlah yang banyak dengan waktu yang singkat. Kentang merupakan salah satu jenis tanaman yang telah lama diperbanyak dengan teknik kultur jaringan secara komersial. Kekurangan produksi umbi bibit di lapangan adalah kemungkinan adanya infeksi patogen dan virus. Oleh karena itu, teknik perbanyak ini digunakan untuk memproduksi planlet kentang umbi kentang yang dapat digunakan langsung sebagai bibit di lapangan atau untuk memproduksi umbi bibit yang digunakan untuk penanaman kentang.

1. PERSIAPAN ALAT DAN BAHAN KULTUR JARINGAN EKSPLAN KENTANG

Alat-alat yang digunakan adalah botol kultur, erlenmeyer, labu ukur, pipet, gelas piala, autoklaf, cawan petridish, gelas ukur, aluminium foil, pH meter, gunting, pisau skalpel, pinset, Laminar Air Flow. Bahan yang digunakan pada proses kultur jaringan adalah bahan kimia, kapas, alkohol 70%, sukrosa, hormon tambahan (jika ada), spirtus, klorok, air steril, bakterisida, dan fungisida.

2. PEMBUATAN MEDIA EKSPLAN KENTANG

Untuk formula media tanam dan bahan fresh yang langsung ditimbang pada media eksplan kentang dapat dilihat dilampiran pada tabel 17 dan 18. Adapun prosedur pembuatan media tanam untuk eksplan kentang yaitu:

3. PROSEDUR PEMBUATAN MEDIA TANAM EKSPLAN KENTANG

- a. Siapkan alat dan bahan yang sudah disterilkan.
- b. Timbang semua bahan yang akan digunakan.
- c. Larutkan satu persatu hingga homogen kemudian dicampurkan kedalam satu wadah sesuai dengan jumlah media yang akan dibuat.
- d. Sebelum media dimasak, letakkan media di atas stirrer plate dan ukur pH media menggunakan pH meter hingga 5,8.
- e. Setelah itu, media dimasak sambil diaduk hingga mendidih. Kemudian tambahkan agar-agar sedikit demi sedikit hingga larut.
- f. Setelah selesai, tuang media ke dalam jar yang sudah disiapkan.
- g. Tutup jar menggunakan plastik roll yang sudah di potong dan direkatkan menggunakan karet.
- h. Kemudian dimasukkan kedalam autoklaf selama 15 menit dengan suhu 121°C.

4. PENGAMBILAN EKSPLAN KENTANG

- a. Sebelum pengambilan eksplan, seleksi induk yang akan diambil eksplannya (usahakan memilih induk yang sehat atau terhindar dari penyakit).
- b. Ambil bagian eksplan (pucuk, bonggol, tunas, daun, atau buah) sesuai yang diperlukan.

5. INISIASI EKSPLAN KENTANG

- a. Pengambilan eksplan dari induknya.
- b. Eksplan dikecilkan sesuai dengan ukuran yang diinginkan.
- c. Eksplan dibawa ke laboratorium kultur jaringan.
- d. Eksplan dicuci bersih dengan air yang mengalir.
- e. Eksplan dibaluri dengan bakterisida dan fungisida lalu dibungkus dengan aluminium foil.
- f. Diamkan selama semalam.
- g. Setelah didiamkan, eksplan dicuci dengan air mengalir sampai bersih.
- h. Eksplan dikecilkan kemudian direndam dengan fungisida 2g, bakterisida 2g dan ditambah tween 10 tetes.
- i. Kocok sebentar lalu diamkan selama 60 menit.
- j. Cuci eksplan 3x dengan aquades (sampai bersih).
- k. Eksplan dibawa ke Laminar Air flow.
- l. Eksplan direndam dengan cairan klorok 20% selama 20 menit.
- m. Cuci eksplan sebanyak 3x (sampai bersih) dengan aquades.
- n. Rendam eksplan dengan cairan klorok 10% selama 10 menit. Lalu bilas eksplan sebanyak 3x dengan aquades.
- o. Setelah itu, potong bagian eksplan yang terkena cairan klorok dan kurangi satu pelepahnya.
- p. Kemudian tanam dimedia yang disediakan (dalam keadaan steril).

6. INOKULASI EKSPLAN KENTANG

- a. Laminar Air Flow disemprot menggunakan alkohol 70% lalu diusapkan dengan kapas.
- b. Kemudian lampu Ultra Violet selama 30-60 menit.
- c. Hidupkan blower, lalu alat-alat tanam yang sudah disiapkan disemprot alkohol 70% kemudian dimasukkan dalam Laminar Air Flow.
- d. Eksplan diambil menggunakan pinset steril, dimasukkan dalam media kultur yang sudah disiapkan.
- e. Botol diberi label sesuai dengan tanggal, jenis eksplan, kode media, kemudian disimpan pada ruang inkubasi dengan temperatur 22-25°C.

7. MULTIPLIKASI EKSPLAN KENTANG

- a. Setelah 1-2 bulan, eksplan yang sudah tumbuh tunas baru kemudian dimultiplikasi ke media yang sudah disiapkan.
- b. Botol diberi label sesuai dengan tanggal, jenis eksplan, kode media, kemudian disimpan pada ruang inkubasi dengan temperatur 22-25°C.

8. AKLIMATISASI PLANLET KENTANG

- a. Planlet atau tanaman yang sudah lengkap dikeluarkan dari ruang inkubasi dan dibiarkan selama satu minggu untuk masa penyesuaian kondisi lingkungan pada perubahan cuaca dari ruang tertutup menjadi keruangan terbuka.
- b. Setelah itu, bersihkan planlet dari media agar hingga

bersih, rendam planlet dengan fungisida dan bakterisida dengan takaran 2g/l kurang lebih selama 5 menit, kemudian planlet siap ditanam ke dalam baki. Media yang digunakan pada proses pemindahan dari botol ke baki menggunakan media kompos dan top soil dengan perbandingan 2 : 1.

- c. Lalu baki yang sudah terisi tanaman kemudian disungkup menggunakan plastik transparan.
- d. Setelah satu minggu tanaman bisa disemprot dengan pupuk cair atonik dan vitamin B₁ dengan takaran 2 ml/L air yang dilakukan sebanyak 2 kali seminggu.

J. KULTUR JARINGAN AGLONEMA

Aglonema merupakan jenis tanaman hias yang memiliki daya tarik pada daunnya yang indah. Agalaonema termasuk tanaman yang lambat dalam pertumbuhannya. Dengan kultur jaringan, tanaman *Aglonema sp.* memperoleh bibit dalam keadaan seragam melalui induksi embrio genesis somatik. Pada embrio genesis somatik, induksi kalus merupakan faktor penentu keberhasilan untuk memperbanyak tanaman. Semakin banyak kalus yang dibentuk maka semakin tinggi peluang memperoleh bibit dalam jumlah yang banyak.

1. PERSIAPAN ALAT DAN BAHAN KULTUR JARINGAN EKSPLAN AGLONEMA

Alat -alat yang digunakan adalah botol kultur, erlenmeyer, labu ukur, pipet, gelas piala, autoklaf, cawan petridish, gelas ukur, alumunium foil, pH meter, gunting, pisau skalpel, pinset, LAF. Bahan yang digunakan pada proses kultur jaringan adalah bahan kimia, kapas, alkohol 70%, sukrosa, hormon tambahan (jika ada), spirtus, klorok, air steril, bakterisida, dan fungisida.

2. PEMBUATAN MEDIA EKSPLAN AGALONEMA

Untuk formula media tanam dan bahan fresh yang langsung ditimbang pada media eksplan aglonema dapat dilihat dilampiran pada tabel 19 dan 20. Adapun prosedur pembuatan media tanam untuk eksplan aglonema yaitu:

3. PROSEDUR PEMBUATAN MEDIA TANAM EKSPLAN AGALONEMA

- a. Siapkan alat dan bahan yang sudah disterilkan.
- b. Timbang semua bahan yang akan digunakan.
- c. Larutkan satu persatu hingga homogen kemudian dicampurkan kedalam satu wadah sesuai dengan jumlah media yang akan dibuat.
- d. Sebelum media dimasak, letakkan media di atas stirrer plate dan ukur pH media menggunakan pH meter hingga 5,8.
- e. Setelah itu, media dimasak sambil diaduk hingga mendidih. Kemudian tambahkan agar-agar sedikit demi sedikit hingga larut.
- f. Setelah selesai, tuang media ke dalam jar yang sudah disiapkan.
- g. Tutup jar menggunakan plastik roll yang sudah di potong dan direkatkan menggunakan karet.
- h. Kemudian dimasukkan kedalam autoklaf selama 15 menit dengan suhu 121°C.

4. PENGAMBILAN EKSPLAN AGLONEMA

- a. Sebelum pengambilan eksplan, seleksi induk yang akan diambil eksplannya (usahakan memilih induk yang sehat atau terhindar dari penyakit).
- b. Ambil bagian eksplan (pucuk, bonggol, tunas, daun, atau buah) sesuai yang diperlukan.

5. INISIASI EKSPLAN AGLONEMA

- a. Pengambilan eksplan dari induknya.
- b. Eksplan dikecilkan sesuai dengan ukuran yang diinginkan.
- c. Eksplan dibawa ke laboratorium kultur jaringan.
- d. Eksplan dicuci bersih dengan air yang mengalir.
- e. Eksplan dibaluri dengan bakterisida dan fungisida lalu dibungkus dengan aluminium foil.
- f. Diamkan selama semalam.
- g. Setelah didiamkan, eksplan dicuci dengan air mengalir sampai bersih.
- h. Eksplan dikecilkan kemudian direndam dengan fungisida 2g, bakterisida 2g dan ditambah tween 10 tetes.
- i. Kocok sebentar lalu diamkan selama 60 menit.
- j. Cuci eksplan 3x dengan aquades (sampai bersih).
- k. Eksplan dibawa ke Laminar Air flow.
- l. Eksplan direndam dengan cairan klorok 20% selama 20 menit.
- m. Cuci eksplan sebanyak 3x (sampai bersih) dengan aquades.
- n. Rendam eksplan dengan cairan klorok 10% selama 10 menit. Lalu bilas eksplan sebanyak 3x
- o. Setelah itu, potong bagian eksplan yang terkena cairan klorok.

- p. Kemudian tanam di media yang disediakan (dalam keadaan steril).

6. INOKULASI EKSPAN AGLONEMA

- a. Laminar Air Flow disemprot menggunakan alkohol 70% lalu diusapkan dengan kapas.
- b. Kemudian lampu Ultra Violet selama 30-60 menit.
- c. Hidupkan blower, lalu alat-alat tanam yang sudah disiapkan disemprot alkohol 70% kemudian dimasukkan dalam Laminar Air Flow.
- d. Eksplan diambil menggunakan pinset steril, dimasukkan dalam media kultur yang sudah disiapkan.
- e. Botol diberi label sesuai dengan tanggal, jenis eksplan, kode media, kemudian disimpan pada ruang inkubasi dengan temperatur 22-25°C.

7. MULTIPLIKASI EKSPAN AGLONEMA

- a. Setelah 1-2 bulan, eksplan yang sudah tumbuh tunas baru kemudian dimultiplikasi ke media yang sudah disiapkan.
- b. Botol diberi label sesuai dengan tanggal, jenis eksplan, kode media, kemudian disimpan pada ruang inkubasi dengan temperatur 22-25°C.

8. AKLIMATISASI PLANLET AGLONEMA

- a. Planlet atau tanaman yang sudah lengkap dikeluarkan dari ruang inkubasi dan dibiarkan selama satu minggu untuk masa penyesuaian kondisi lingkungan pada

perubahan cuaca dari ruang tertutup menjadi keruangan terbuka.

- b. Setelah itu, bersihkan planlet dari media agar hingga bersih, rendam planlet dengan fungisida dan bakterisida dengan takaran 2g/l kurang lebih selama 5 menit, kemudian planlet siap ditanam ke dalam baki. Media yang digunakan pada proses pemindahan dari botol ke baki menggunakan media kompos dan top soil dengan perbandingan 2 : 1.
- c. Lalu baki yang sudah terisi tanaman kemudian disungkup menggunakan plastik transparan.
- d. Setelah satu minggu tanaman bisa disemprot dengan pupuk cair atonik dan vitamin B₁ dengan takaran 2 ml/L air yang dilakukan sebanyak 2 kali seminggu.

LAMPIRAN

Tabel 1. Komponen media umum

Komponen media (mg/liter)	Jenis Media				
	MS	G5	W	VW	NN
Hara makro:					
Ca ₃ (PO ₄) ₂				200.0	
NH ₄ NO ₃	1650.0				720.0
KNO ₃	1900.0	2500.0	80.0	525.0	950.0
CaCl ₂ .2H ₂ O	440.0	150.0			166.0
MgSO ₄ .7H ₂ O	370.0	250.0	720.0	250.0	185.0
KH ₂ PO ₄	170.0			250.0	68.0
(NH ₄) ₂ SO ₄		134.0		500.0	
NaH ₂ PO ₄ .H ₂ O		150.0	16.5		
CaNO ₃ .4H ₂ O			300.0		
Na ₂ SO ₄			200.0		
KCl			65.0		
K ₂ SO ₄					
Hara mikro:					
KI	0.83	0.75	0.75		

H3BO3	6.20	3.0	1.5		10.0
MnSO4.4H2O	22.30		7.0	0.75	25.0
MnSO4.H2O		10.0			
ZnSO4.7H2O	8.6	2.0	2.6		10.0
Na2MoO4.2H2O	0.25	0.25			0.25
CuSO4.5H2O	0.025	0.025			0.025
CoCl2.6H2O	0.025	0.025			
Co(NO3)2.6H2O					
Na2EDTA	37.3	37.3			37.3
FeSO4.7H2O	27.8	27.8			27.8
MnCl2					
Fe(C4H4O6) 3.2H2O				28.0	
Vitamin dan suplemen lainnya:					
Inositol	100.0	100.0			100.0
Glycine	2.0	2.0	3.0		2.0
Thiamine HCl	0.1	10.0	0.1		0.5

Pyridoxine HCl	0.5		0.1		0.5
Nicotinic acid	0.5		0.5		5.0
Ca panthothenate			1.0		
Cysteine HCl			1.0		
Riboflavin					
Biotin					0.05
Folic acid					0.5

Keterangan:

1. MS = Media Murashige & Skoog
2. G₅ = Media Gamborg B₅
3. NN = Media Nitsch & Nitsch
4. VW = Media Knudson dan media Vacin and Went
5. W = Media White

Tabel 2. Formula media inisiasi eksplan pisang

NO	KOMPONEN BAHAN	STOK g/l	PEMAKAIAN (ml)
1	NH_4NO_3	123,75	10
2	KNO_3	190	10
3	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	44	10
4	KH_2PO_4	17	10
5	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	37	10
6	$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	1,69	10
7	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,86	10
8	H_3BO_3	0,62	10
9	KI	0,083	10
10	$\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,025	10
11	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,0025	10
12	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0,0025	10
13	Na_2EDTA	3,7	10
14	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	2,7	10
15	Phyridoxine HCL	0,05	10
16	Thiamine HCL	0,01	10
17	Nicotinic	0,05	10
18	Glycine	0,2	10

Tabel 3. Bahan fresh yang ditimbang untuk media tanam eksplan pisang

NO	NAMA BAHAN	STOK
	BAP	0,5 mg/l
	ADENIN SULFAT	20 mg/l
	MYO-INOSITOL	0,1 g/l
	AGAR-AGAR	5,8 g/l
	GULA	30 g/l

Tabel 4. Formula media inisiasi eksplan angrek

NO	KOMPONEN BAHAN	STOK g/l	PEMAKAIAN ml/l
1	$\text{CO}_3(\text{PO}_4)_2$	20	10
2	KNO_3	52,5	10
3	KH_2PO_4	25	10
4	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	25	10
5	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	50	10
6	$\text{Fe}_2(\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6)$	2,8	10
7	$\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,63	10

Tabel 5. Bahan fresh yang ditimbang untuk media tanam eksplan anggrek

NO	NAMA BAHAN	STOK g/l
1	BAP	0,0015
2	NAA	0,0005
3	MYO-INOSITOL	0,1
4	AGAR-AGAR	6

Tabel 6. Bahan tambahan organik media tanam anggrek

NO	NAMA BAHAN	STOK
1	AIR KELAPA	150 ml/l
2	PISANG AMBON/CAVENDISH (MENTAH)	200 g/l

Tabel 7. Formula media perpanjangan eksplan porang (PI)

NO	NAMA BAHAN	STOKg/l	PEMAKAIAN (ml)
1	NH_4NO_3	165	10
2	KNO_3	190	10

3	CaCl ₂ .2H ₂ O	44	10
4	KH ₂ PO ₄	17	10
5	MgSO ₄ .7H ₂ O	37	10
6	MnSO ₄ .H ₂ O	23,3	10
7	ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,86	10
8	H ₃ BO ₃	0,62	10
9	KI	0,083	10
10	NaMoO ₄ .2H ₂ O	0,025	10
11	COCl ₂ .6H ₂ O	0,0025	10
12	CUSO ₄ .5H ₂ O	0,0025	10
13	Na ₂ EDTA	3,73	10
14	FeSO ₄ .7H ₂ O	2,78	10
15	Phyridoxine HCL	0,05	10
16	Thiamine HCL	0,01	10
17	Nicotinic	0,05	10
18	Glycine	0,2	10

Tabel 8. Bahan fresh yang ditimbang untuk media perpanjangan eksplan porang (P1)

NO	NAMA BAHAN	STOK
1	BAP	0,5 ml
2	NAA	1 ml
3	MYO-INOSITOL	0,1 g
4	ADENIN SULFAT	0,02 g
5	GULA	30 g
6	AGAR-AGAR	5,8 g

Tabel 9. Formula media inisiasi pada eksplan porang (P2)

NO	NAMA BAHAN	STOK g/l	PEMAKAIAN (ml)
1	NH_4NO_3	165	10
2	KNO_3	190	10
3	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	44	10
4	KH_2PO_4	17	10
5	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	37	10
6	$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	23,3	10
7	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,86	10
8	H_3BO_3	0,62	10
9	KI	0,083	10
10	$\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,025	10
11	$\text{COCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,0025	10
12	$\text{CUSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0,0025	10
13	Na_2EDTA	3,73	10
14	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	2,78	10
15	Phyridoxine HCL	0,05	10
16	Thiamine HCL	0,01	10
17	Nicotinic	0,05	10
18	Glycine	0,2	10

Tabel 10. Bahan fresh yang langsung ditimbang pada media inisiasi eksplan porang (P2)

NO	NAMA BAHAN	STOK g/l
1	BAP	1
2	NAA	0,5
3	MYO-INOSITOL	0,1
4	ADENIN SULFAT	0,02
5	GULA	30
6	AGAR-AGAR	5,8

Tabel 11. Formula media pengakaran dan tunas eksplan porang (P3)

NO	NAMA BAHAN	STOK g/l	PEMAKAIAN (ml)
1	NH_4NO_3	165	10
2	KNO_3	190	10
3	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	44	10
4	KH_2PO_4	17	10
5	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	37	10
6	$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	23,3	10
7	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,86	10
8	H_3BO_3	0,62	10
9	KI	0,083	10
10	$\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,025	10
11	$\text{COCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,0025	10
12	$\text{CUSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0,0025	10
13	Na_2EDTA	3,73	10

14	FeSO ₄ .7H ₂ O	2,78	10
15	Phyridoxine HCL	0,05	10
16	Thiamine HCL	0,01	10
17	Nicotinic	0,05	10
18	Glycine	0,2	10

Tabel 12. Bahan fresh yang ditimbang untuk media pengakaran dan tunas eksplan porang (P3)

NO	NAMA BAHAN	STOK
	ARANG AKTIF	1 g
	MYO-INOSITOL	0,1 g
	ADENIN SULFAT	0,02 g
	GULA	30 g
	AGAR-AGAR	5,8 g

Tabel 13. Formula media inisiasi eksplan kelapa kopyor

NO	KOMPONEN BAHAN	STOK g/l	PEMAKAIAN ml/l
1	KNO ₃	20.20	100
2	KCL	14.92	
3	NH ₄ Cl	5.35	
4	MgSO ₄ .7H ₂ O	2.47	
5	CaCl ₂	2.22	
6	NaH ₂ PO ₄ .H ₂ O	3,12	

7	MnSO ₄ .7H ₂ O	0.849	0.1	
8	ZnSO ₄ 7H ₂ O	0.72		
9	H ₃ BO ₃	0.31		
10	KI	0.83		
11	CuSO ₄ .5H ₂ O	0.025		
12	NaMoO ₄ .2H ₂ O	0.024		
13	CoCl ₂ 6H ₂ O	0.024		
14	NiCl ₂ .6H ₂ O	0.0024		
15	FeSO ₄ 7H ₂ O	1.39		0,1
16	Na ₂ EDTA.2H ₂ O	3.73		

Tabel 14. Bahan fresh yang ditimbang untuk media tanam eksplan kelapa kopyor

NO	NAMA BAHAN	STOK g/l	PEMAKAIAN ml/l
1	Thiamine HCL	0,05	0,1
2	Nicotinic Acid	0,005	
3	Pyridoxine HCL	0,005	
4	Ca Pantothenate	0,005	
5	Biotin	0,005	
6	Agar-Agar	5,8	
7	Gula	45	
8	Arang aktif	2	

PEMBUATAN LARUTAN STOKMEDIA S1 “EXPLAN STAGE”

Bahan eksplan yang sudah disterilisasi kemudian diinokulasi ke media yang sudah disediakan. Media tersebut mempunyai komposisi nutrisi yang dapat mendukung pertumbuhan eksplan sesuai yang diinginkan. Kebutuhan nutrisi untuk pertumbuhan bahan tanam/eksplan yang optimal sangat bervariasi antar jenis tanaman. Komposisi pembuatan media S1 (inisiasi) dapat dilihat sebagai berikut:

Hara Makro Pembuatan 1 liter stok (H.MA 1)

1.	KNO_3	24 gr
2.	KH_2PO_4	14 gr
3.	NH_4NO_3	16 gr
4.	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	7,2 gr
5.	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	6 gr

Masing-masing dilarutkan dengan magnetik stirrer lalu dicampur dan ditambahkan air deminsampai 1 liter, stok disimpan di kulkas.

Hara Mikro Pembuatan 1 liter stok (H.MI 1)

1.	$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	18,94 gr
2.	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	10 gr
3.	H_3BO_3	10 gr
4.	KI	830 mg
5.	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	25 mg
6.	$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	250 mg
7.	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	2 mg

Masing-masing dilarutkan dengan magnetic stirrer lalu dicampur dan ditambahkan air demin sampai 1 liter. Stok dimasukkan kulkas.

Vitamin (VIT 1)

Pembuatan 1 liter stok

- | | | |
|----|-----------------|------|
| 1. | Ca Pantothenate | 1 gr |
| 2. | Thiamine HCL | 1 gr |
| 3. | Pyridoxin HCL | 1 gr |
| 4. | Nicotinic Acid | 1 gr |

Masing-masing dilarutkan dengan magnetic stirrer lalu dicampur dan ditambahkan air sampai 1 liter. Stok disimpan dikulkas.

Hormon

- 2,4D 20 mg

Dilarutkan dengan menambahkan NaOH sampai larut kemudianditambahkan air demin sampai 100 ml.

- 2,4,5 TCPP 20 ml

Dilarutkan dengan menambahkan NaOH sampai larut kemudian ditambahkan air demin sampai 100 ml.

PEMBUATAN LARUTAN STOK MEDIA S2 “CALLUS STAGE”

Diisolasi dari tanaman induknya, sel-sel pada eksplan yang tadinya dorman, dihadapkan pada kondisi stres. Kondisi ini akan mengubah pola metabolisme, sel akan memulai siklusnya yang baru, selanjutnya akan tumbuh dan berkembang di dalam kultur. Respon yang terlihat yaitu terbentuknya jaringan penutup luka, sel-selnya terus membelah, jika pembelahannya tidak terkendali akan membentuk massa sel yang tidak terorganisir atau disebut kalus. Media S2 merupakan media eksplan untuk menumbuhkan kalus pada kultur *in-vitro*. Berikut komposisi pembuatan media S2 pada eksplan kelapa sawit :

Hara Makro Pembuatan 1 liter (H.MA 2)

1. KNO_3 48 gr
2. KH_2PO_4 28 gr
3. NH_4NO_3 52 gr
4. $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 14,14 gr
5. $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 12 gr

Masing-masing dilarutkan dengan magnetic stirrer kemudian ditambahkan air demin sampai 1 liter. Stok disimpan di kulkas.

Hara Mikro Pembuatan 1 liter stok (H.MI 2)

1. $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 18,94 gr
2. $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 10 gr
3. H_3BO_3 10 gr
4. KI 830 mg
5. $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 25 mg
6. $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 250 mg
7. $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 25 mg

Masing-masing dilarutkan dengan magnetic stirrer kemudian ditambahkan air demin sampai 1 liter. Stok disimpan di kulkas.

Hormon

1. Biotin 2 mg
Dilartukan dengan H_2SO_4 dan ditambahkan air sampai 20 ml. Stok disimpan di kulkas.
2. BAP 10 mg
Dilartukan dengan H_2SO_4 dan ditambahkan air sampai 1 liter. Stok disimpan di kulkas.



PEMBUATAN MEDIA S1

10 LITER MEDIA

Dari larutan stok:

● H.MA.1	250ml
● H.MI.1	10 ml
● VIT.1	10 ml
● Fe.EDTA	10 ml
● 2,4D	10 ml
● 2,4,5 TCPP	10 ml

Timbang Segar

● Na Ascorbic	1 gr
● Myo inositol	1 gr
● Glukosa	300 gr
● Agar-agar teknis	75-80 gr

Semua dicampur jadi satu kemudian ditambahkan air demin sampai 10 liter.pH 4.5.

PEMBUATAN MEDIA S2

10 LITER MEDIA

Dari larutan stok:

● H.MA.2	250 ml
● H.MI.1	10 ml
● VIT.1	10 ml
● Fe.EDTA	10 ml
● Biotin	1 ml
● BAP	10 ml

Timbang Segar:

● Na.Ascorbic	1 gr
● 2.4D	0,5 gr
● Myo Inositol	1 gr
● Adenim Sulfat	300 mg
● Glukosa	200 gr
● Agar-agar teknis	80 gr
● Arang aktif	30 gr

Semua dicampur jadi satu kemudian ditambahkan air demin sampai 10 liter. pH 5. Setelah media di autoclaf lalu di vortex mixer supaya arang aktifnya tercampur rata.

PEMBUATAN MEDIA S3

Dalam pembuatan media S3 ini merupakan media lanjutan dari media S2 pada eksplan kelapa sawit untuk membentuk/ menumbuhkan tunas. Berikut komposisi pembuatan media S3 pada eksplan kelapa sawit :

10 LITER MEDIA

Dari Larutan Stok:

- H.MA.2 125 ml
- H.MI.1 5 ml
- Vit.1 5 ml
- Fe.EDTA 5 ml

Timbang Segar:

- Ascorbic Asid 0,5 ml
- Myo Inositol 0,5 ml
- Casein Hidrolisate 2,5 ml
- Sukrosa 150 gr
- Agar-agar teknis 40 gr

Semua dicampur jadi satu kemudian tambahkan air sampai 10 liter. pH.5

PEMBUATAN MEDIA S4

Media S4 adalah media lanjutan dari media S3 pada eksplan kelapa sawit untuk membentuk/menumbuhkan tunas apabila pada media S3 tidak ada perubahan. Berikut komposisi pembuatan media S4 pada eksplan kelapa sawit :

10 LITER MEDIA

Dari larutan stok

● H.MA.2	250 ml
● H.MI.1	10 ml
● VIT.1	10 ml
● Fe.EDTA	10 ml

Timbang Segar:

● Ascorbic Asid	1 gr
● Myo Inositol	1 gr
● Casein Hidrolisate	5 gr
● Sukrosa	300 gr
● Agar-agar teknis	80 gr

Semua dicampur jadi satu kemudian tambahkan air demin sampai 10 liter. pH.5.

PEMBUATAN MEDIA S5

Tunas atau planlet yang dihasilkan dari tahap sebelumnya umumnya masih sangat kecil atau belum dilengkapi dengan akar sehingga belum mampu untuk mendukung pertumbuhannya dalam kondisi *in-vivo*. Berikut komposisi pembuatan media S5 pada tanaman kelapa sawit untuk merangsang pertumbuhan akar :

10 LITER MEDIA

Dari larutan stok

● H.MA.2	250 ml
● H.MI.1	10 ml
● VIT.1	10 ml
● Fe.EDTA	10 ml

Timbang Segar.

● Ascorbic Asid	1 gr
● Myo Inositol	1 gr
● Casein Hidrolisate	5 gr
● Sukrosa	300 gr
● Naa	0,1 mg
● Agar-agar teknis	80 gr

Semua dicampur jadi satu kemudian tambahkan air demin sampai 10 liter. pH.5.

PEMBUATAN MEDIA S6

Tunas atau planlet yang dihasilkan dari tahap sebelumnya umumnya masih sangat kecil atau belum dilengkapi dengan akar sehingga belum mampu untuk mendukung pertumbuhannya dalam kondisi *in-vivo*. Media S6 digunakan sebagai media penumbuhan akar. Berikut komposisi pembuatan media S6 pada tanaman kelapa sawit:

1 LITER MEDIA

Hara Makro (Timbang Segar) Timbang Segar:

1.	KNO_3	1.9 gr
2.	KH_2PO_4	0.17 gr
3.	NH_4NO_3	1.65 gr
4.	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.44 gr
5.	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,37 gr
Dari stok :		
	H.MI.1	1 ml
	VIT.1	1 ml
	Fe.EDTA	1 ml

Timbang segar:

- Ascorbic Acid 100 mg
- Myo Inositol 100 mg
- Sukrosa 60 mg
- NAA 1 mg

Semua dicampur jadi satu kemudian tambahkan air demin sampai 1 liter. pH.5.

PEMBUATAN LARUTAN STOK Fe.EDTA (1 LITER)

- | | |
|----------------------|---------|
| 1. EDTA | 26.1 gr |
| 2. FeSO ₄ | 24.9 gr |

Cara Pembuatan:

1. Timbang EDTA
2. Larutkan dalam air bersih
3. Pada tahapan ini larutan akan sangat susah larut, untuk itu tambahkan KOH/NaOH sampai pH larutan 9, hal ini menyebabkan EDTA larut.
4. Timbang FeSO₄.7H₂O
5. Larutkan dalam air bersih
6. Campurkan larutan FeSO₄.7H₂O ke dalam larutan EDTA, tambahkan air steril sampai 1 liter
7. Larutan ini ditiup dengan angin (Aerasi) selama minimal 12 jam
8. Stok disimpan di kulkas (Warna merah darah)
9. pH 5.5 - 6.2

Larutan Gula

Timbang glukosa 30 gr untuk membuat larutan gula sebanyak 1 liter, dibuat dengan menambahkan glukosa kedalam air sedikit demi sedikit sambil diaduk dengan magnetic stirrer. Pindahkan kedalam botol/jar sesuai jumlah blok dengan takaran kira-kira dapat merendam keseluruhan explant dalam 1 blok. Di Autoclaf selama 15 menit.

Tabel 15. Formula media tanam pada eksplan jati prima

NO	KOMPONEN BAHAN	STOK g/l	KODE
1	NH_4NO_3	40	I ₁
2	K_2SO_4	99	
3	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	37	
4	KH_2PO_4	17	
5	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	55,6	
6	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	9,6	I ₂
7	$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	1,69	
8	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,86	I ₃
9	H_3BO_3	0,62	
10	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0,025	I ₄
11	$\text{Na}_2\text{Mo}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,025	
12	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	2,78	I ₅
13	$\text{Na}_2 \text{ EDTA}$	3,725	

Tabel 16. Bahan fresh yang langsung ditimbang pada media eksplan jati prima

NO	NAMA BAHAN	STOK g/l
1	Thiamine HCL	0,1
2	Nicotinic Acid	0,05
3	Pyridoxine HCL	0,05
4	Glycine	0,2
5	BAP	0,1
6	Agar-Agar	5,8

Tabel 17. Formulasi media tanam pada eksplan gaharu

NO	KOMPONEN BAHAN	DOSIS g/l	PEMAKAIAN (ml)
1	NH_4NO_3	61,88	20
2	KNO_3	95	20
3	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	22	20
4	KH_2PO_4	8,5	20
5	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	18,5	20
6	$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	5,83	20
7	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,22	20
8	H_3BO_3	0,155	20
9	KI	0,042	20
10	$\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,0063	20
11	$\text{COCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,00063	20
12	$\text{CUSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0,00063	20
13	Na_2EDTA	1,87	-
14	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1,39	
15	Phyridoxine HCL	0,025	
16	Thiamine HCL	0,001	
17	Nicotinic	0,025	
18	Glycine	0,1	
19	Ca pantothenate	0,2	
20	Biotin	0,002	

Tabel 18. Bahan fresh yang langsung ditimbang pada media eksplan gaharu

NO	NAMA BAHAN	STOK mg/l
1	BAP	0,5
2	NAA	0,1
3	MYO-INOSITOL	0,1
4	ADENIN SULFAT	0,02 g/l
5	GULA	30
6	AGAR-AGAR	5,8

Tabel 19. Formula media akar pada eksplan gaharu

NO	KOMPONEN BAHAN	STOK g/l	PEMAKAIAN (ml)
1	NH_4NO_3	61,88	20
2	KNO_3	95	20
3	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	22	20
4	KH_2PO_4	8,5	20
5	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	18,5	20
6	$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	3,38	10
7	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1,72	10
8	H_3BO_3	1,24	10
9	KI	0,166	10
10	$\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,050	10
11	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,005	10
12	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0,005	10
13	Na_2EDTA	1,87	10
14	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1,39	10
15	Phyridoxine HCL	0,025	10
16	Thiamine HCL	0,001	10
17	Nicotinic	0,025	10
18	Glycine	0,1	10

Untuk perakaran di ambil 25% dari media standar dengan pH 5,8

Tabel 20. Bahan fresh yang langsung ditimbang pada media akar eksplan gaharu

NO	NAMA BAHAN	STOK mg/l
2	NAA	0,1
3	MYO-INOSITOL	0,1
4	ADENIN SULFAT	0,02 g/l
5	GULA	20
6	AGAR-AGAR	5,8
7	IBA	5

Tabel 21. Formula media inisiasi pada eksplan jati putih

NO	KOMPONEN BAHAN	STOK g/l	PEMAKAIAN (ml)
1	NH_4NO_3	82,5	10
2	KNO_3	95	20
3	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	22	20
4	KH_2PO_4	8,5	20
5	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	18,5	20
6	$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	11,65	10
7	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,43	10
8	H_3BO_3	0,31	10
9	KI	0,042	10
10	$\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,0125	10
11	$\text{COCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,00125	10
12	$\text{CUSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0,00125	10
13	Na_2EDTA	1,87	10
14	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1,39	10
15	Phyridoxine HCL	0,025	10
16	Thiamine HCL	0,001	10
17	Nicotinic	0,025	10
18	Glycine	0,1	10

Tabel 22. Bahan fresh yang langsung ditimbang pada media inisiasi eksplan jati putih

NO	NAMA BAHAN	STOK g/l
1	BAP	0,5 ml/l
2	NAA	0,02 ppm
3	MYO-INOSITOL	0,1
4	ADENIN SULFAT	0,02 g/l
5	GULA	30
6	AGAR-AGAR	5,8

Tabel 23. Formula media multiplikasi pada eksplan jati putih

NO	KOMPONEN BAHAN	STOK g/l	PEMAKAIAN (ml)
1	NH_4NO_3	61,88	20
2	KNO_3	95	20
3	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	22	20
4	KH_2PO_4	8,5	20
5	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	18,5	20
6	$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	11,65	10
7	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,43	10
8	H_3BO_3	0,31	10
9	KI	0,042	10
10	$\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,0125	10
11	$\text{COCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,00125	10
12	$\text{CUSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0,00125	10
13	Na_2EDTA	1,87	10
14	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1,39	10

15	Phyridoxine HCL	0,025	10
16	Thiamine HCL	0,001	10
17	Nicotinic	0,025	10
18	Glycine	0,1	10

Tabel 24. Bahan fresh yang di timbang langsung pada media multiplikasi eksplan jati putih

NO	NAMA BAHAN	STOK g/l
1	BAP	0,4 ppm
2	NAA	0,02 ppm
3	MYO-INOSITOL	0,1
4	ADENIN SULFAT	0,02 g/l
5	GULA	30
6	AGAR-AGAR	5,8

Tabel 25. Formula media perakaran pada eksplan jati putih

NO	KOMPONEN BAHAN	STOK g/l	PEMAKAIAN (ml)
1	NH_4NO_3	61,88	20
2	KNO_3	95	20
3	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	22	20
4	KH_2PO_4	8,5	20
5	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	18,5	20
6	$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	11,65	10
7	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,43	10
8	H_3BO_3	0,31	10
9	KI	0,042	10

10	NaMoO ₄ .2H ₂ O	0,0125	10
11	COCl ₂ .6H ₂ O	0,00125	10
12	CUSO ₄ .5H ₂ O	0,00125	10
13	Na ₂ EDTA	1,87	10
14	FeSO ₄ .7H ₂ O	1,39	10
15	Phyridoxine HCL	0,025	10
16	Thiamine HCL	0,001	10
17	Nicotinic	0,025	10
18	Glycine	0,1	10

Tabel 26. Bahan fresh yang langsung ditimbang pada media akar eksplan jati putih

NO	NAMA BAHAN	STOK g/l
1	BAP	0,4 mg/l
2	NAA	0,2 ppm
3	MYO-INOSITOL	0,1
4	ADENIN SULFAT	0,02 g/l
5	GULA	30
6	AGAR-AGAR	5,8

Tabel 27. Formula media tanam pada eksplan kentang

NO	NAMA BAHAN	KODE	STOK g/l	PEMAKAIAN (ml)
1	NH ₄ NO ₃	A1	330	5
2	KNO ₃	A2	126,67	15
3	CaCl ₂ ·2H ₂ O	A3	88	5
4	KH ₂ PO ₄	A4	34	5
5	MgSO ₄ ·7H ₂ O	A5	74	5
6	MnSO ₄ ·H ₂ O		4,46	
7	ZnSO ₄ ·7H ₂ O		1,72	
8	H ₃ BO ₃		1,240	
9	KI	A6	0,166	5
10	NaMoO ₄ ·2H ₂ O		0,050	
11	COCl ₂ ·6H ₂ O		0,005	
12	CUSO ₄ ·5H ₂ O		0,005	
13	Na ₂ EDTA	A7	7,46	5
14	FeSO ₄ ·7H ₂ O		5,56	
15	Phyridoxine HCL		0,2	5
16	Thiamine HCL		0,2	5
17	Nicotinic		0,2	5
18	Glycine		0,4	5
19	Myo Inositol		2,0	5
20	BAP		0,1	5
21	Adenin Sulfat		4	5
22	Kinetin		0,1	5

Tabel 28. Bahan fresh yang langsung ditimbang pada eksplan kentang

NO	NAMA BAHAN	DOSIS
1	BAP	2 mg/l
3	MYO-INOSITOL	0,1g/l
5	GULA	30 g/l
6	AGAR-AGAR	5,5 g/l

Formula media eksplan kentang

Tabel 29. Formula media tanam pada eksplan aglonema

NO	NAMA BAHAN	KODE	STOK g/l	PEMAKAIAN (ml)
1	NH ₄ NO ₃	A1	330	5
2	KNO ₃	A2	126,67	15
3	CaCl ₂ .2H ₂ O	A3	88	5
4	KH ₂ PO ₄	A4	34	5
5	MgSO ₄ .7H ₂ O	A5	74	5
6	MnSO ₄ .H ₂ O		4,46	
7	ZnSO ₄ .7H ₂ O		1,72	
8	H ₃ BO ₃		1,240	
9	KI	A6	0,166	5
10	NaMoO ₄ .2H ₂ O		0,050	
11	COCl ₂ .6H ₂ O		0,005	
12	CUSO ₄ .5H ₂ O		0,005	
13	Na ₂ EDTA	A7	7,46	5
14	FeSO ₄ .7H ₂ O		5,56	
15	Phyridoxine HCL		0,2	5
16	Thiamine HCL		0,2	5
17	Nicotinic		0,2	5
18	Glycine		0,4	5
19	Myo Inositol		2,0	5
20	BAP		0,1	5
21	Adenin Sulfat		4	5
22	Kinetin		0,1	5

Tabel 30. Bahan fresh yang langsung ditimbang pada eksplan aglonema

NO	NAMA BAHAN	DOSIS
1	BAP	2 mg/l
3	MYO-INOSITOL	0,1g/l
5	GULA	30 g/l
6	AGAR-AGAR	5,5 g/l

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 1976. *Pedoman Praktikum Makrobiologi Umum*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Arditti, J. & Ernst, R, 1992, *Fundamentals of Orchid Biology*, John Wiley and Sons, New York Exegetic Limited. London.
- Fukomoto, J., T. Yamamoto, D. Tsuru and K. Tchikawa.1957. Effect of nitrogen source. Proceedings of the international symposium on enzyme chemistry. Tokyo and Kyoto, Pergamon Press. Los angeles: 479-482.
- Gamborg, O.L. dan J.P. Shyluk. 1981. *Nutrition, Media, and Characteristic of Plant Cell and Tissue Culture: Methode and Application in Agriculture*. New York: Academic Press, Inc.
- Gambrog, O. L., Miller, R. A. and Ojima, K. 1968. Nutrients requirements of suspension culture of soybean roots cells. *Exp. Cell Res.* 50: 150-158.
- Gemborg.O.L. et al. 1976. *Plant Tissue Culture Media*. In *Vitro* 12.
- George, E. F., and Sherrington, Ph.D. 1984. *Plant Propagation by Tissue Culture*.
- George, E.F. dan P.D. Sherrington. 1984. *Plant Propagation By Tissue Culture*. Exegetic Limited. England
- Gunawan, L. W., 1988. *Teknik Kultur Jaringan*. Bogor: Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman PAU Bioteknologi Bogor.

- Hawang, S.C, Chen C.L, Lin H.L., 1984. "Cultivation of banana using planlets from meristem culture". *HortScience* 19:231-233.
- Hendaryono, D. P. S. dan A. Wijayani. 1994. *Teknik Kultur Jaringan*. Yogyakarta: Kansius
- Klein, R.M. dan D.T. Klein. 1970. *Research Methods in Plant Science*. Garden City, New York: Natural History Press.
- Murashige, T & Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures, *Physiol. Plant*, vol. 15, no. 3, pp. 473-97.
- Pierik, R.L.M. 1987. *In vitro* culture of higher plants. Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht. 344p.
- Prameswari, M. A., Karno, dan S. Anwar. 2019. Efek BAP dan Konsentrasi Kinetin untuk induksi kalus Jati secara *in vitro*. *Journal Tropical Crop Science and Technology*. 1(2): 93-107. Fakultas Peternakan dan Pertanian. Universitas Diponegoro Semarang.
- Reynolds, J.F. dan T. Murashige. 1979. *Asexual Embryogenesis in Callus culture of Plams*. *In Vitro* 5.
- Saad AIM & Elshahed AM. 2012. Plant tissue culture media <http://creativecommons.org/licenses/by/3.0> (download 03/01/2015)
- Semiarti, E., Ari, Indrianto., Eko, A. S., Rizqie, L. N., Ratih, R. 2010. Mikropropagasi Tanaman Anggrek Hitam *Coelogyne pandurata* Lindl. Dengan Penyisipan Gen Penumbuh

Tunas Melalui Agrobacterium. Yogyakarta: Seminar Nasional Biologi 2010.

Untari, R & Puspitaningtyas, DM, 2006, Pengaruh Bahan Organik dan NAA terhadap Pertumbuhan Anggrek Hitam (*Coelogyne pandurata* Lindl.) dalam Kultur In Vitro, IPB, Bogor, Jurnal Biodiversitas, vol. 7, no. 3, hal. 344-348

Widarto, L. 1996. *Perbanyak Tanaman*. Yogyakarta: Kanisius.

Pierik RLM. 1987. *In vitro* culture of higher plants. Martinus Nijhoff, London.



A cluster of various tropical leaves, including Monstera and Philodendron, in shades of green and teal, arranged in a circular pattern.

KULTUR *Katalog* JARINGAN

PUPUK KALTIM

PUPUK  KALTIM

KANTOR PUSAT & PUSAT PRODUKSI
Jl. James Simandjuntak No. 1 Bontang
75313 Kalimantan Timur, Indonesia
Telepon : +62 548 41202, 41203
Fax : +62 548 41616, 41626