

#### 4. Sterilisasi dan Inisiasi eksplan

Alat dan bahan :

- ◆ Laminar Air Flow Cabinet  
Laminar ini berfungsi sebagai tempat aseptik karena aliran udara yang dihasilkan bebas dari partikel debu dan spora jamur. Alat ini dilengkapi dengan HEPA (high efficiency particulate air filter) dengan menggunakan blower.
- ◆ Botol selai, Cawan petri
- ◆ Alat potong 1 set (Pinset, scalpel, gunting dan pinset jarum)
- ◆ Kertas tissue
- ◆ Lampu Bunsen, Sprayer, methanol alcohol, dan Air steril
- ◆ Bahan sterilan (antibiotik, Clorox, iodine)

Langkah kerja di dalam laminar :

- ◆ Hidupkan laminar dan nyalakan lampu Bunsen.
- ◆ Siapkan media kultur, semprot dengan alkohol 70 % kemudian masukan ke dalam laminar
- ◆ Lakukan pembakaran alat potong dengan api Bunsen dan kemudian letakan dalam botol selai yang sudah diberi alkohol 96 %
- ◆ Sterilisasi eksplan dengan bahan sterilan
- ◆ Siapkan eksplan pada cawan petri, potong bagian yang terkena antibiotik
- ◆ Ambil eksplan dengan pinset kemudian masukan ke dalam botol kultur lalu tancapkan atau letakan pada media padat.
- ◆ Tutup botol dengan aluminium foil atau palstik tahan panas lalu kencangkan dengan karet gelang.
- ◆ Beri label botol kultur sesuai dengan nama tanaman dan tanggal penanaman.
- ◆ Letakkan di dalam rak inkubasi dengan penyinaran lampu fluorence 3000 lux selama 16 jam hidup 8 jam mati



#### 5. Subkultur

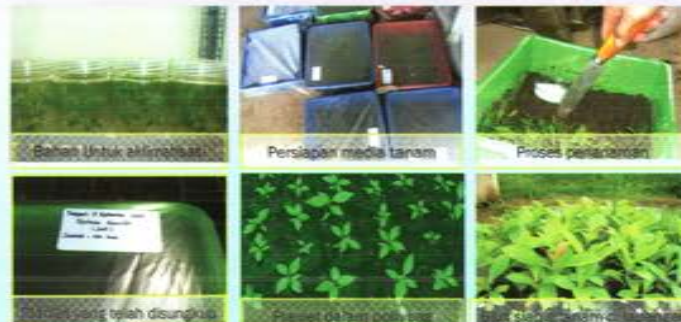
Subkultur merupakan proses pemindahan kultur yang telah diinisiasi ke media baru untuk memperbanyak eksplan. Subkultur dilakukan jika media sudah berwarna coklat atau eksplan telah memenuhi botol kultur. Waktu untuk melakukan subkultur berkisar antara tiga sampai enam minggu dari masa setelah tanam.



#### 6. Pengakaran, Hardening dan aklimatisasi

Tahap pengakaran menggunakan medium dengan penambahan zat pengatur tumbuh auksin (NAA/IBA). Setelah akar tumbuh, kultur dipindahkan ke ruang hardening untuk proses aklimatisasi. Hal ini dilakukan agar sebelum diaklimatisasi di lapangan kondisi planlet sudah kuat. Berikut adalah tahapan dari proses aklimatisasi :

- ◆ Keluarkan planlet dari botol lalu cuci pada air mengalir untuk menghilangkan agar-agar pada bekas media
- ◆ Setelah bersih rendam planlet dalam fungisida dan bakterisida selama 30 menit
- ◆ Siapkan media tanam berupa kompos dan pasir dengan perbandingan 1:1 yang telah dikukus selama 4 jam
- ◆ Siapkan bak plastik untuk media aklimasi lalu tanam planlet yang telah disterilisasi
- ◆ Tutup bak plastik dengan plastik transparan lalu letakan di bawah sungkup atau di rumah kaca. Usahakan temperatur dijaga pada suhu 25-28° C dengan kelembaban 70-80 %.
- ◆ Setelah 10-15 hari sungkup/plastik penutup dibuka.
- ◆ Setelah planlet menunjukkan pertumbuhan maka sudah siap dipindahkan ke media polybag.



## PEDOMAN

## PEMBUATAN BIBIT KULTUR JARINGAN



*"Bibit Berkualitas Awal Keberhasilan  
Pembangunan Kehutanan"*



Ministry of Environment and  
Forestry Indonesia



Rumpin Seed Sources and  
Nursery Center

Jl. Prada Samlawi No 1 Rumpin, Bogor  
Email : Secretaryrsrc@rocketmail.com

# 1. Pendahuluan

Kultur jaringan merupakan salah satu cara perbanyakan tanaman secara vegetatif dengan cara mengisolasi bagian tanaman seperti daun, mata tunas, serta menumbuhkan bagian-bagian tersebut dalam media buatan secara aseptik yang kaya nutrisi dan zat pengatur tumbuh dalam wadah tertutup tembus cahaya sehingga bagian tanaman dapat memperbanyak diri dan beregenerasi menjadi tanaman lengkap.

Metode kultur jaringan dikembangkan untuk membantu memperbanyak tanaman, khususnya tanaman yang sulit dikembangkan secara generatif. Bibit hasil dari kultur jaringan mempunyai beberapa keunggulan antara lain mempunyai sifat identik dengan induknya, dapat diperbanyak dalam jumlah besar dalam waktu singkat, mutu dan kesehatan bibit lebih terjamin, pertumbuhan bibit lebih cepat dibandingkan dengan perbanyakan konvensional

# II. Tujuan

Tujuan penggunaan metode Kultur Jaringan antara lain adalah untuk mendapatkan bibit sesuai dengan induknya atau True of type dalam waktu singkat dan untuk memperbanyak bibit tanaman yang sulit di kembangkan dengan biji.

# III. Metodologi

## 1 Pembuatan larutan media

Dilakukan dengan mencampurkan garam makro, garam mikro, vitamin, dan zat pengatur tumbuh dengan konsentrasi sebagai berikut :

Bahan kimia	Volume media (ml/liter)	Bahan kimia	Volume media (ml/liter)
<b>Garam makro :</b>		<b>Garam mikro :</b>	
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	10	KI	5
KNO <sub>3</sub>	10	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	5
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	10	MnSO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O	5
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	10	ZnSO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	5
CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	10	Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	5
<b>Vitamin :</b>		CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	5
Glycine	5	CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	5
Pyridoxin HCl	5	<b>Hormon :</b>	
Thiamin HCL	5	BAP	0.1-5
Myo inositol	5	Kinetin	0.1-10
Fe na EDTA	5		

## 2. Pembuatan media tanam

Peralatan yang digunakan dalam kultur jaringan antara lain yaitu :

- ◆ Gelas ukur/labu takar
- ◆ Botol selai
- ◆ Autoklaf
- ◆ Kertas pH /pH electric
- ◆ Pipet kapiler
- ◆ Aluminium foil/plastic tahan panas serta karet gelang

Media yang digunakan secara umum adalah Murashie & Skoog (MS). Langkah-langkah dalam pembuatan media adalah sebagai berikut :

- ◆ Cuci botol sampai bersih dengan detergen
- ◆ Timbang bahan sesuai konsentrasi dan gula sebanyak 30 gr dan agar sebanyak 8 gram
- ◆ Pipet stok media MS dan vitamin serta stok zat pengatur tumbuh (ZPT) sesuai tabel lalu masukan ke dalam gelas ukur
- ◆ Masukkan gula ke dalam gelas ukur lalu putar dengan magnetic stirrer atau juga bisa diaduk secara manual
- ◆ Ukur pH dengan kertas ph atau dengan pH elektrik sampai dengan kisaran 5.7-5.8, lakukan penambahan NaOH 1 N jika kurang dan jika kisaran berlebih tambahkan HCL 1 N untuk menurunkannya
- ◆ Setelah pH stabil, tambahkan tepung agar sebagai pematid lalu masak sampai mendidih
- ◆ Tuangkan media ke dalam botol selai sebanyak 25 ml/botol
- ◆ Tutup botol dengan aluminium foil atau palstik tahan panas
- ◆ Botol kultur yang telah berisi media disterilisasi dengan menggunakan autoklaf selama 20 menit dengan tekanan 171 atm.



## 3. Persiapan tanaman induk dan bahan eksplan

Karantina tanaman induk merupakan suatu proses mengisolasi tanaman untuk mendapatkan bahan eksplan yang steril.

Alat dan bahan :

- ◆ Detergen
- ◆ Fungisida dan bakterisida
- ◆ Antibiotik
- ◆ Pupuk daun
- ◆ Hand sprayer

Langkah kerja ;

- ◆ Penyeleksian dan penilaian pohon induk
- ◆ Pembuatan kebun pangkas dari hasil stek dan grafting pohon induk
- ◆ Lakukan penyemprotan kebun pangkas dengan fungisida dan bakterisida serta pupuk daun secara rutin
- ◆ Jika sudah muncul tunas muda maka siap digunakan untuk bahan eksplan
- ◆ Bahan eksplan diambil maksimum tiga titik dari pucuk. Bahan eksplan lain yaitu bakal tangkai bunga dan kuncup daun.
- ◆ Eksplan disterilisasi di luar dan di dalam laminar

Persiapan Eksplan Di luar laminar :

- ◆ Pemotongan eksplan
- ◆ Pencucian dengan detergen
- ◆ Perendaman dengan fungisida dan bakterisida



Persiapan eksplan di luar laminar

