# KULTUR JARINGAN

## Penyiapan Bibit Rami Secara Invitro

KARYA TERPILIH
BRIN
PROGRAM AKUISISI
PENGETAHUAN LOKAL
TIDAK UNTUK DIPERJUALBELIKAN

Asri Peni Wulandari
Anne Nuraini
Nurzaman
Rully Dyah Purwati

# KULTUR JARINGAN

## Penyiapan Bibit Rami Secara Invitro

Asri Peni Wulandari
Anne Nuraini
Nurzaman
Rully Dyah Purwati

Buku ini tidak diperjualbelikan.

# KULTUR JARINGAN

## Penyiapan Bibit Rami Secara Invitro

oleh:
Asri Peni Wulandari
Anne Nuraini
Nurzaman
Rully Dyah Purwati
©2021

Desain Cover: Ridha Kelana
Layouter: Afandi

Diterbitkan oleh:
Bitread Publishing
**PT. Lontar Digital Asia**
**www.bitread.co.id**

ISBN: 978-623-224-563-1
ISBN (E): 978-623-224-562-4

Surel: info@bitread.co.id
Facebook: BitreadID
Twitter: BITREAD_ID
Android Digital Books: BitRead

Anggota IKAPI No. 556/DKI/2018

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

Buku ini tidak diperjualbelikan.

# PRAKATA

Suatu kebahagiaan bagi penulis karena dapat menyelesaikan buku *Kultur Jaringan: Penyiapan Bibit Rami secara Invitro* sebagai bentuk penyampaian informasi sebagai progres riset yang sedang kami kerjakan.

Tanaman serat alam yang dikenal dengan sebutan rami dari spesies *Boehmeria nivea* sudah banyak dikaji potensinya untuk berbagai aplikasi seperti dibidang tekstil; pakan; kesehatan; dan berbagai industri kreatif. Proyeksi manfaat tanaman ini di masa depan sangat prospektif untuk dikembangkan pada skala besar, oleh karena itu perlu upaya budi daya secara massal. Hal yang menjadi konsekuensinya adalah perlunya pengadaan bibit dengan kualitas dan kuantitas yang dapat memenuhi target produksi. Adanya kendala pengadaan bibit rami yang dilakukan secara konvensional memerlukan strategi teknologi baru dengan aplikasi teknologi kultur jaringan tidak didukung dengan ketersediaan bahan baku serat alam dalam negeri. Setiap tahunnya Indonesia mengimpor kapas sekitar 565.000 ton atau setara dengan 728 juta dolar AS.

Buku ini disiapkan untuk membantu siswa, mahasiswa, maupun praktisi lapangan atau pihak lain, seperti para pengembang rami dan yang berkepentingan untuk mengenal lebih lengkap tentang kultur jaringan tanaman serat alam, khususnya rami. Pengenalan kultur jaringan merupakan

Buku ini tidak diperjualbelikan.

salah satu langkah sederhana untuk memperkenalkan bioteknologi yang dapat diaplikasikan untuk meningkatkan kesejahteraan manusia dan juga untuk tujuan konservasi tanaman agro industri serat alam.

Buku ini terdiri atas 6 bab yang membahas tentang: Bab 1, Rami dan Potensinya; Bab 2 tentang Reproduksi Tanaman Rami dan Permasalahannya; Bab 3, Bioteknologi Kultur Jaringan; Bab 4, Mikropropagasi rami, termasuk di dalamnya Teknik kultur jaringan juga regenerasi tanaman secara invitro dari rami, Teknik propagasi dari shoot-tip and kutur nodul, pengaruh hormon pertumbuhan auksin dan sitokinin; Bab 5 membahas tentang Regenerasi dan Aklimatisasi Planlet rami; Bab 6 membahas tentang Kontaminan Pada Kultur Jaringan Rami; dan yang terakhir Bab 7 akan membahas mengenai Analisis Kebutuhan Benih Rami yang Berkualitas.

Bandung, November 2020

Penulis

Buku ini tidak diperjualbelikan.

# DAFTAR ISI

Prakata ..... iii
Daftar Isi ..... v
Daftar Gambar ..... viii
Daftar Tabel ..... x

**BAB I**
Rami dan Potensinya ..... 1
A. Karakteristik Umum Tanaman Rami ..... 2
B. Sumber Daya Nuftah dan Botani Tanaman ..... 4
C. Ekologi Tumbuh ..... 5
D. Potensi Rami ..... 6

**BAB II**
Reproduksi Rami dan Permasalahannya ..... 8
A. Reproduksi Rami ..... 9
B. Permasalahan Penyedian Benih Rami ..... 14

**BAB III**
Bioteknologi Kultur Jaringan ..... 18
A. Bioteknologi Kultur Jaringan ..... 19
B. Prinsip Umum Pengerjaan Kultur Jaringan ..... 20
C. Fasilitas Untuk Penyiapan Kultur Jaringan ..... 24

**BAB IV**
Mikropropagasi Rami ..... 30
A. Prinsip Dasar Kultur Jaringan pada Rami ..... 31
B. Nutrien dan Media Tumbuh ..... 31

Buku ini tidak diperjualbelikan.

C. Penyiapan Eksplan ..... 36
D. Sterilisasi dan Penanaman Eksplan ..... 38
E. Perbanyakan Tunas ..... 40

**BAB V**

Regenerasi dan Aklimatisasi Planlet Rami ..... 41
A. Regenerasi Planlet ..... 42
B. Aklimatisasi Planlet ..... 48
C. Faktor yang Memengaruhi Proses Aklimatisasi Planlet ..... 53

**BAB VI**

Kontaminan pada Kultur Jaringan Rami ..... 62
A. Endofitik Mikroorganisme ..... 63
B. Endofit pada Kultur Jaringan ..... 67

**BAB VII**

Analisis Kebutuhan Benih Rami Berkualitas ..... 69
A. Kebutuhan Benih Rami ..... 70
B. Kualitas Mutu Benih ..... 73
C. Kendala dan Pengendaliannya dalam Kultur Jaringan Rami ..... 75

**BAB VII**

Penutup ..... 80

Glosarium ..... 83

Daftar Pustaka ..... 86

Indeks ..... 94

Tentang Bitread .....

Buku ini tidak diperjualbelikan.

# DAFTAR GAMBAR


Gambar 1.1 Morfologi tanaman serat al am: (a) kenaf, (b) yute, dan (c) rami ..... 3

Gambar 1.2 Perbedaan warna bagian bawah daun rami: (a) Rami Hijau (Boehmeria nivea var. tenacissima)a; (b) Rami Putih (Boehmeria nivea var.nivea) ..... 4

Gambar 2.1 Bunga rami ..... 10

Gambar 2.2 Buah Rami ..... 11

Gambar 2.3 Biji rami ..... 12

Gambar 2.4 Rimpang Rami ..... 13

Gambar 2.5 Tahapan penanaman rimpang rami ..... 14

Gambar 2.6 Proses pengepakan benih rami untuk distribusi 16

Gambar 3.1 Pertumbuhan tunas eksplan pada medium MS 21

Gambar 3.2 Pada gambar, rak-rak disusun secara paralel dan beberapa ruang untuk berjalan di antara kedua rak tersebut. Petriplate berisi eksplan kultur jaringan, disimpan di rak ruang kultur jaringan..... 29

Gambar 4.1 Komposisi Utama yang harus terkandung dalam Medium Tumbuh dalam proses mikroporopagasi tanaman ..... 36


Buku ini tidak diperjualbelikan.

Gambar 5.1 regenerasi tanaman hasil kultur jaringan .....47
Gambar 5.2 Aklimatisasi tanaman hasil kultur jaringan.....*48*
Gambar 5.1 Bagan alir proses penyiapan tunas invitro tanaman rami .....51
Gambar 6.1 Morfologi mikroorganisma endofitik pada rami: (A) aktinomiset, (B) ragi, dan (C) cendawan .....67
Gambar 7.1 Lahan rami di daerah Wonosobo .....71
Gambar 7.2 Tanaman rami Varietas Ramindo 1 .....75

Buku ini tidak diperjualbelikan.

# DAFTAR TABEL


Tabel 2.1 Kelemahan dan kelebihan metode reproduksi generatf dan vegetatif pada rami .....15

Tabel 4.1 Makroelemen bagi tanaman.....31

Tabel 4.2 Mikroelemen penting untuk Pertumbuhan Tanaman.....32

Tabel 4.3 Komponen Vitamin untuk Pertumbuhan Tanaman.....33

Tabel 4.4 Bahan Kimia pada Media Kultur Jaringan .....37

Tabel 5.1 Aplikasi Antitranspiran dan fungsionalnya.....59


Buku ini tidak diperjualbelikan.

Buku ini tidak diperjualbelikan.

# BAB I
# RAMI DAN POTENSINYA

Rami mempunyai banyak varietas yang tumbuh di berbagai belahan dunia. Di Indonesia dengan spesies Boehmeria nivea dengan varietas boehmeria lebih banyak ditanam di Indonesia. Tanaman ini dapat tumbuh baik di wilayah tropikal dan mudah beradapatasi pada beberapa kondisi tanah yang ada. Produktivitas panennya sangat cepat yang dapat dipanen hingga 3-6 kali per tahun. *Dalam rangka meningkatkan peran serat alam dalam produksi komoditas tekstil di Indonesia, rami merupakan tanaman yang berpotensi untuk dijadikan opsi sebagai sumber komplemen bahan baku selain kapas. Tanaman rami juga mulai banyak diminati oleh para pengembang serat alam untuk dapat dijadikan potensi bahan baku pada berbagi aplikasi di industri terutama pada industri-industri kreatif. Tanaman rami memilki beberapa factor kelebihan dibandingkan tanaman serat lainnya salah satunya adalah kemampuan tumbuhnya yang pesat karena sistem perakaran rizoma. Walaupun begitu, produktivitas dalam budi daya rami sangat bergantung pada cara penyiapan bibit tanaman. Bab ini akan menyampaikan potensi rami dan permalahan utamanya dalam benih tanaman. Pembaca akan dapat lebih mengenal tentang*

Buku ini tidak diperjualbelikan.

*tanaman rami dengan karakteristik dan potensi, serta problemanya dalam pengadaan benih.*

Industri tekstil dan produk tekstil (TPT) di Indonesia memiliki peranan penting dalam pembangunan ekonomi terutama dalam perolehan devisa ekspor, penyerapan tenaga kerja, dan penyediaan sandang di dalam negeri. Perolehan devisa ekspor dari produk TPT yang merupakan penghasil devisa ekspor nonmigas diperkirakan mencapai 17% dari ekspor nonmigas atau 13% dari keseluruhan ekspor. Namun sebagai negara produsen TPT yang cukup besar tidak didukung dengan ketersediaan bahan baku serat alam dalam negeri.

***

## A. KARAKTERISTIK UMUM TANAMAN RAMI

Banyak orang sering salah dalam menyebutkan jenis tanaman serat alam yang dikategorikan dalam keluarga Urticaceae, seperti kenaf (*Hibiscus cannabinus*), yute (Corchorus olitorius), dan rami (Boehmeria nivea). Ketiga jenis serat alam sudah sangat banyak dimanfaatkan untuk mwmwnuhu kebutuhan manusia.

Secara karakter morfologi ketiga tanaman tersebut menunjukkan adanya perbedaan yang jelas (Gambar 1.1). Ketiga jenis tanaman tersebut sering dimanfaatkan untuk kebutuhan manusia karena mempunyai karakter serat yang kuat. Bila anda sering mendengar penggunaan serat alam seperti karung goni atau tali-temali maka biasanya digunakan jenis serat dari sumber tanaman yute dan kenaf; sedangkan rami banyak digunakan untuk dijadikan bahan tekstil.

Buku ini tidak diperjualbelikan.

Perbedaan gambaran dari masing-masing morfologi tanaman serat alam dapat dilihat pada Gambar 1.1.

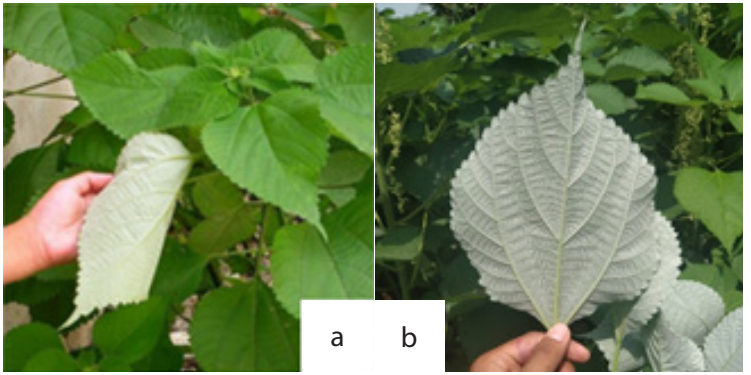
A B C

**Gambar 1.1** Morfologi tanaman serat al am: (a) kenaf, (b) yute, dan (c) rami (Sumber: a: b: www.usu.ac.id c: Sembara, 2020)

Rami atau 'chinagrass', adalah tanaman herba tahunan dari spesies *Boehmeria nivea* (L) Gaud yang banyak dibudidayakan di wilayah tropis dan sub tropis seperti di wilayah di negara Cina, India, dan negara-negara Asia Tenggara dan Lingkar Pasifik lainnya. Di wilayah tropis tanaman rami dapat dipanen sebanyak enam kali per tahun di lingkungan tumbuh subur.

Rami mempunyai karakter daun berbentuk hati. Dalam mengidentifikasi jenis rami, dapat dibedakan berdasarkan perbedaan warna daun tampak bawahnya.

Buku ini tidak diperjualbelikan.




**Gambar 1.2** Perbedaan warna bagian bawah daun rami:
(a) Rami Hijau (Boehmeria nivea var. tenacissima)a;
(b) Rami Putih (Boehmeria nivea var.nivea)
Sumber: a: www.cnseed. Org, b: Sembara, 2020

Bila anda mendapatkan tanaman dengan karakter bagian bawah daun berwarna putih keperakan, maka jenis rami tersebut termasuk sebagai spesies *Boehmeria. nivea* var nivea; sedangkan jenis kedua yaitu rami hijau mempunyai warna putih keperakannya agak kurang jelas atau cenderung berwarna hijau maka jenis tersebut sebagai *Boehmeria nivea var tenacissima*, dikenal sebagai 'rami hijau' atau 'rhea'.

## B. SUMBER DAYA NUFTAH DAN BOTANI TANAMAN

Penyediaan dan koleksi plasma nutfah tanaman rami dikelola oleh Balai Penelitian Tanaman Pemanis dan Serat (Balittas) di Malang, Jawa Timur. Beberapa aksesi telah dikembangkan untuk dapat dijadikan alternatif untuk perakitan varietas rami unggulan. Perakitan varietas rami dikembangkan dengan mempertimbangkan faktor utama tanaman ini berupa seratnya.

Buku ini tidak diperjualbelikan.

Keragaman rami di Indonesia diketahui ada sekitar 20 aksesi Rami, dengan terdapat 8 aksesi unggulan yang telah dicoba dikaji agar dapat menyekrining sebagai aksesi unggulan dengan parameter bobot basah batang per $m^2$ lebih besar dari >2 $kg/m^2$, yaitu Lembang Hijau, Pujon 13, Japan 102, Jawa Timur, Medan, Philipina, Pujon 10 dan Jawa Timur 3-0; terdapat 7 aksesi yang memiliki rendemen serat lebih dari 4% yaitu aksesi Bagiwachuco, Pujon G, Seiki Seiskin, Borneo, Florida, Philipina dan Indocina (Parnidi & Setyobudhi, 2003).

## C. EKOLOGI TUMBUH

Ekologi tumbuh pada tanaman rami memerlukan kondisi optimal agar dapat memperoleh kualitas biomassa serat yang baik. Rami dapat dibudidayakan hingga ketinggian 300 m di atas permukaan laut (dpl), tetapi akan tumbuh baik pada ketinggian > 500 dpl.

Iklim yang paling cocok untuk rami adalah iklim yang hangat dan lembab dengan curah hujan tahunan (atau irigasi) minimal 1000 mm, tersebar merata sepanjang tahun. Kelembaban relatif 80% selama masa pertumbuhan adalah yang terbaik. Suhu optimal untuk panen yang baik adalah sekitar 20-31°C dan kelembaban relatif harus berada pada setidaknya 25%. Tanaman itu toleran terhadap berbagai jenis tanah tetapi dilaporkan sensitif terhadap genangan air.

Tanaman yang sudah mapan dapat mentolerir kondisi stress lingkungan seperti kekeringan. Rami lebih menyukai kondisi tanah yang sedikit asam dengan pH dalam kisaran 5,5 hingga 6,5. Karena produktivitas tinggi, rami dapat dengan cepat

Buku ini tidak diperjualbelikan.

menguras nutrisi tanah sehingga penting untuk mengembalikan sisa tanaman ke tanah atau menambahkan pupuk organik atau anorganik.

## D. POTENSI RAMI

Rami lebih banyak dimanfaatkan terutama pada bagian batangnya yang mengandung sumber selulosa tinggi, karena itu rami memiliki nilai ekonomis yang tinggi. Batang tanaman rami yang tumbuh dari sistem reproduksi rizoma, akan tumbuh ramping dan pertumbuhannya dapat mencapai ketinggian diatas 250-300 cm.

Beberapa potensi tanaman rami adalah sebagai berikut.

### 1. Produktivitas Tanaman

Studi yang dilakukan oleh Parnidi & Setyo (2003) tentang produktiftas dari beberapa aksesi rami menunjukkan bahwa tinggi tanaman setiap aksesi rami berkisar 136,90-221,90 cm (koefisien keragaman (KK) 12,99%); diameter batang berkisar 6,51-9,97 mm (KK 11,80%); Bobot basah brangkasan 1 $m^2$ berkisar 2,30-5,56 kg (KK 24,36%); bobot basah batang tanaman 1 $m^2$ berkisar 0,97-3,26 kg (KK 30,13%). Jumlah tinggi tanaman > 1 m per $m^2$ berkisar 15,00-48,61 batang (KK 27,81%); jumlah tinggi tanaman < 1 m/$m^2$ berkisar 11,00-29,67 batang (KK 30,57%), bobot kering serat berkisar 49,00-104,00 gr (KK 20,49%); dan rendemen serat kering berkisar 2,85-5,76% (KK 20,49%).

### 2. Budidaya Tanaman dan Hasil Serat

Produktivitas budidaya rami dapat menghasilkan serat dengan rendemen 4-5% berat biomassa basah secara total dari hasil

Buku ini tidak diperjualbelikan.

perkebunan. Berat kering batang yang dipanen dari tanaman tropis berkisar antara sekitar 3,4 hingga 4,5 ton/ha/ th; Sebuah panen 4,5 ton menghasilkan sekitar 1.600 kg/ha/ tahun serat kering yang tidak terkelupas.

Rendemen serat selama degumming dapat berkurang hingga mencapai 25% dengan sisa degummed-fiber sekitar 1.200 kg/ha/tahun. Perkiraan potensi hasil rami per hektare (per tahun) bisa mencapai 2.700 hingga 4.800 kg serat per tahun.

Rami adalah tanaman serbaguna yang dapat dimanfaatkan mulai dari bagian akar, batang (yang utama sebagai serat selulosa), daun, dan biji. Pemanfaatan dari setiap organ sudah banyak dikaji untuk dapat menunjukkan potensinya.

### 3. Sifat Fitomedisinal

Tanaman rami mulai dari rimpang, daun, dan bunganya mempunyai kandungan senyawa bioaktif antara lain fenolik, tannin, flavonoid, dan triterpeoid. Kandungan bioaktif tersebut sangat bermanfaat dalam berbagai aplikasi pada bidang pengobatan dan kesehatan.

Studi yang dilaporkan oleh Sharma, dkk. (2010), secara tradisional bahan aktif dari daun dapat digunakan sebagai bahan yang berhubungan untuk menjaga kehamilan dan mencegah keguguran; efektif untuk mengurangi infeksi luka dengan meningkatkan drainase nanah. Rimpang rami disebutkan mempunyai aktivitas antibakteri, penawar racun, diuretik, resolvent dan uterosedative. Ini digunakan dalam pengobatan aborsi terancam, kolik kehamilan, wasir, keputihan (leukorrhea), penyakit kulit (impetigo) dan lain-lain.

Buku ini tidak diperjualbelikan.

# BAB II

## REPRODUKSI RAMI DAN PERMASALAHANNYA

Rami dapat diperbanyak secara reproduksi melalui pembenihan biji atau cara generatif melalui pemanfataatan rimpang atau rizoma. Dalam praktik sehari-hari paling sering dilakukan adalah perbanyakan dengan menggunakan anakan dari rizoma karena mudah dan murah. Proses budidaya rami membutuhkan benih tanaman dalam jumlah yang banyak. Perbanyakan benih tanaman atau propogasi secara konvensional dinilai kurang efisien untuk memenuhi kebutuhan tersebut. Pada Bab ini akan dijelaskan bagaimana rami bereproduksi secara vegetatif dan generative dengan membahas kendala dan permasalahan dalam sistem repoduksinya.

***

Buku ini tidak diperjualbelikan.

# A. REPRODUKSI RAMI

Tanaman rami mudah untuk budidaya karena mempunyai usia tanaman panjang 5–8 tahun. Perbanyakan tanaman rami dapat dilakukan dengan berbagai cara seperti perbanyakan dengan rizoma, biji, stek batang, ataupun upaya dengan kultur jaringan.

## 1. Reproduksi secara Generatif

Reproduksi atau perkembangbiakan secara generatif merupakan perkembangbiakan dengan memerlukan organ tumbuhan seksual yang proses perkembangbiakan membutuhkan organ kelamin jantan dan alat kelamin betina agar terjadi pembuahan. Pada tanaman rami bagian reproduksi generative terdiri atas bunga, buah, dan biji.

### a) Generatif dengan Bunga

Perbungaan rami dapat diketahui terdiri atas bunga betina dan bunga jantan. Kita dapat mengamati pertumbuhan bunga pada saat berbeda tergantung kondisi lingkungannya. Tanaman rami dapat memunculkan bunga dengan ciri sebagai berikut:

- Bunga akan terlihat menggerombol dalam bentuk karangan bunga yang tumbuh pada di sela-sela daun pada buku-buku batang (Gambar 2.1A);
- bunga bersifat majemuk dengan biji yang sangat kecil;
- berkelamin tunggal, sehingga akan ditemukan jenis bunga betina berbeda dengan bunga jantan;
- warna bunga putih kehijauan pada saat muda hijau kekuningan dan akan berubah menjadi cokelat apa bila sudah menjadi tua (Gambar 2.1B);

Buku ini tidak diperjualbelikan.

- Pada kondisi lingkungan dengan rata-rata suhu 28C dengan kelembaban 76%, lama pembungaan dapat diamati antara 39–46 hari.
- Tanda-tanda bunga betina mulai mekar ditandai dengan menjulur putik yang berwarna putih bening dari ujung bunga dengan panjang + 0,5-1 mm (Gambar 2.1C);
- bunga jantan sangat jarang teramati; tetapi bila muncul bunga jantan memiliki empat kelopak yang berwarna hijau.

**Gambar 2.1** Bunga rami
Sumber: Sembara, 2020

Fase fenologi pembungaan rami ditampilkan pada dengan fase inisiasi pembungaan selama 12–17 hari dan bunga akan mekar sempurna antara 27–31 hari. Tangkai putik yang berfungsi sebagai tabung putik juga berbulu seperti kondisi pada bunga. Terjadinya pemekaran bunga betina waktunya tidak serempak walaupun dalam satu kelompok (bongkol). Bunga disebut tidak lengkap bila, salah satu atau lebih dari bagian-bagian bunga tersebut tidak tumbuh. Sekitar 4-7 hari kemudian mulai ada yang mekar dan siap untuk dibuahi (Anonim, 2013).

Buku ini tidak diperjualbelikan.

**b) Generatif dengan Buah**

Ukuran buah rami sangat kecil dan mempunyai bentuk dan warna yang mirip dengan bunga betina. Buah mempunyai warna yang berbeda tergantung klonnya, seperti buah muda berwarna hijau, merah, cokelat, kuning, sedangkan buah tua berwarna cokelat tua sampai hitam. Buah agak membulat hingga bulat telur, diameter sekitar 1 mm, berambut, *crustaceous,* cokelat-kuning (Anonim, 2010), (Gambar 3.2).

Buah rami bila dilihat lebih jelas dengan mikroskop tampak sebagai bagian yang terbelah dua dengan lapisan kulit tipis tetapi mempunyai alur tempat buah tersebut pecah/membelah.

**Gambar 2.2** Buah Rami
(http://tcf.bh.cornell.edu/imgs/jdelaet/r/
Urticaceae_Boehmeria_nivea_35500.html)

**c) Generatif dengan Biji**

Apabila pada tanaman rami terjadi pembuahan dari bunga betina dan bunga jantan, maka selanjutnya akan dapat diamati

Buku ini tidak diperjualbelikan.

adanya bijinya sangat kecil dan berwarna hampir hitam atau abu-abu kehitaman, berwarna cokelat kehitaman atau cokelat muda.

Gambar 2.3 menunjukkan ukuran biji rami sangat kecil dan berbentuk bundar atau lonjong seperti telur. Berwarna cokelat kehitaman. Jika dibiarkan jatuh ke tanah akan tumbuh menjadi tanaman baru, tetapi tidak produktif (Musaddad, 2007).

**Gambar 2.3** Biji rami
Sumber: http://www.rib.okayama-u.ac.jp/

Kotiledon biji berbentuk bulat dan berwarna cokelat sampai hitam. Kulit bijinya tipis, terangkat ke atas saat berkecambah dan berdaging biji (endosperma) berwarna putih kekuningan dengan satu lembaga di tengah agak kepangkal. Biji (benih) yang baik, akan berkecambah serempak pada hari ke-5 sampai ke-7 setelah tanam (Petruszka, M. 1977).

## 2. Regenerasi Vegetatif dengan Akar Rimpang dan Stek Batang

Rami dapat diperbanyak secara vegetatif dengan menggunakan rimpang atau stek batang. Dengan segala kelebihan dalam

Buku ini tidak diperjualbelikan.

pengalaman perbanyakan tanaman, rami lebih banyak dikembangbiakan secara vegetatif terutama melalui rimpang untuk produksi komersial.

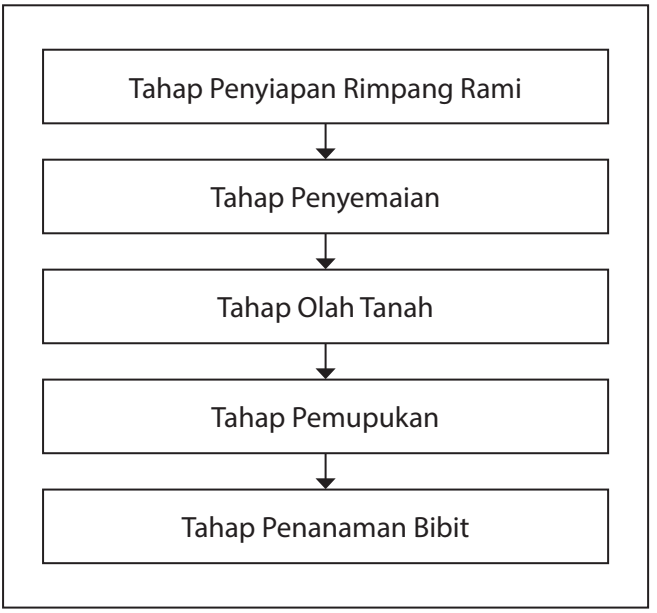
Apa bedanya akar dan rizoma? Akar yang banyak kita kenal adalah bagian tanaman yang berada di dalam tanah dengan pusat tumbuh adalah pada bagian ujung tanaman sehingga cenderung tumbuh menembus tanah; sedangkan akar rimpang lebih bersifat sebagai bagian reproduktif dengan batang yang menjalar dibawah tanah pada kedalaman sekitar 10–20 cm dan memiliki banyak mata tunas yang dapat digunakan untuk perbanyakan tanaman dan merupakan bagian akar yang memiliki kemampuan untuk tumbuh menjadi tanaman baru.

Pemanfaatan rimpang rami akan lebih baik bila digunakan pada usia 1-5 tahun waktu tanam, produktivitas tanaman akan menurun bila kepadatan akar pada tanah semakin tinggi. Dalam kondisi seperti itu, sebaiknya dilakukan penggalian akar dan melakukan proses tanam ulang dengan benih rimpang yang baru (Gambar 2.4).

**Gambar 2.4** Rimpang Rami

Buku ini tidak diperjualbelikan.

Rimpang rami berwarna cokelat pucat dan tumbuh sejajar dengan permukaan tanah. Dalam kondisi agroklimat yang ideal, rimpang dapat ditanam kapan saja, tetapi disarankan waktu tanam adalah pada periode musim penghujan.




**Gambar 2.5** Tahapan penanaman rimpang rami

Metode tanam dengan rimpang rami dapat dilakukan seperti pada tahapan seperti yang ditampilkan pada bagan alir berikut (Gambar 2.5).

## B. PERMASALAHAN PENYEDIAN BENIH RAMI

Berdasarkan Tabel 2.1 kelemahan dalam penyediaan benih rami secara konvensional.

Buku ini tidak diperjualbelikan.

**Tabel 2.1** Kelemahan dan kelebihan metode reproduksi generatf dan vegetatif pada rami

| Metode Reproduksi | Benih | Kelemahan |
|---|---|---|
| Generatif | bunga | Perbungaan tidak serempak, bunga jantan sangat jarang teramati |
| | buah | Ukuran sangat kecil bentuk sulit dibedakan dengan bunga |
| | biji | Ukuran sangat kecil |
| Vegetative | Rimpang | Memerlukan lahan luas sebagai sumber benih |
| | | Memerlukan jumlah tenaga kerja banyak untuk penyiapannya |
| | | Mutu bibit yang baik bila usia tanaman 2-4 tahun |

Beberapa aspek terkait dengan kelemahan dari karakteristik benih rami meliputi:

- Bunga rami yang tumbuh tidak serempak sulit untuk digunakan dalam suplai benih dalam waktu yang seragam, selain itu waktu perbuahannya agak sulit ditentukan.
- Buah rami sulit ditentukan keberadaannya.
- Biji rami berukuran sangat kecil dengan persentase perkecambahan yang sangat rendah, karena itu benih dengan biji tidak cocok untuk digunakan pada budidaya skala besar. Penggunaan biji rami untuk perbanyakan tanaman memerlukan proses penyemaian dan perkecambahan terlebih dahulu, karena memerlukan waktu lama dan sulit dalam pelaksanaannya sehingga perbanyakan tanaman dengan biji jarang dilakukan. Alasan lain, mengapa reproduksi dengan biji jarang dilakukan karena biji rami sangat sulit diamati dan dihasilkan, selain itu membutuhkan

Buku ini tidak diperjualbelikan.

waktu 1-2 tahun untuk produktif; menghasilkan tanaman dan serat dengan mutunya lebih rendah dari induknya, sehingga tidak disarankan untuk dapat dikembangbiakan dengan cara generative seperti ini.

- Secara konvensional, cara penggunaan rimpang mempunyai beberapa kekurangan seperti: (a) kondisi iklim sangat memengaruhi mutu benih rimpang rami. Pada musim penghujan laju pertumbuhan rami lebih cepat dibandingkan pada musim kemarau (Santoso, 2005), sehingga pengambilan benih yang bermutu sebaiknya dilakukan pada musim penghujan; (b) Kualitas benih rimpang yang bermutu baik perlu menunggu usia tanam yang matang lebih dari 1 tahun (c) kapasitas produksi benih bergantung pada luas lahan, semakin luas. Perbanyakan rami dilakukan dengan menggunakan rimpang atau batang stek tetapi umur simpan benih ini cukup pendek (~ 10 hari), karena sering terjadi proses etiolasi yang dapat menurunnya kualitas pertumbuhan tanaman.

**Gambar 2.6** Proses pengepakan benih rami untuk distribusi

- Pengangkutan benih rimpang rami secara konvensional dilakukan dengan cara pengepakan pada kotak kayu dengan susunan seperti pada Gambar 2.6.

Buku ini tidak diperjualbelikan.

Prospeksi benih rami untuk dapat dikembangkan dalam produksi skala besar mempunyai keterbatasan varietas unggul dan bibit rami berkualitas yang ada saat ini belum mendukung untuk budidaya rami pada berbagai kondisi tanah yang ada di Indonesia yang dapat di produksi pada skala besar. Berdasarkan potensi dan permasalahan dalam penyediaan benih tanaman rami, maka teknik kultur in vitro menawarkan pilihan untuk perbanyakan bahan tanam yang efisien dan cepat bila diperlukan keseragaman yang tinggi dari keturunan untuk mengatasi kelangkaan bahan tanam untuk suatu daerah ekspansi di bawah budidaya rami.

Buku ini tidak diperjualbelikan.

# BAB III

## BIOTEKNOLOGI KULTUR JARINGAN

*Bioteknologi kultur jaringan dengan memanfaatkan bagian tubuh tumbuhan dapat digunakan untuk menyelesaikan permasalahan perbanyakan benih tanaman tersebut. Berbeda dengan propagasi secara konvensional, kultur jaringan mempu menghasilkan tumbuhan baru yang utuh dalam jumlah yang banyak, singkat, dan terkontrol. Dalam pengembangan bibit rami, kultur jaringan dapat menjadi alternatif untuk memenuhi kebutuhan rami. Bab ini menjelaskan tentang apa itu kultur jaringan, progress kultur jaringan tentang rami, dan hal-hal umum yang diperlukan dalam laboratorium proses kultur jaringan.*

***

Buku ini tidak diperjualbelikan.

## A. BIOTEKNOLOGI KULTUR JARINGAN

Strategi jangka panjang dengan menggunakan planlet hasil kultur merupakan alternatif teknologi yang diperlukan karena mempunyai manfaat terutama: adanya sistem penyediaan bibit yang efisien; dapat menghasilkan bibit tanaman untuk perbanyakan yang lebih cepat; dihasilkan benih dengan karakter seragam dibandingkan dengan metode perbanyakan secara konvensional.

Konsekuensi aplikasi penggunaan teknologi kultur jaringan akan terasa berat pada awal penggunaan teknik ini karena memerlukan biaya investasi awal yang cukup mahal. Selain itu, untuk mencapai keberhasilan perolehan planlet yang baik perlunya formula dekontaminasi mikroorganisme yang efektif. Faktor keberhasilan lainnya untuk penerapan reproduksi rami secara in vitro sangat tergantung pada sifat genetik dan teknik regenerasi yang baik.

Perkembangan tentang kultur jaringan tanaman rami telah dikaji oleh Wang, *et al*., (2007). Penggunaan eksplan yang berbeda dapat ditunjukkan bahwa untuk pertama kalinya protokol untuk regenerasi sel rami sangat efisien yang berasal plantlet dari kotiledon rami.

Teknik kultur jaringan rami dengan menggunakan tunas aksiler dan tunas rizoma, dapat diketahui bahwa persentase eksplan hidup tertinggi diperoleh dari eksplan yang berasal dari tunas aksiler (Mayerni, 2005).

Morfogenesis dari kalus dapat dihasilkan dari semua jenis eksplan rami, tetapi pada umumnya kalus-kalus yang dihasilkan sulit untuk berdiferensiasi (Pan., *et al*., 1995).

Buku ini tidak diperjualbelikan.

Untuk meningkatkan kapasitas regenerasi rami telah diteliti pengaruh terhadap regenerasi tanaman umur tanaman donor, media basal, zat pengatur tumbuh, dan kondisi budidaya menggunakan eksplan yang berasal dari kotiledon, hipokotil, daun, tangkai daun, dan batang semai rami.

Berdasarkan potensi dan permasalahan dalam penyediaan benih tanaman rami, maka teknik kultur in vitro menawarkan pilihan untuk perbanyakan bahan tanam yang efisien dan cepat bila diperlukan keseragaman yang tinggi dari keturunan untuk mengatasi kelangkaan bahan tanam untuk suatu daerah ekspansi di bawah budidaya rami.

## B. PRINSIP UMUM PENGERJAAN KULTUR JARINGAN

Kultur jaringan tanaman atau *tissue culture* adalah teknik perbanyakan atau mikropropagasi tanaman/tumbuhan secara vegetatif. Teknik ini dilakukan dengan metode merekayasa pertumbuhan dengan cara mengisolasi bagian tanaman seperti organ tanaman daun, akar, biji, akar, tunas pucuk, batang, atau jaringan, kumpulan sel, sel tunggal, protoplasma.

Dalam proses rekayasa tersebut perlu menumbuhkan bagian-bagian tersebut dalam media buatan yang kaya nutrisi dan mengandung zat pengatur tumbuh dalam kondisi aseptik secara in vitro. Proses rekayasa pertumbuhan tanaman dilakukan dalam suatu wadah tertutup dengan kondisi aspetis, yang tembus cahaya untuk memungkinkan bagian-bagain tanaman tersebut tetap berfotosintesis dana memperbanyak diri, sehingga beregenerasi kembali menjadi tanaman lengkap.

Buku ini tidak diperjualbelikan.

Kemajuan dalam kultur jaringan seperti pembiakan cepat, kultur protoplas dan kultur sel suspensi, kultur anther, embriogenesis somatik dan organogenesis bahkan sudah masuk ketahap transformasi genetic (An et al., 2018).

Gambar 3.1 menampilkan pertumbuhan tunas sebagai eksplan dalam medium buatan Murashige dan Skoog Medium (Medium MS) pada tabung pertumbuhan.

**Gambar 3.1** Pertumbuhan tunas eksplan pada medium MS

Para peneliti banyak melakukan kajian tanaman tentang kultur jaringan tanaman dengan tujuan seperti:

- membiakan bagian klon tanaman dalam ukuran yang sekecil-kecilnya untuk ditumbuhkan sebagai kalus dalam jumlah yang banyak.
- dapat menghasilkan metabolit sekunder, misalnya untuk keperluan obat-obatan.
- memproduksi bibit secara massal dalam waktu singkat. Hal ini terutama dilakukan pada tanaman-tanaman yang persentase perkecambahan bijinya rendah.
- Tanaman hibrida yang berasal dari tetua yang menunjukkan sifat *male sterility*,

Buku ini tidak diperjualbelikan.

- Sebagai alternatif yang lebih baik daripada propagasi secara konvensional.
- untuk membentuk bahan tanam yang seragam, cepat, dan terjaga kualitas gennya.

Perbanyakan massal tanaman dengan kutur jaringan memberikan beberapa kelebihan seperti:

1. perbanyakan masal tanaman yang biasanya sangat lambat dengan metode konvensional dalam jumlah yang besar dalam waktu yang singkat,
2. diperoleh tanaman yang bebas virus, membantu pemulian tanaman untuk mempercepat pencapaian tujuan penelitian pada tanaman yang biasa diperbanyak secara vegetatif.
3. Bibit hasil kultur jaringan memiliki keunggulan antara lain : 1. Penyediaan bibit dapat diprogram sesuai dengan jadwal kebutuhan dan jumlah yang diperlukan pekebun; 2. Sifat unggul tanaman induk tetap dimiliki oleh tanaman hasil perbanyakan dengan kultur jaringan: 3. Bibit dalam keadaan bebas hama dan penyakit karena diperbanyak dalam keadaan aseptik dari tanaman yang sehat; 4. Tingkat keseragaman bahan tanaman yang tinggi, sehingga mampu meningkatkan efisiensi dalam pengelolaan kebun
4. Hasil perbanyakan tanaman dengan kultur jaringan mempunyai sifat identik dengan induknya karena dilakukan dengan pembiakan vegetatif yang berasal dari bagian tubuh suatu induk.
5. Penyiapan tanaman pada proses tunas dilakukan dengan tahapan sterlisasi untuk menghambat mikrob kontaminan,

Buku ini tidak diperjualbelikan.

sehingga akan dihasilkan bahan bibit tanaman bebas hama atau penyakit.

6. Teknik perbanyakan tanaman secara vegetatif dapat digunakan untuk mempertahankan sifat-sifat tanaman juga untuk melakukan konservasi tanaman secara in vitro.
7. Dapat digunakan untuk memproduksi metabolit sekunder.
8. Teknik untuk pemuliaan tanaman dan transformasi genetik
9. Memanfaatkan bahan baku berupa tunas atau bagian tanaman dalam jumlah sedikit untuk dapat menghasilkan produk bibit tanam dalam jumlah besar, sehingga sangat ekonomis untuk menjadi metode perbanyakan tanaman.
10. Dapat dikembangkan untuk skala besar dan komersial dengan metode produksi yang lebih terstandar.

Strategi dengan teknik kultur jaringan ini pada tanaman rami dimanfaatkan untuk dipersiapkan dalam upaya ekstensifikasi lahan bila permintaan suplai tanaman akan tinggi, tetapi ketersediaan pasokan benih masih rendah. Dalam hal ini laju perbanyakan dengan rizoma secara konvensional dianggap lambat. Di samping itu, dengan kultur jaringan diharapkan memperbanyak tanaman unggul yang murni secara galur dan bebas patogen yang perlu diperbanyak dalam jumlah besar dalam waktu yang relatif singkat.

Secara umum proses kultur jaringan terdiri atas lima tahapan, yaitu: (1) penyiapan ekpslan dan media tumbuh; (2) sterilisasi organ tanaman sebagai bahan eksplan, (3) penanaman pada media khusus untuk proses multiplikasi tunas, (4) penanaman pada media khusus untuk penumbuhan akar, dan (5) aklimatisasi di rumah kaca dan di tanah.

Buku ini tidak diperjualbelikan.

> *"Tahap penting yang menjadi ciri teknik kultur ini: langkah sterilisasi untuk menjaga sampel tunas dalam kondisi aseptis; bahan tanaman ditumbuhkan dalam medium kaya nutrien; dan menggunakan ZPT (zat pengatur tumbuh); semua proses penyiapan vegetatif kultur dilakukan dalam suatu ruang yang terkontrol suhu dan pencahayaannya."*

## C. FASILITAS UNTUK PENYIAPAN KULTUR JARINGAN

### 1. Laboratorium dan Area Kerja Kultur Jaringan

Dalam merancang produksi benih rami secara kultur jaringan perlu diketahui kriteria ideal untuk sarana fasilitas laboratorium produksi yang perlu ada. Kondisi laboratorium kultur jaringan harus memenuhi kriteria aman, bersih, memiliki organisasi dan penataan ruang yang sesuai.

Standar biosafety untuk menghindari kontaminasi dan bebas debu adalah mutlak mulai dari lantai, dinding, meja, alat-alat yang digunakan, maupun udara di ruangan laboratorium. Untuk meminimalisasi kontaminasi yang disebabkan oleh debu maka laboratory dapat dirancang menjadi ruangan tertutup tanpa ada ventilasi.

Jendela-jendela dapat dibuat permanen dari kaca (tidak bisa dibuka), tetapi masih memungkinkan ditembus oleh cahaya. Suhu ruangan kultur jaringan berkisar 25-28°C.

Laboratorium kultur jaringan sebaiknya mempunyai pembagian ruangan yang diatur sedemikian rupa sehingga tiap

Buku ini tidak diperjualbelikan.

kegiatan terpisah satu dengan yang lainnya, tetapi masih dapat saling berhubungan dan mudah dicapai. Fasilitas dasar yang dibutuhkan dalam laboratorium kultur jaringan Laboratorium adalah tempat di mana segala macam kegiatan ilmiah dan penelitian dapat dilakukan dalam kondisi yang terkendali.

## 2. Aktivitas Umum dalam Laboratorium Kultur Jaringan

Ruangan ini perlu ada sebagai bagian awal tahapan memeprsiapkan kegiatan seperti: personil yang akan memulai dengan pekerjaan aseptis, pengatur suhu (AC), lampu ultra violet dan lampu ruangan. Ruang ini sebaiknya dibatasi dengan pintu penghubung dengan ruang-ruang lainnya seperti: ruang stok, ruang inkubasi dan ruang mikroskop.

Beberapa prasyarat fasilitas dasar bagi setiap laboratorium yang aktif mempraktekkan metode kultur jaringan tanaman untuk menanam tanaman, adalah:

a. Ruang preparasi, sterilisais, dan penyimpanan media

   Ruangan ini dipergunakan sebagai tempat untuk penyimpanan alat-alat gelas dan bahan untuk kegiatan kultur jaringan dengan dilengkapi dengan ruangan untuk mencuci, dan instrument sterilisasi.

   Peralatan yang diletakkan di dalam ruangan ini terdiri atas: alat-alat gelas, lemari alat-alat gelas; alat-alat untuk mencuci, rak pengering, alat-alat diseksi (spatula, pisau, scalpel, pinset, glinting, cutter). Dua unit autoklaf diperlukan sebagai alat sterilisisasi media yang akan dijadikan stok dan alat dekontaminasi limbah dan sisa bahan/kultur/media yang terinfeksi setelah percobaan.

Buku ini tidak diperjualbelikan.

Ruangan ini juga digunakan untuk menyiapkan ekplan yang dilakukan meliputi pencucian, pemotongan/ pembuangan bagian-bagian tanaman yang tidak dipergunakan serta perlakuan awal untuk mengurangi kontaminan yang ada dipermukaan tanaman.

Area pencucian digunakan untuk membersihkan dan mencuci barang pecah belah dan barang lain yang digunakan dalam eksperimen sebenarnya, oleh karena itu pemeliharaan kebersihannya sama pentingnya. Area pencucian dilengkapi dengan produksi air deionisasi/suling ganda.

b. Ruang timbang dan Ruang stok

Ruang timbang ini sebaiknya berada diantara ruangan persiapan dan ruang transfer.

Ruangan ini difungsikan hanya untuk menyimpan alat-alat yang sudah steril dan rak-rak penyimpanan medium steril. Karena itu, ruangan ini harus dijaga kebersihannya.

Fasilitas yang harus tersedia dalam ruangan ini adalah alat-alat: timbangan analitik, lemari es dan freezer untuk menyimpan larutan stok, hot plate dengan magnetik stirrer, bunsen dengan kaki tiga, pH meter, lemari bahan kimia dana alat-alat (aluminum foil, kertas timbang, kertas saring), dan oven konveksi untuk memanaskan media penyimpanan yang dipadatkan.

Aktivitas dalam ruang ini adalah: menyiapkan medium kultur dengan langkah umum seperti penimbangan bahan kimia medium, pengenceran larutan stok, membagi-bagi dalam botol kultur.

Buku ini tidak diperjualbelikan.

Didalam pelaksanaan teknik kultur jaringan, sebelum penanaman eksplan maupun subkultur dilakukan, medium kultur harus sudah disiapkan minimum tiga hari sebelum diperlukan. Medium yang sudah jadi harus disimpan didalam ruangan yang dingin dan gelap.

c. Area untuk transfer kultur/media dalam kondisi aseptic

Ruang transfer merupakan ruangan dimana semua kegiatan aseptis dimulai.

Ruang transfer dilengkapi dengan alat-alat sebagai berikut: *laminar air flow cabinet (*harus dilengkapi dengan UV, lampu neon dan blower), peralatan untuk melakukan pekerjaan aseptis, dissecting microscope, alat-alat diseksi (scalpel, pinset, spatula, gunting, jarum), *hand sprayer* untuk alcohol, bunsen burner/lampu alkohol/bacticinerator, meja beralas kaca/formica dengan laci untuk menyimpan alat-alat steril, kapas dan alcohol. Kabinet yang digunakan untuk isolasi, inokulasi dan subkultur.

d. Ruang inkubator atau ruang kultur dengan lingkungan terkontrol

Ruang kultur merupakan area penting untuk menyimpan botol-botol media yang telah berisi ekplan. Pertumbuhan ekplan/jaringan perlu diinkubasi/ditanam dalam kondisi yang lebih terkontrol (suhu, kelembaban, dan kualitas cahaya), ruang kultur juga harus dilengkapi dengan instrumentasi dasar pengontrol ruangan. Ruang kultur harus dilengkapi dengan pintu ganda sehingga dapat terjaga bebas debu dan suhu juga dapat terjaga dengan efektif. Aktivitas di dalam ruangan ini harus dibatasi dari lalu lang banyak orang.

Buku ini tidak diperjualbelikan.

Masa penyuimpanan kultur dapat dilakukan selama periode 3-6 minggu. Kondisi suhu lingkungan yang diperlukan untuk berkisar antara 20°C dan 30°C.

Ruang kultur harus memiliki pencahayaan fluorescent yang cukup untuk mencapai 10.000 lux, dengan pencahayaan dan suhu harus dapat diprogram untuk periode 24 jam terang. Fotoperiode gelap harus dipertahankan secara otomatis dengan menggunakan pengatur waktu.

Ruang kultur harus memiliki ventilasi udara paksa yang seragam, dan kisaran kelembaban 20-98% dapat dikontrol hingga ± 3%. Untuk mengatur suhu dan kelembaban, digunakan AC dalam hubungannya dengan regulatornya dan dengan ambang batas maksimum dan minimum yang diawali untuk faktor-faktor ini di ruang kultur jaringan.

Gambar 3.2 menampilkan botol-botol kultur diatur dengan menempatkannya pada rak-rak terbuka yang bertingkat (3-4 tingkat) dengan lampu fluorescent, jarak tiap tingkat 40-50 cm. Jarak antara rak harus diatur sedemikian rupa sehingga memudahkan lalulintas pemeriksa kultur. Di dalam ruang kultur, lingkungan fisik diatur sedemikian rupa sehingga mendukung pertumbuhan yang optimal, untuk itu perlu ada pengaturan terhadap suhu dan cahaya. Unsur-unsur dan cahaya yang perlu diperhatikan adalah kualitas, lama penyinaran dan intensitas cahaya.

Buku ini tidak diperjualbelikan.

**Gambar 3.2** Pada gambar, rak-rak disusun secara paralel dan beberapa ruang untuk berjalan di antara kedua rak tersebut. Petriplate berisi eksplan kultur jaringan, disimpan di rak ruang kultur jaringan.

Buku ini tidak diperjualbelikan.

# BAB IV
# MIKROPROPAGASI RAMI

Kebutuhan jangka menengah dan panjang dalam rangka peningkatan produksi rami skala nasional diperlulan permingkatan ketersianan benih rami yang memungkinkan dapat meghasilkan benih dalam jumlah yang banyak dengan performa yang homogen. Teknologi mikropropagasi rami melibatkan teknologi kultur jaringan. Terdapat banyak sekali cara untuk mikropropagasi tumbuhan rami seperti pemanfaatkan bagian tunas aksilar dan batang yang menunjukkan hasil yang bagus dan cepat untuk dijadikan eksplan.

Pada bab ini akan disampaikan hal tentang tahapan mikropropagasi dari rami, agar pembaca dapat mengetahui proses mikropropagasi berasal dari tanaman rami.

***

Buku ini tidak diperjualbelikan.

# A. PRINSIP DASAR KULTUR JARINGAN PADA RAMI

Propogasi rami akan digunakan sebagai prosedur untuk memperbanyak tanaman rami sehingga dapat tersedia benih yang berlimpah. Prosedur tersebut dapat memanfaatkan bagian tubuh tumbuhan seperti biji, akar, batang, daun, dan bagian lainnya.

Prinsip kultur propagasi tunas dengan kultur jaringan pada tanaman rami masih dalam proses studi berlanjut. Beberapa penelitian telah menunjukkan kajian kultur jaringan rami seperti: pengaruh a zat tumbuh sitokinin (Gati, dkk. 1991) dan Meryani (2005); Tanaman transgenic (Dusi, dkk.,1993) dan tranformasi genetic rami dengan kultur jaringan rami (An, dkk., 2018);serta kajian secara umum tentang kultur jaringan rami yang dibahas oleh Zhou, (1980); serta Muhkerjee (2018) yang telah mengkaji tentang prospek kutur jaringan rami untuk skala besar.

# B. NUTRIEN DAN MEDIA TUMBUH

Apa yang terjadi bila terjadi defisiensi elemen nutrisi pada tanaman?

## 1. Komponen Nutrien

Jenis, manfaat, dan efek defisiensi ditampilkan pada table 4.1–4.4.

**Tabel 4.1** Makroelemen bagi tanaman

| Elemen | Fungi | Gejala Defisiensi |
|---|---|---|
| Mg- Magnesium | Bagian penting dari klorofil, pigmen tumbuhan penting dalam fotosintesis. | Menyebabkan klorosis interveinal pada daunan, sehinga warna daunan keukuningan |

Buku ini tidak diperjualbelikan.

| Elemen | Fungi | Gejala Defisiensi |
|---|---|---|
| K- Kalium | Kalium mengatur pembukaan dan penutup-an stomata dengan pompa ion kalium. Karena stomata penting dalam pengaturan air, kalium mengurangi kehilangan air dari daun dan meningkatkan to-leransi kekeringan. | Menyebabkan nekrosis atau klorosis interveinal. |
| Ca- Kalsium | Mengatur pengangkutan nutrisi lain ke dalam tanaman. Itu juga terlibat dalam aktivasi enzim tumbuhan tertentu. | Kekurangan kalsium menyebabkan stunting (kekerdilan tanaman). |
| P- Fosfor | Penting dalam bioenergetika tanaman sebagai komponen ATP. | |
| C- Karbon | Karbon membentuk tulang punggung banyak tumbuhan biomolekul termasuk pati dan selulosa. | |
| H- Hidrogen | Hidrogen juga diperlukan untuk membentuk struktur dan diperoleh hampir seluruhnya dari air | |
| O- Oksigen | Oksigen diperlukan untuk respirasi sel. Respirasi seluler adalah proses menghasilkan adenosin tri fosfat (ATP) yang kaya energi melalui konsumsi gula yang dibuat dalam fotosintesis | |
| N- Nitrogen | Nitrogen merupakan komponen penting dari semua protein | Kekurangan nitrog-en paling sering menyebabkan pertumbuhan terhambat. |

**Tabel 4.2** Mikroelemen penting untuk Pertumbuhan Tanaman

| Elemen | Fungi | Gejala Defisiensi |
|---|---|---|
| Fe- Besi | Untuk fotosintesis dan sebagai kofaktor enzim pada tumbuhan | Menyebabkan klorosis dan nekrosis interveinal. |
| Zn- Seng | Kofaktor sejumlah besar enzim dan penting dalam transkripsi DNA | Menyebabkan gejala "daun kecil" akibat degradasi oksidatif dari hormon auksin. |
| Mn- Mangan | Untuk membangun kloroplas. | Menyebabkan kelainan warna/ bintik-bintik berubah warna pada dedaunan |
| B- Boron | Untuk pengikatan pektin di wilayah RG II dinding sel primer. | Menyebabkan nekrosis pada daun muda dan kerdil |
| Co-Cobalt | Untuk fiksasi nitrogen | |
| Ni- Nikel | Untuk aktivasi urease, enzim yang terlibat dengan metabolisme nitrogen | Urea beracun menumpuk, menyebabkan pembentukan lesi nekrotik. |
| Si- Silikon | Mengendap di dinding sel dan berkontribusi padanya sifat mekanik termasuk kekakuan dan elastisitas | |

Buku ini tidak diperjualbelikan.

| Elemen | Fungi | Gejala Defisiensi |
|---|---|---|
| Na- Sodium | Yang terlibat dalam regenerasi fosfoenolpiruvat pada tanaman CAM dan C4. | |
| V- Vanadium | Dibutuhkan oleh beberapa tanaman, tetapi pada konsentrasi yang sangat rendah. Ini juga dapat menggantikan molibdenum. | |
| Se- Selenium dan Sodium | Sodium dapat menggantikan regulasi kalium untuk membuka dan menutup stomata. | |

**Tabel 4.3** Komponen Vitamin untuk Pertumbuhan Tanaman

| Elemen | Fungi |
|---|---|
| Vitamin | Tanaman dapat menghasilkan kebutuhan vitaminnya. Namun, kultur sel tumbuhan perlu dilengkapi dengan vitamin tertentu seperti Tiamin (vit B1), Niacin (vit B3), Pyridoxine (vit B6), dan Myo-inositol (Anggota dari vit. B kompleks). |
| Tiamin | Terlibat dalam biosintesis langsung asam amino tertentu dan faktor pendamping penting dari metabolisme karbohidrat. |
| Vit E | Antioksidan |
| Vit C | Untuk mencegah menghitam selama isolasi eksplan. |
| Vit D | Efek pengaturan pertumbuhan Asam Amino-Glisin- memiliki sedikit manfaat dalam pertumbuhan tanaman. Mereka dapat langsung dimanfaatkan oleh tanaman sendiri disediakan sebagai sumber N2. |

## 2. Regulator Pertumbuhan

Perkembangan pertumbuhan eksplan rami telah dikaji dengan induksi beberapa hormon pertumbuhan seperti sitokinin dan auksin. Eksplan berupa tunas aksiler dan tunas rhizome dapat di propagasi menggunakan variasi konsentrasi BAP (BEnxyladenin purin dari sekian mg/L sampai 5 mg/L (Maryeni, 2005); selain itu, penambahan perak nitrat dicampurkan pada konsentrasi BAP pada media untuk mendapatkan hasil kultur jaringan yang optimal (Gati, 1991).

Selanjutnya untuk mengetahui bagaimana auksin dan sitokinin berperan dalam organogenesis tumbuhan rami dilakukan penelitian sebagai berikut:

Buku ini tidak diperjualbelikan.

- Bagian petiole dari 2 kultivar rami digunakan dan ditumbuhkan pada diperbanyak secara in vitro sesuai dengan protokol yang dipublikasikan;
- Segmen tangkai daun (panjang 3-6 mm) dari tanaman mikro in vitro dipotong dan diinkubasi pada media MS yang mengandung 0,25 mg/L TDZ (Sigama) dan 0,06 mg/L NAA (Sigma), dalam ruang kultur di bawah cahaya fluorescent putih dingin dengan siklus 16/8 jam (terang/gelap) pada 25 ° C pada siang hari dan 20 ° C pada malam hari;
- RNA diekstraksi dari dua batch (mewakili dua ulangan) yang memiliki. telah tumbuh di bawah kondisi pertumbuhan yang sama, tetapi berjarak dua minggu
- Pengambilan sampel dilakukan pada hari ke 0, 4, 14, 28 dan 35.

Faktor yang memengaruhi proses kultur jaringan adalah penggunaan zat pengatur tumbuh (ZPT). zat pengatur tumbuh yang ditambahkan dalam media kultur yaitu sitokinin dan auksin memengaruhi faktor keberhasilan kultur jaringan bagi tumbuhan.

- Sitokinin berperan dalam mendorong pertumbuhan sel dan jaringan serta inisia-si pembentukan tunas. Sitokinin yang paling banyak dipakai adalah BAP (Benzyladenin purin). Kultur jaringan dilakukan dengan mengatur penggunaan SPT yang ditambahkan pada media. ZPT yang digunakan akan memengaruhi poliferasi dari tumbuhan yang digunakan.
- Auksin terlibat dalam pembelahan dan pemanjangan sel dan dalam sintesis dinding sel. IAA, IBA, NAA, 2, 4-D adalah auksin yang paling sering digunakan dalam kultur jaringan

Buku ini tidak diperjualbelikan.

tanaman. Auksin alami utama, IAA tidak sering digunakan dalam kultur jaringan, karena tidak stabil. IBA sedikit lebih lebih kuat dari IAA dan tidak mudah rusak. Hormon dari kelompok ini terlibat dengan pemanjangan batang dan antar node, tropisme, absisi dominasi apikal, rooting dll.

**Sitokinin**-Hormon ini berkaitan dengan pembelahan sel, modifikasi dominasi apikal, diferensiasi pucuk, dll. Sitokinin yang paling umum digunakan adalah BAP, BA, Kinetin, 2 ip dan Zeatin. Mereka biasanya mendorong pembelahan sel jika ditambahkan bersama dengan auksin. Dari jumlah tersebut, BAP adalah sitokinin paling efektif untuk merangsang proliferasi pucuk ketiak.

**Giberelin**-Ada lebih dari 20 giberelin yang diketahui. Dari jumlah tersebut, umumnya, GA3 digunakan. Mereka jarang digunakan dan dilaporkan untuk merangsang perkembangan normal planlet dari embrio adventif yang terbentuk secara in vitro.

Lainnya-**Asam absisat** paling sering dibutuhkan untuk pertumbuhan normal dan perkembangan embrio somatik dan hanya jika keberadaannya menyerupai embrio zigotik.

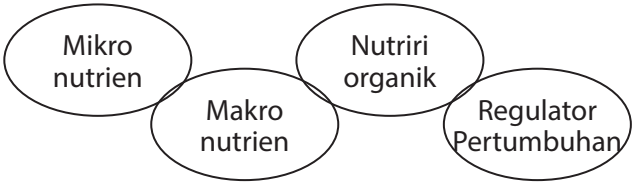
Modifikasi media kultur jaringan dengan menambah zat pengatur tumbuh perlu dilakukan untuk menaikkan presentase keberhasilannya. Ada dua jenis hormon tanaman (auksin dan sitokinin) yang banyak dipakai dalam propagasi secara *in vitro*. Auksin dapat merangsang pembentukan akar sedangkan sitokinin berperan sebagai perangsang pembelahan sel dalam jaringan yang dibuat eksplan serta merangsang pertumbuhan tunas daun (Wetherell, 1982). Golongan auksin yang ditambahkan

Buku ini tidak diperjualbelikan.

dalam media pada penelitian ini adalah *Naphtalene- 3-acetic acid* (NAA) sedangkan golongan sitokininnya adalah *Benzylamino purine* (BAP).

## 3. Komponen Medium Kultur Jaringan

Formulasi medium untuk kultur jaringan biasanya menggunakan medium dari formula yang dirancang oleh Murashige dan Skoog (1962), direvisi oleh Linsmair dan Skoog (1965) sebagai medium standar. Sejumlah makro dan mikroelemen nutrient sangat penting untuk pertumbuhan rami.




**Gambar 4.1** Komposisi Utama yang harus terkandung dalam Medium Tumbuh dalam proses mikroporopagasi tanaman

Pada prinsipnya Medium Murashige dan Skoog (MS) sudah mengandung komposisi yang lengkap secara makro-, mikro nutrien, organik, dan bida dilengkapi dengan regulator pertumbuhan.

Komponen-komponen yang terkandung pada Medium MS adalah seperti yang ditampilkan pada Tabel 4.1.

# C. PENYIAPAN EKSPLAN

Pemilihan eksplan merupakan langkah awal yang perlu dipertimbangkan secara mendalam, karena setiap bagian tanaman dapat dipilih sebagai eksplan.

Buku ini tidak diperjualbelikan.

**Tabel 4.4** Bahan Kimia pada Media Kultur Jaringan

| | |
|---|---|
| Ammonium Nitrate | Nicotinic Acid |
| Potassium Nitrate | Pyridoxine |
| Boric Acid | Glycine Myoinositole |
| Potassium Dihydrogen o-Phosphate | Sodium Hydroxide |
| Potassium Iodide | Hydro Chloric Acid |
| Sodium Molybdate di hydrate | Sucrose |
| Cobaltous Chloride | Agar-Agar |
| Calcium Chloride | Citric Acid |
| Magnesium Sulphate | Glutamic Acid |
| Manganese Sulphate | Adenine Sulphate Di hydrate |
| Zink Sulphate | Asparagine |
| Cupric Sulphate | Arginine |
| Sod. EthL.diamine tetraaceticacid | Ascorbic Acid |
| Banzyl Amino Purine(BAP)<br>Ferrous Sulphate | Mercuric Chloride |
| Thiamine HCl | Sodium Hypochlorite |
| Indole Acetic Acid(IAA) | 2,4-Di chlorophenoxyacetic acid(2,4-D) |
| α-Naphthalene Acetic Acid(NAA) | |

Persyaratan untuk memilih eksplan umur tanaman rami sebaiknya berada pada umur rata-rata dimana tanaman tersebut tidak terlalu muda dan juga tidak terlalu tua. Kandungan fenol pada ekplan muda dapat mengakibatkan efek browning yang selanjutnya akan menghambat pertumbuhan eksplan; eksplan dari tanaman rami umur tua biasanya tanaman berada pada

Buku ini tidak diperjualbelikan.

masa matur/pertumbuhan yang lanjut sehingga sifat totipotensi pada sel tersebut sangat sedikit sekali atau bahkan tidak ada yang menyebabkan eksplan sulit untuk tumbuh. Sumber eksplan tanaman rami digunakan eksplan nodal muda (8-10 cm) dikumpulkan dari bahan tanam lapangan berumur 2-3 bulan.

Optimasi ukuran eksplan perlu menjadi pertimbangan. Penyiapan eksplan dengan ukuran kecil lebih mudah disterilkan dan mengurangi faktor kontaminasi yang tinggi. Tetapi, biasanya akan sulit beregenerasi bila tidak ditumbuhkan pada media yang lebih kompleks. Sebaliknya semakin besar eksplan, maka perlu dilakukan tahap ptimasi pada proses sterilisasi karena adanya potensi mikroorganime endofit dapat tumbuh sebagai mikroba pengkontaminan. Ukran ekspna yang lebih besar akan memerlukan wadah dan media kultur yang lebih banyak.

Penelitian tentang penggunaan beberapa bagian tanaman rami dapat dimanfaatkan sebagain eksplan antara lain tunas aksiler, tunas rizome, hipokotil, petiole, kotiledon, maupun daun. Umur dari eksplan yang digunakan menentukan proses pertumbuhan selanjutnya dalam kultur jaringan. Nodul eksplan rami digunakan untuk usia pertumbuhan 2- 3 bulan (Mukherje, dkk., 2017). Berbagai pilihan sumber ekplan rami, Wang, dkk 2006 melaporkan suatu upaya untuk regenerasi plantlet yang efisien dari kotiledon rami.

## D. STERILISASI DAN PENANAMAN EKSPLAN

Prinsip umum dalam penyiapan eksplan adalah harus bebas dari faktor kontaminasi hama, penyakit maupun mikroorganisme lain yang tidak menguntungkan untuk tanaman. Efek kontaminasi

Buku ini tidak diperjualbelikan.

yang tinggi pada tanaman rami akan dibahas degan hadirnya beberapa mikrooragnisma endofit dari tanaman rami (Bab VI).

Metode sterilisasi dan penanaman ekplan rami dapat mengadopsi metode berdasarkan Mukherje, dkk. , (2017).

1. Tahapan sterlisasi dilakukan sebagai berikut:
    - sampel eksplan dengan panjang 8-10 cm dipotong dan disimpan dalam larutan antioksidan dingin yang mengandung 0,1% (b/v) asam askorbat dan 0,15% asam sitrat selama 20 menit;
    - Eksplan tersebut dicuci bersih dengan air keran yang mengalir selama 5 menit. Dalam kondisi aseptik, sampel dicelupkan dengan cepat selama 10 detik dalam 70% etil alkohol diikuti dengan perendaman dalam 1 (N) $H_2SO_4$ selama 1 menit dan pencelupan cepat dalam larutan 0,5 (M) $Na_2CO_3$;
    - kemudian dicuci dengan dd$H_2O$ steril 4–5 kali dan dicelupkan ke dalam 2,0% NaClO dengan 0,1% Tween20 selama 30 menit dan kemudian dicuci dengan air ddH2O steril 7-8 kali.
    - terakhir, eksplan dikeringkan dengan udara di Laminar *Airflow Cabinet* dan dipotong menjadi potongan-potongan sepanjang 4–5 cm sebelum dikultur.
2. Tahapan sterlisasi dilakukan sebagai berikut:
    - Eksplan nodal ditempatkan secara vertikal pada media basal Murashige dan Skoog 15 ml (Murashige & Skoog 1962) dengan sukrosa 3% (w/v), gelrit 2,8 g/l (w/v) digunakan sebagai zat pemadat, pH disesuaikan menjadi 5,7 ± 0,02 sebelum autoklaf pada 121 ° C di

Buku ini tidak diperjualbelikan.

bawah 1,05 kg/cm$^2$ tekanan selama 20 menit dalam tabung kultur (25 × 150 mm);

- Semua kultur disimpan pada suhu 28 ± 2 ° C dengan fotoperiode 16/8 jam dengan cahaya 130 µE/m$^2$/s yang disediakan oleh cahaya fluorescent putih dan kelembaban relatif 70-80%.

## E. PERBANYAKAN TUNAS

Kultur induk (eksplan) dipisahkan dari tunas tunas yang baru terbentuk dan eksplan dipindahkan ke media multiplikasi tunas (media Murashige dan Skoog yang dilengkapi dengan BA 2 mg/L) dan dipertahankan hingga lima bagian untuk mempelajari efek dari transfer berturut-turut pada perbanyakan tunas. Subkultur dilakukan dengan selang waktu setiap 21 hari selama 5 lintasan. Tunas individu dari tandan pucuk dipisahkan dan dipindahkan ke media Murashige & Skoog dengan dosis pengurangan BA (1 mg/l) untuk pemanjangan lebih lanjut.

### Perakaran in vitro

Untuk induksi akar dalam kondisi in vitro, pucuk individu dengan 3-4 daun yang mengembang penuh (panjang 2-5 cm) dari media pemanjangan dipindahkan ke media Murashige dan Skoog kekuatan setengah yang diperkaya dengan konsentrasi sukrosa yang berbeda (10, 20 , 30, 40 dan 50 g /l).

Buku ini tidak diperjualbelikan.

# BAB V

# REGENERASI DAN AKLIMATISASI PLANLET RAMI

Tahap penting dalam proses kultur jaringan adalah aplikasi tanaman ke dalam kondisi lapangan. Untuk keperluan tersebut maka tanaman hasil kultur tersebut terlebih harus melewati tahapan AKLIMATISASI.

Tahapan aklimatisasi merupakan satu tahapan *kritis. Mengapa dikatakan demikian? tanaman yang dihasilkan dari teknik kultur jaringan ,jika tidak dilakukan proses aklimatisasi dengan benar maka tanaman yang dihasilkan dari teknik kultur jaringan tersebut akan mati. Tahapan ini merupakan tahapan peralihan dari keadaan yang selama ini terkondisi dengan baik di dalam ruang kultur; menuju ke kondisi alam yang suhu, iklim, temperatur dan lainnya dapat berubah-ubah Pada bab ini disampaikan tentang hal-hal yang menyangkut proses aklimatisasi untuk meminimalisir mortalitas tanaman karena adanya penyesuaian diri, sebelum pada akhirnya tanaman mampu hidup di lapangan.*

***

Buku ini tidak diperjualbelikan.

## A. REGENERASI PLANLET

Cara-cara konvensional bisa jadi membawa patogen pada tumbuhan yang ditanam sehingga akan berbahaya untuk diproduksi secara masal.

Faktor yang memengaruhi proses kultur jaringan adalah penggunaan zat pengatur tumbuh yaitu sitokinin dan auksin. Sitokinin berperan dalam mendorong pertumbuhan sel dan jaringan serta inisiasi pembentukan tunas. Sitokinin yang paling banyak dipakai adalah BAP (Benzyladenin purin). Kultur jaringan dilakukan dengan mengatur penggunaan ZPT yang ditambahkan pada media. Konsentrasi ZPT yang digunakan akan memengaruhi poliferasi dari eksplan tumbuhan. Selain itu, pemilihan eksplan yang sesuai juga dapat memengaruhi proses proliferasi. Kapasitas dan efisiensi regenerasi tumbuhan rami menjadi penting dalam kebutuhan kultur jaringan tumbuhan ini.

Kultur jaringan dilakukan dengan berbagai tujuan. Secara garis besar teknologi kultur jaringan digunakan untuk menjadi alternatif yang lebih baik daripada propagasi secara konvensional. Kultur jaringan menjadi pilihan karena mampu membentuk bahan tanam yang seragam, cepat, dan terjaga kualitas gennya. Hal tersebut tidak terkecuali berlaku bagi tumbuhan rami. Perlu adanya inovasi propagasi agar tanaman rami dapat diproduksi secara massal, aman, serta diketahui perkembagan inovasi teknologi yang digunakan. Sejauh ini, hal yang sering diperhatikan dalam proses kultur jaringan rami adalah memanfaatkan zat pengatur tumbuh. Banyak penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi sitokinin dan auksin akan memengaruhi pertumbuhan rami. Maka dari itu, tujuan kultur

Buku ini tidak diperjualbelikan.

jaringan rami akan berfokus pada konsentrasi penggunaan zat pengatur tumbuh seperti BA, kinetin, maupun 2-iP agar menghasilkan pertumbuhan eksplan yang optimal.

Salah satu faktor yang sangat memengaruhi pertumbuhan dan morfogenesis eksplan dalam kultur in-vitro adalah genotipe tanaman asal eksplan tersebut diisolasi. Hasil-hasil penelitian menunjukkan bahwa respon masing-masing eksplan tanaman sangat bervariasi bergantung pada spesies, bahkan varietas, tanaman asal eksplan tersebut. Pengaruh genotipe ini umumnya berhubungan erat dengan faktor-faktor lain yang memengaruhi pertumbuhan eksplan, seperti kebutuhan nutrisi, zat pengatur tumbuh, lingkungan kultur, dan lain-lain. Oleh karena itu, komposisi media, zat pengatur tumbuh dan lingkungan pertumbuhan yang dibutuhkan oleh masing-masing varietas tanaman bervariasi meskipun teknik kultur jaringan yang digunakan sama. Perbedaan respon genotip tanaman tersebut dapat diamati pada perbedaan eksplan masing- masing varietas untuk tumbuh dan beregenerasi.

Masing-masing varietas tanaman berbeda kemampuannya dalam merangsang pertumbuhan tunas aksilar, baik jumlah tunas maupun kecepatan pertumbuhan tunas aksilarnya. Hal serupa juga terjadi pada pembentukan kalus, laju pertumbuhan kalus serta regenerasi kalus menjadi tanaman lengkap baik melalui pembentukan organ-organ adventif maupun embrio somatik. Regenerasi dan perkembangan organ adventif dan somatic embrio juga sangat ditentukan oleh varietas tanaman induk.Perbedaan pengaruh genetik ini disebabkan karena perbedaan kontrol genetik dari masing- masing varietas serta jenis kelamin tanaman induk.

Buku ini tidak diperjualbelikan.

Dari percobaan-percobaan yang sudah dilakukan diketahui bahwa ada banyak cara untuk melakukan kultur jaringan rami. Selain itu, teknologi kultur jaringan dapat bermanfaat untuk transformasi genetic rami sehingga dapat diproyeksikan untuk kebutuhan sebagai berikut perbaikan serat, ketahanan stres (kekeringan, garam, herbisida, logam berat), penyakit/ resistensi serangga. Berdasarkan bioteknologi yang terus berkembang, tujuan penelitian genetik rekayasa bertujuan untuk menumbuhkan rami transgenetik yang sesuai dengan permintaan pasar dan bebas dari risiko lingkungan (An et al., 2018).

## 1. Pertumbuhan dan Perkembangan Planlet

Studi awal tentang kultur jaringan rami telah dilaporkan lebih dari dua dekade lalu (Zhou et al., 1980). Upaya lebih lanjut telah dilakukan untuk meregenerasi planlet rami dari eksplan yang berbeda seperti kotiledon (tanpa data regenerasi) (Huang et al., 1980 ), ruas batang (Pan et al., 1995), hipokotil (Huang et al., 1981) dan daun (Guo et al., 1998; Pan et al., 1995). Regenerasi tanaman diamati melalui morfogenesis dari kalus yang diinduksi dari eksplan.

Kalus selalu disubkultur selama beberapa siklus sebelum diamati regenerasi tanaman. Tetapi, salah satu kelemahan dari proses tersebut adalah adanya kondisidari kalus untuk diferensiasi (Pan et al., 1995), yang berdampak negatif terhadap regenerasi efisiensi. Selanjutnya, tingkat regenerasi yang rendah (< 50%) dalam beberapa kajian yang ada dapat membatasi penerapan protocol untuk terjadinya transformasi genetik, yang sejauh ini, telah dilakukan dalam pekerjaan (Dusi et al., 1993).

Buku ini tidak diperjualbelikan.

Dalam jangka Panjang maka perlu dibentuk prosedur efektif dan efisien sistem regenerasi rami, yang dapat digunakan untuk transformasi genetik di masa depan.

Penggunaan bahan tumbuh Thidiazuron (TDZ), pengganti urea dengan kedua aktif fisiologi sitokinin. Sistem regenerasi tunas adventif yang efisien untuk ramie (Boehmeria nivea Gaud) menggunakan thidiazuron. Penggunaan eksplan dari kotiledon telah banyak digunakan untuk menumbuhkan planlet dari beberapa tanaman lain (Colijin-Hooymans et al., 1994; Yang et al., 2001; Han et al., 2004; Sul III-Whan dkk., 2004; Zhang et al.,2005).

Sistem kultur yang efisien untuk regenerasi tunas adventif sudah dapat dikaji dari plantlet kotiledon tanaman rami. Kotiledon yang dipotong dari bibit berumur 4 hari menunjukkan kapasitas regenerasi tertinggi. Selain membantu dalam proses propagasi tumbuhan rami, kultur jaringan juga dapat digunakan untuk mengetahui bagaimana hormone auksin dan sitokinin dapat memengaruhi pertumbuhan dari eksplan rami. Tunas yang beregenerasi dipindahkan ke bebas hormone media pemanjangan pucuk, setelah berhasil di-*root* pada media MS setengah kekuatan yang dilengkapi dengan 0,27 µM NAA. Planlet yang berakar dengan 4-5 daun dipindahkan ke rumah kaca untuk pertumbuhan lebih lanjut. Progres yang ada hingga saat ini adalah adalah merupakan laporan tentang regenerasi yang efisien dari plantlet dari kotiledon rami, yang mana menjadi nilai untuk perbaikan genetik dalam waktu dekat. Umumnya, pada percobaan kultur jaringan yang dilakukan pada tumbuhan rami, zat pengatur tumbuh akan ditambahkan ke dalam media tanam.

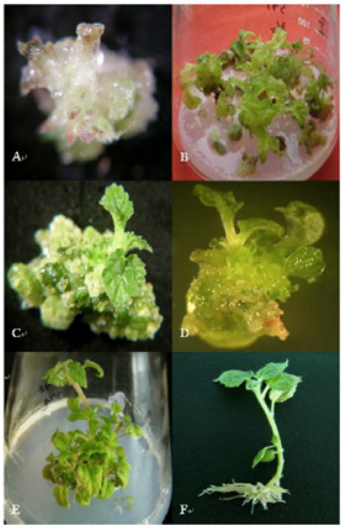
Buku ini tidak diperjualbelikan.

Hasil menunjukkan bahwa penambahan sitokinin dalam bentuk BAP menghasilkan planlet rami pada konsentrasi optimal 0,5-2 mg/L ditambah dengan perak nitrat sebanyak 2 mg/L (Mukherjee et al., 2018). Selain itu, kombinasi antara BAP dan IBA akan menghasilkan sistem perakaran yang baik untuk eksplan rami pada konsentrasi 0,5 mg/L banding 0,2 mg/L (Sut et al., 2004). Berbagai konsentrasi thidiazuron (TDZ) dan asam indoleasetat (IAA) memunculkan tunas adventif dengan perbedaan efisiensi. Kultur kotiledon dari bibit rami umur 4 hari pada media MS dilengkapi dengan 2.27 µM TDZ dan 0.057 µM IAA terbukti memiliki efisiensi regenerasi tunas tertinggi (83.6%) di antara empat suplemen auksin (2,4-D; IAA; IBA; NAA). Hasil transkrip auksin dan sitokinin dari dua jenis rami yang berbeda menunjukkan bahwa kinerja auksin dan sitokinin dari masing-masing jenis dipengaruhi oleh lingkungan tempat kedua jenis rami tumbuh. Perbedaan klimat ditempat rami tumbuh menyebabkan kinerja auksin dan sitokinin yang berbeda dari kedua jenis rami (Gaud, 2014). Selain itu, *clonal fidelity* dari setiap hasil kultur jaringan rami dapat dilakukan untuk mengetahui seberapa sama hasil propagasi kultur jaringan dengan tumbuhan induk donor sehingga aman untuk diproduksi secara masal dan dilepas di lingkungan secara bebas (Mukherjee et al., 2018).

Selanjutnya untuk mengetahui bagaimana auksin dan sitokinin berperan dalam organogenesis tumbuhan rami dilakukan penelitian sebagai berikut Bagian petiole dari 2 kultivar rami digunakan dan ditumbuhkan pada diperbanyak secara in vitro. Setelahnya RNA akan diekstrak dan dilakukan analisis bioinformatika untuk mengetahui kinerja auksin dan sitokinin dalam proses organogenesis rami secara in vitro (Gaud, 2014).

Buku ini tidak diperjualbelikan.

Pada percobaan kultur jaringan bagian yang dapat dimanfaatkan sebagain eksplan antara lain tunas aksiler, tunas rizome, hipokotil, petiole, kotiledon, maupun daun. Umur dari eksplan yang digunakan menentukan proses pertumbuhan eksplan. Tunas aksiler dan tunas rhizome dapat di propagasi menggunakan variasi konsentrasi BAP (BEnxyladenin purin dari sekian mg/L sampai 5 mg/L (Meryani, 2005). selain itu, penambahan perak nitrat nitrat/$AgNo_3$ pada media untuk mendapatkan hasil kultur jaringan yang optimal (Gati, 1991). Selain itu, eksplan berupa kotiledon, hipokotil, daun, petiole, dan batang dapat digunakan. Percobaan dilakukan dengan variasi waktu tumbuh bibit. Setelah bibit tumbuh, bagian dari bibit tersebut dijadikan sebagai eksplan dan ditumbuhan dalam variasi yang beragam (Wang et al., 2007).



**Gambar 5.1** regenerasi tanaman hasil kultur jaringan
(Sumber : Wang, et.al. 2007)

Buku ini tidak diperjualbelikan.

**Gambar 5.2** Aklimatisasi tanaman hasil kultur jaringan
*(Sumber: Wang. et.al. 2008)*

## B. AKLIMATISASI PLANLET

Aklimatisasi adalah tahapan peralihan dari kondisi *in vitro* kepada kondisi *ex vitro*, sehingga diperlukan perhatian dan kondisi lingkungan yang cukup optimal dalam mendukung pertumbuhan tanaman tersebut. Perbanyakan tanaman stroberi dari hasil kultur meristem, memerlukan satu tahapan terlebih dahulu yaitu aklimatisasi sebelum tanaman ditanam di lapang. Masa aklimatisasi merupakan masa yang sangat kritis. Tanaman kecil yang diperoleh (*plantlet*) harus belajar berdiri sendiri, beralih dari kondisi *heterotrof* menjadi *autotrof*.

Kondisi *heterotrof* artinya hidup dari bahan organik yang disuplai ke dalam media tumbuh, sedangkan *autotrof*artinya hidup dari bahan-bahan anorganik dalam media (Gunawan,

Buku ini tidak diperjualbelikan.

1996). Kondisi planlet pada keadaan *heterotrof* menyebabkan anatomi planlet menjadi tidak nornal seperti kutikula tipis, membuka menutup stomata pada daun tidak berjalan normal dan hyperdrisiti yang ketiganya menyebabkan tanaman rentan terhadap kondisi lingkungan *ex-vitro* (George, 2008.) Untuk itu, dalam tahapan aklimatisasi ini dibutuhkan pengkondisian iklim mikro yang tepat untuk menjaga kelembaban air tetap dalam keadaan optimal bagi *planlet in vitro* serta komposisi bahan atau media tanam yang paling optimal guna mendukung pertumbuhan tanaman rami dari hasil kultur meristem sehingga dapat dihasilkan benih yang sehat dan siap didistribusikan dalam jumlah banyak dan cepat kepada petani ataupun pengguna lainnya.

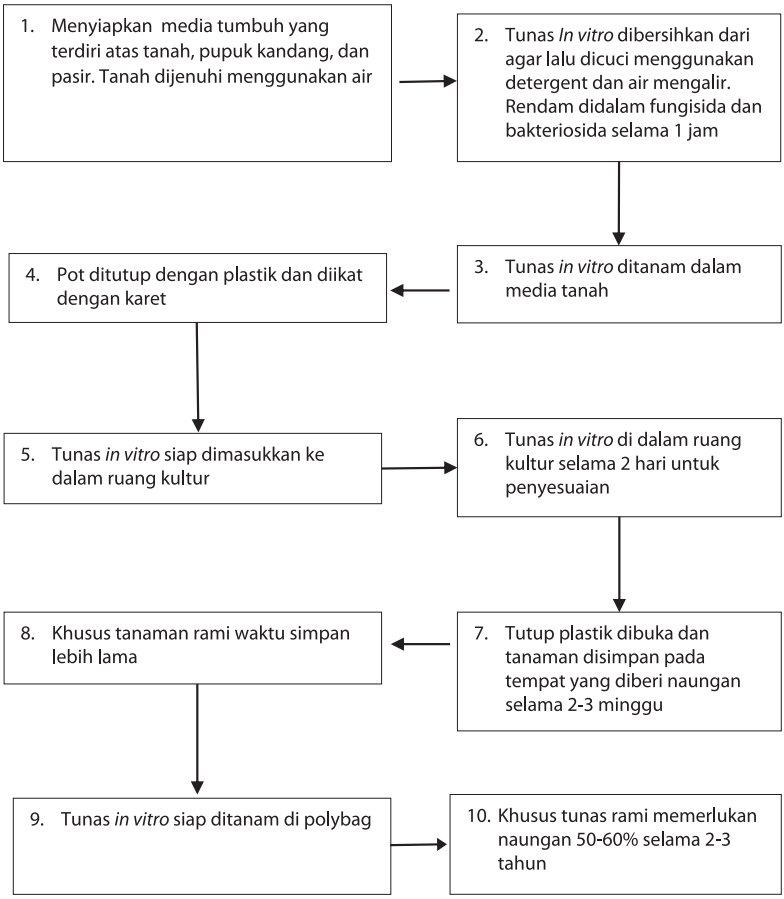
Keberhasilan akhir dari budidaya mikro dalam skala komersial bergantung pada kemampuan untuk memindahkan tanaman keluar dari budidaya dalam skala besar, dengan biaya rendah dan dengan tingkat kelangsungan hidup yang tinggi. Selama transfer lapangan, planlet yang ditanam secara in vitro tidak mampu bersaing dengan mikroba tanah dan mengatasi kondisi lingkungan. Kondisi kultur in vitro mengakibatkan planlet mengalami perubahan morfologi, anatomi dan fisiologi. Untuk meningkatkan pertumbuhan dan mengurangi kematian planlet pada tahap aklimatisasi, upaya difokuskan pada pengendalian lingkungan fisik dan kimiawi dan biohardening planlet hasil perbanyakan mikro. Ulasan ini menjelaskan tekanan abiotik dan biotik dan metode yang berkembang saat ini untuk aklimatisasi *microshoots.*

Hal-hal yang harus diperhatikan sebelum masuk dalam tahap aklimatisasi antara lain:

Buku ini tidak diperjualbelikan.

1. Proses aklimatisasi adalah proses penyesuaian diri, disarankan jika
2. tanaman kultur hendak dipindah, maka harus diperhatikan media turnbuh yang tepat untuk tanaman tersebut.
3. Sebelum digunakan, media tumbuh harus lembab.
4. Pemakaian *tray* untuk tempat aklimatisasijuga dapat digunakan, tetapi harus menggunakan sungkup plastik selama beberapa hari sebelurn sungkup dibuka.
5. Tanaman diletakkan pada ruang kulrur selarna 1-2 hari, setelah itu baru dipindah ke luar ruangan.
6. Tanaman tidak langsung ditanam dilapang, tetapi masih memerlukan naungan umuk beberapa hari sampai tanaman tersebut benar-benar kuat untuk ditanam dilapang.
7. Berdasarkan pengalaman penulis, untuk tanaman nenas, daun dewa, krisan, pertumbuhan anakan lanjutan dapat dilakukan langsung dibawah terik matahari. Untuk tanaman anggrek, rnemerlukan naungan 30-50% sesuai habitat aslinya. Khusus untuk tanaman manggis, mulaisaat dikeluarkan dari botolkul~masa anakan sampai umur 3 tahun, rami memerlukan naungan sekitar 50%, biasanya digunakan paraneet ataupun bahan plastik yang berlubang.

Buku ini tidak diperjualbelikan.




**Gambar 5.1** Bagan alir proses penyiapan tunas invitro tanaman rami

## Tahapan Aklimatisasi Rami

- Tanaman/*plantlet* dikeluarkan dari botol, dibersihkan dari media agar menggunakan air bersih yang mengalir kemudian direndam dalam larutan fungisida dengan konsentrasi 2gr/liter, dan didiamkan selama kurang lebih 2 jam

Buku ini tidak diperjualbelikan.

- Tanam rami mini dalam *pot tray* menggunakan media arang sekam kurang lebih 2–4 minggu dalam kondisi disungkup.
- Setelah itu tanaman dipindahkan dalam media tanam untuk pembibitan menggunakan polibag kecil berukuran 10 cm dengan komposisi tanah ladegan + pupuk kandang halus dengan perbandingan 1:1 sebenarnya sudah cukup bagus, tetapi untuk menambah aerasi dalam tanah bisa ditambahkan pasir, arang sekam atau sekam.
- Tanaman yang telah dipindahkan dalam media tersebut tetap disungkup dengan menggunakan plastik bening dalam kurun waktu 2–4 minggu untuk tetap menjaga kondisi iklim mikro tanaman, terutama faktor kelembaban udara.

Setelah tanaman terlihat cukup kuat sungkup dibuka dan tanaman telah siap menjadi bibit yang siap ditanam di lapang.

## Aklimatisasi Regenerasi Planlet

Planlet rami secara individu yang tumbuh dengan baik secara in vitro dengan mikropropagasi dengan tinggi 6-8 cm diambil dengan hati-hati, dicuci dalam dd$H_2O$ untuk menghilangkan media yang menempel dan ditempatkan dalam 10-12 ml larutan Hoagland (Yoshida et al. 1976), pH 5.0 di bawah kondisi 16/8 fotoperiodik dalam ruang kultur selama 4–5 hari dalam tabung kultur tanpa bingkai yang ditutup dengan tutup kapas yang dibungkus dengan kain katun.

## Pemantapan Aklimatisasi Planlet

Planlet yang selamat ditransplantasikan ke dalam polybag dengan komposisi tanah kebun, kompos, dan pasir (1:1:1)

Buku ini tidak diperjualbelikan.

ditutup dengan kantong polietilen di rumah kaca dan disiram untuk menjaga kelembaban relatif yang tinggi. Setelah 45–50 hari, planlet dipindahkan ke luar rumah kaca dalam pot semen yang lebih besar berisi tanah.

### Pemeliharaan

- Perawatan yang dilakukan selama masa aklimatisasi antara lain: penyiraman tanaman dengan cara pengkabutan setiap 2-3 hari sekali, tergantung cuaca dan kondisi lengas media tanamnya.
- Pemupukan diberikan dengan dosis yang sangat rendah menggunakan NPK (16-16-16)
- 2 gr/liter air dengan cara disemprotkan melalui daun (*foliar application)*.
- Pengendalian OPT dapat dilakukan dengan penyemprotan fungisida dan pestisida menggunakan dosis yang sangat rendah disesuaikan dengan kondisi apabila terdapat tanda-tanda serangan saja.

## C. FAKTOR YANG MEMENGARUHI PROSES AKLIMATISASI PLANLET

Kultur jaringan tumbuhan mengacu pada pertumbuhan dan perbanyakan sel, jaringan dan organ tumbuhan pada media padat atau cair yang ditentukan dalam kondisi lingkungan aseptik dan terkontrol.

Mikropropagasi tanaman memungkinkan dihasilkannya produksi benih secara cepat dari bahan tanam berkualitas tinggi, bebas penyakit dan seragam terlepas dari musim dan cuaca.

Buku ini tidak diperjualbelikan.

Planlet saat dipindahkan ke kondisi ex vitro terpapar abiotik (suhu berubah, intensitas cahaya dan kondisi kelembaban) dan kondisi stres biotik yaitu mikroflora tanah, sehingga perlu aklimatisasi untuk keberhasilan pembentukan dan kelangsungan hidup planlet (Deb dan Imchen 2010). Untuk meningkatkan pertumbuhan dan mengurangi kematian planlet pada tahap aklimatisasi, penelitian difokuskan pada pengendalian kondisi lingkungan (baik fisik maupun kimiawi) dan menyesuaikan tanaman untuk bersaing dengan mikroflora tanah (Mathur et al. 2008).

## 1. Perubahan apa yang terjadi selama Aklimatisasi ?

Kematian yang tinggi diamati pada pemindahan planlet ke kondisi ex vitro karena selama tahap aklimatisasi planlet yang dikultur dari kondisi in vivo ke kondisi ex vitro di lapangan, akan menunjukkan terjadi beberapa perubahan, seperti:

- perubahan morfologi dan fisiologi tanaman yang dibudidayakan memiliki stomata yang tidak berfungsi, sistem akar yang lemah dan kutikula yang tidak berkembang dengan baik (Mathur et al. 2008).
- Planlet yang ditanam secara in vitro memiliki stomata yang besar dengan bentuk dan struktur yang berubah. Sel penjaga memiliki dinding sel yang lebih tipis dan mengandung lebih banyak pati dan kloroplas (Marin et al. 1988). Ticha dkk. (1999) menemukan bahwa aklimatisasi planlet tembakau ke kondisi ex vitro menurunkan kerapatan stomata dan juga mengubah ukuran dan morfologi stomata pada kedua sisi daun yang baru terbentuk.

Buku ini tidak diperjualbelikan.

- Planlet yang disuplai dengan fitohormon yang berlebihan menunjukkan kelainan pada morfologi dan anatomi dan disebut tumbuhan vitrifikasi atau tumbuhan hiperhidrich (Hronkova et al. 2003).
- Karakteristik fisiologis dan anatomis planlet mikro mengharuskan planlet secara bertahap menyesuaikan diri dengan lingkungan rumah kaca atau lapangan (Hazarika 2003).
- Pada banyak spesies tumbuhan, daun yang terbentuk secara in vitro tidak dapat berkembang lebih jauh dalam kondisi ex vitro dan digantikan oleh daun yang baru terbentuk (Preece dan Sutter 1991; Diettrich et al. 1992).

Selama aklimatisasi ke kondisi ex vitro, ketebalan daun umumnya meningkat, mesofil daun berkembang dalam diferensiasi menjadi palisade dan parenkim spons, kerapatan stomata menurun dan bentuk stomata berubah dari melingkar menjadi elips. Perkembangan kutikula, lilin epikutikular, dan regulasi transpirasi stomata yang efektif terjadi yang mengarah ke stabilisasi potensi air planlet yang dipindahkan ke lapangan.

## 2. Tekanan Abiotik dan Aklimatisasi

### Intensitas Cahaya

Plantlet yang tumbuh secara in vitro berada di bawah intensitas cahaya rendah (1.200–3.000 lux) dan suhu (25 ± 2°C), sehingga transfer langsung ke sinar matahari spektrum luas (4.000–12.000 lux) dan suhu (26–36°C) mungkin menyebabkan daun gosong dan layu planlet.

Oleh karena itu, perlu dibiasakan tanaman dalam kondisi alamiah melalui proses pengerasan atau aklimatisasi (Lavanya et

Buku ini tidak diperjualbelikan.

al. 2009). Wadah budaya dapat disimpan di rumah kaca dengan tutup yang longgar. Planlet tanaman mikro dapat dibiarkan di tempat teduh selama 3–6 hari di bawah cahaya alami yang menyebar agar menyesuaikan dengan kondisi lingkungan baru.

Ini membantu dalam semi-pengerasan tanaman dan mengarah pada pemanjangan tunas. Pemindahan *microshoot* dari kondisi in vitro ke ex vitro di bawah sinar matahari langsung dapat menyebabkan photoinhibition dan klorofil (Chl) photobleaching. Studi menunjukkan bahwa pemaparan planlet Calathea louisae dan Spathiphyllum floribundum ke radiasi tinggi segera setelah penanaman menyebabkan photoinhibition dan bahkan photobleaching CH (Van Huylenbroeck 1994; Van Huylenbroeck et al. 1995). Tidak ada photoinhibition yang ditemukan selama pertumbuhan di rumah kaca ketika planlet Nico-tiana tabacum diaklimatisasi dalam dua fase, pertama di rumah kaca (radiasi rendah 30-90 lmol m-2 s-1) dan kemudian di udara terbuka (200-1.400 lmol m-2 s-1) (Posp ´ıs˘ilova ´ et al. 1999).

Transfer in vitro ke ex vitro dapat menyebabkan penurunan sementara dalam parameter fotosintesis. Tingkat fotosintetik bersih pada tanaman Solanum tuberosum dan Spathiphyllum floribundum menurun pada minggu pertama setelah transplantasi dan meningkat setelahnya (Posp ´ıs˘ilova ´ et al. 1999). Setelah transplantasi, serapan 14CO2 oleh daun persisten Fragaria dan Rubus idaeus serupa dengan yang ada di planlet yang ditanam secara in vitro atau sedikit meningkat, dan serapan yang meningkat secara signifikan hanya ditemukan pada daun yang baru terbentuk (Deng dan Donnelly 1993). Hasil yang disebutkan di atas menunjukkan bahwa photoinhibition

Buku ini tidak diperjualbelikan.

mungkin menjadi penyebab penurunan fotosintesis sementara setelah transplantasi.

## 3. Kelembaban

Retardasi perkembangan kutikula, lilin epikutikular dan peralatan stomata fungsional selama kultur in vitro menyebabkan tingkat transpirasi stomata dan kutikula yang tinggi pada daun di planlet saat dikeluarkan dari pembuluh kultur. Untuk menghindari hal ini, planlet harus dipindahkan secara perlahan dari kondisi kelembaban tinggi ke kondisi kelembaban rendah. *Microshoot* harus disimpan di tempat teduh dengan sumbat dilonggarkan dan setelah satu atau dua minggu, mereka harus dipindahkan ke pot yang berisi campuran tanah dan pasir steril yang ditutup dengan polybag. Laju transpirasi stomata dan kutikula secara perlahan menurun karena regulasi stomata dari kehilangan air menjadi lebih efektif dan lilin kutikula dan epikutikular berkembang (Posp ´ıs˘ilova ´ et al. 1999).

Bahkan jika potensi air substrat lebih tinggi daripada potensi air media dengan sakarida, planlet dapat dengan cepat layu karena kehilangan air pada daunnya tidak dibatasi. Selain itu, suplai air dapat terbatas karena konduktivitas akar dan sambungan akar-batang yang buruk (Fila et al. 1998). Banyak planlet mati selama periode ini melaporkan bahwa pertumbuhan optimal dan pengerasan in vitro dari kembang kol dan krisan yang dibudidayakan terjadi ketika planlet dikultur pada kelembaban relatif 80%. Daun krisan dan bit gula, yang dimulai dan dikembangkan pada kelembaban relatif di bawah 100%, menunjukkan peningkatan lilin epikutikular, memperbaiki fungsi stomata dan mengurangi dehidrasi daun. (Ritchie et al. 1991).

Buku ini tidak diperjualbelikan.

## 4. Konsentrasi karbohidrat

Kebutuhan planlet untuk dapat memungkinkan pertumbuhan heterotrofik yang ditumbuhkan di dalam kondisi:

- wadah kultur
- pencahayaan yang rendah,
- pada media yang mengandung banyak gula dan nutrisi di atmosfer dengan
- tingkat kelembapan tinggi.

Laporan menunjukkan bahwa konsentrasi karbohidrat memengaruhi proses aklimatisasi karena planlet beralih dari pertumbuhan heterotrofik ke pertumbuhan autotrofik dan perlakuan apa pun sebelum dan sesudah transfer meningkatkan kapasitas fotosintesis tanaman, yang dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman (Wainwright dan Scrace 1989).

Konsentrasi sukrosa sebesar 40 g/l yang ditambahkan sebelum pemindahan selada air ke kondisi in vivo terbukti meningkatkan berat kering planlet yang terbentuk (Wainwright dan Marsh 1986). Bhatt dan Dhar (2000) melaporkan aklimatisasi dari *microshoot* Bauhinia vahlii. *Microshoot* yang telah di-root, yang telah dikondisikan sebelumnya dalam larutan sukrosa yang berbeda sebelum dipindahkan ke dalam campuran media pot, tidak meningkatkan persen kelangsungan hidup tetapi menghasilkan kualitas tunas yang lebih baik. Panjang tunas, segar, dan berat kering tunas secara signifikan lebih baik pada sukrosa 20 dan 30 g/l dibandingkan dengan kontrol. Sukrosa lebih tinggi dari 30 g/l mengurangi pertumbuhan tunas tanaman ex vitro. Silvente dan Trippi (1986) juga melaporkan bahwa sukrosa yang lebih tinggi dari 30 g/l menghambat tunas Anagalis arvensis.

Buku ini tidak diperjualbelikan.

## 5. Antitranpiran: Pengendalian Kelembaban

Antitranspiran perlu diaplikasikan pada planlet yang telah dihasilkan dengan berbagai tujuan pemakaian. Beberapa antitranspiran dapat membatu terhadap pengirangan efek negative pada tanaman sperti yang ditapilkan pada Tabel 5.1.

**Tabel 5.1.** Aplikasi Antitranspiran dan fungsionalnya

| Antitranpiran | Fungsi | |
|---|---|---|
| Alar (B-9) | mempertahankan ketahanan stomata | Amaregouda dkk. (1994) |
| fenilmerkurik asetat (PMA) (20 ppm), | | |
| Alachlor (20 ppm) dan bubuk silika (6% w/v) | | |
| Sunguard (0.02%) | | |
| China clay (6% w/v) | | |
| Aquawiltless, | Pembentuk film dan pengurangan layu pada planlet | Contoh pada Chrysanthemum morifolium dan Dianthus caryophyllus |
| DC-200 | Terbaik mengurangi untuk transpirasi tetapi mempunyai efek buruk untuk pertumbuhan | |
| paclobutrazol (0,5–4 mg/l) | mengakibatkan berkurangnya stomata, peningkatan lilin epikutikular, batang pendek dan akar menebal. | Smith dkk. (1990a, b, 1991) |
| | Paclobutrazol efektif dalam menghambat pertumbuhan tunas dan mengatur berbagai proses metabolisme pada pohon apel. | |

Buku ini tidak diperjualbelikan.

## 6. Asam Absisat (ABA) dan Asam Askorbat salam Aklimatisasi *Microshoot*

Asam absisat (ABA), tumbuhan alami hormon penting untuk pertumbuhan dan perkembangan tanaman, memainkan peran penting dalam keseimbangan air tanaman dan dalam adaptasi tanaman terhadap lingkungan stress termasuk suhu rendah (Hetherington 2001; Finkelstein dan Gibson 2002). Itu diangkut melalui xilem ke pucuk, di mana ia mengatur transpirasi kehilangan air dan pertumbuhan daun (Hronkova et al. 2003).

Berbagai tekanan menyebabkan sintesis ABA dan memang begitu dianggap sebagai hormon stres tanaman (Tuteja 2007). Adie dkk. (2007) menunjukkan bahwa ABA merupakan hal yang esensial sinyal untuk resistensi tanaman terhadap patogen yang memengaruhi biosintesis asam jasmonic (JA) dan aktivasi pertahanan di Arabidopsis. Peran asam absisat pada toleransi terhadap cekaman abiotik juga telah dipelajari oleh Aguilar dkk. (2000) di Tagetes erecta dalam pengendalian kehilangan air daun, kelangsungan hidup dan pertumbuhan *microshoots*.

## 7. Aklimatisasi

Namun, keterbatasan utama dalam aplikasi skala besar dari teknologi ini adalah kematian yang tinggi yang dialami oleh tanaman mikro selama atau setelah pengalihan lahan ke laboratorium.

Aklimatisasi adalah cara melatih tanaman yang berasal dari kondisi steril ke kondisi lingkungan yang alami. Aklimatisasi dapat dilakukan dengan cara: mencuci planlet sehingga sisa-sisa 'agar' yang menempel pada akar habis, kemudian menanam planlet pada pasir steril dalam gelas/pot plastik. Tanaman

Buku ini tidak diperjualbelikan.

tersebut kemudian diletakkan pada tempat yang memiliki kelembapan tinggi dan teduh. Selanjutnya secara perlahan-lahan dipindahkan ke tempat dengan kelembapan lebih rendah, dan akhirnya pada kondisi alami.

Penelitian tentang kultur jaringan rami belum banyak dilakukan, tetapi beberapa peneliti telah berhasil memperbanyak tanaman rami dengan menggunakan bahan tanaman (eksplan) yang berbeda. Di Cina, telah dihasilkan tanaman rami melalui kultur jaringan dengan eksplan anter (Jianhua et al., 1989).

Regenerasi tanaman rami melalui kultur jaringan telah dilakukan dengan menanam stek satu buku pada media MS + 0,5 mg/l BAP + 2 mg/l 2-iP (Mariska et al., 1997). Di Balittas telah dilakukan perbanyakan tanaman rami dengan menggunakan eksplan tunas pucuk dari kecambah biji.

Buku ini tidak diperjualbelikan.

# BAB VI

## Kontaminan pada Kultur Jaringan Rami

Tujuan akhir dari kultur jaringan adalah untuk mengembangkan tanaman dengan kultur murni (axenic). Pengaruh endofit mikroorganisme dalam hal kultur jaringan tanaman biasanya dianggap sebagai kontaminan khususnya mikroorganisme endofit yang mengakibatkan gangguan pada pertumbuhan eksplan. Kendala kultur jaringan akibat kontaminasi tersebut mengakibatkan hilangnya waktu, media, dan eksplan secara total, yang terkadang mungkin dari beberapa spesies langka dan terancam punah yang perlu dilestarikan dengan teknik kultur jaringan. Pada Bab ini akan disampaian gambAran umum tentang endofit mikroorganisme, agen desinfeksinya dan keberadaan mikroganisme endofofit yang tumbuh pada rami.

***

Buku ini tidak diperjualbelikan.

## A. ENDOFITIK MIKROORGANISME

Beberapa tahun terakhir telah terlihat banyak minat di antara mereka peneliti dalam studi tentang mikroorganisme endofit, berkat metode isolasi dan identifikasi yang lebih mudah dengan biologi molekuler.

Komposisi spesies endofit dan genotipe tanaman serta kondisi kultur jaringan merupakan faktor kunci untuk memperoleh kultur jaringan tanaman dengan kapasitas regenerasi yang tinggi. Interaksi antara endofit dan senyawa sekunder spesifik mungkin menjadi faktor penting untuk pencokelatan dan kematian sel pada kalus pinus Skotlandia [19]. Para peneliti ini memeriksa kalus hijau, cokelat muda, dan cokelat tua oleh TEM sehubungan dengan keberadaan sel mikroba di jaringan. Sel mikroba ditemukan lebih sering dalam sel jaringan cokelat daripada di jaringan hijau yang tumbuh dengan baik, yang menunjukkan bahwa endofit dapat terlibat dengan pencokelatan dengan menginduksi penuaan dan pelepasan tanin dalam jaringan atau bahwa endofit mengambil alih jika tidak, menua jaringan kalus.

Kultur jaringan tanaman, yang biasanya menggunakan meristem, yang dianggap sebagai bagian steril dari setiap tanaman, telah memberikan banyak referensi tentang keberadaan mikroba di jaringan ini [96-98]. Penghapusan endofit ini dengan demikian menjadi tujuan utama untuk mengembangkan tanaman aksenik selama kultur jaringan. Banyak protokol yang telah dikembangkan oleh banyak peneliti untuk mengatasi masalah ini.

Buku ini tidak diperjualbelikan.

Beberapa tahun terakhir telah terlihat banyak minat di antara para peneliti dalam studi tentang mikroorganisme endofit, berkat metode isolasi dan identifikasi yang lebih mudah dan alat biologi molekuler terkini. Banyak senyawa bioaktif yang bermanfaat untuk farmasi, lingkungan, pertanian, dan industri diproduksi oleh endofit. Karena pentingnya tanaman/manusia/lingkungan, para ilmuwan telah mulai mengeksploitasinya untuk senyawa baru dan peran baru bagi lingkungan dan manusia. Menjadi masuk akal untuk meninjau pencapaian masa lalu di bidang penelitian endofit, membuka peluang yang lebih luas bagi komunitas ilmiah.

Endofit dapat berupa bakteri atau jamur atau aktinomiset. Dalam ulasan ini, kami telah sampai sebagian besar aktinomiset yang terlibat dalam produksi senyawa penting secara farmasi di dalamnya tanaman. Secara umum, jamur terlibat dalam peran fitoremediasi, biodegradasi, dan siklus hara dan dengan demikian mengurangi beban kotoran di lingkungan dengan cara yang lebih baik. Pada umumnya, komunitas bakteri endofitlah yang membantu tanaman dalam pertumbuhan yang lebih baik dengan memproduksi hormon pertumbuhan yang berbeda. Penerapan berbagai alat bioteknologi inovatif akan membantu dalam memperkuat pemahaman tentang interaksi tanaman-endofit, menghasilkan senyawa bioaktif baru, meningkatkan pertumbuhan tanaman, dan meningkatkan aktivitas biokontrol, mengurangi puing-puing dan limbah lain yang sebaliknya berbahaya bagi ekosistem . Mempertimbangkan semua ini, pastinya endofit telah terbukti bermanfaat dan meninggalkan dampak baik pada tumbuhan, lingkungan, dan juga manusia dalam beberapa kemungkinan cara.

Buku ini tidak diperjualbelikan.

Eksplorasi endofit berturut-turut dilakukan di berbagai habitat lingkungan, seperti habitat tropis, beriklim, arktik atau xerik dan dari beragam inang garis keturunan, seperti lumut, pakis, angiospermae dan gymnospermae (Solis, Yurkov, Cruz, & Unterseher, 2015). Sebagian besar tanaman diketahui mengandung mikroba endofit, oleh karena itu endofit berdampak langsung pada ekologi tanaman dan kelangsungan hidup tanaman, kesehatan tanaman dan evolusi, serta struktur komunitas. Misalnya, produksi metabolit sekunder yang terinfeksi mikroba endofit yang jelas membuat resistensi terhadap mikroba patogen (Solis et al., 2015).

Potensi farmakologis yang dimiliki oleh satu jenis tumbuhan sangat mungkin disebabkan karena asosiasi mutualistik dengan mikroorganisme endofit (Murdiyah, 2017). Mikroorganisme endofit di dalam bagian tanaman dapat terdiri atas bermacam mikroorganisme seperti bakteri dan fungi (Murdiyah, 2017). Kemampuan mikroba endofit dalam memproduksi senyawa berkhasiat farmakologis dapat menjadi sebuah peluang untuk memproduksi senyawa dalam skala besar dalam waktu yang relatif singkat (Jamilatun, 2019) Selain itu, kelebihan lain penyediaan senyawa oleh mikroba endofit dapat dilakukan setiap saat, berbeda dengan penyediaan senyawa oleh tumbuhan yang tidak dapat dilakukan setiap saat karena pertumbuhan tanaman yang relatif lambat. Oleh sebab itu, penelitian-penelitian untuk mengeksplorasi keanekaragaman jenis serta kandungan zat bioaktif yang diproduksi oleh mikroba endofit khususnya dalam jaringan tanaman perlu dilakukan (D. Pratiwi, 2019). Isolasi dan identifikasi merupakan langkah awal untuk mendeteksi keberadaan mikroba endofit dalam suatu tanaman mutualisme atau komensalisme.

Buku ini tidak diperjualbelikan.

Pemilihan tumbuhan inang akan memengaruhi keunikan dan aktivitas biologis produk yang dihasilkan oleh mikroba endofit tersebut (Yati, Sumpono, & Candra, 2018). Salah satu strategi dalam pemilihan tanaman inang untuk diisolasi endofitnya adalah tanaman yang memiliki sejarah etnobotani (digunakan oleh penduduk lokal untuk pengobatan) (Anwar & Futra, 2019) atau tanaman yang telah diketahui memiliki potensi seperti rami.

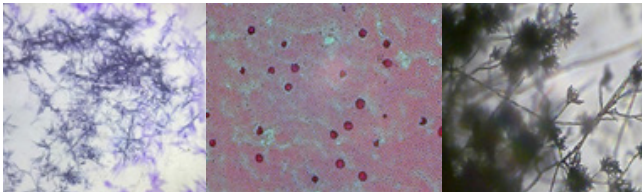
Rami merupakan tanaman yang tumbuh di daerah tropis dan subtropis. Rami *(Boehmeria nivea*), tumbuhan dari famili Urticaceae didistribusikan secara luas di banyak daerah beriklim lembab seperti Korea, Jepang, Cina, India, dan Indonesia, dan di korea biasa disebut sebagai rumput cina, rami putih, rami hijau, dan rhea adalah salah satu serat alami yang paling berharga (Taylor et al., 2012). Tumbuh di Cina selama berabad-abad, dan para petani di Tiongkok kuno diketahui menggunakan serat tersebut untuk menenun pakaian dan untuk keperluan lain seperti membungkus mumi di Mesir karena resistensi rami terhadap bakteri dan jamur yang baik sehingga cocok dijadikan sebagai pembungkus mumi (Maideliza, Mayerni, & Rezki, 2017).

Rami *(Boehmeria nivea)* merupakan salah satu tanaman yang diversitas mikroba endofit-nya belum diketahui. Oleh sebab itu, penelitian-penelitian untuk mengeksplorasi keanekaragaman jenis serta kandungan zat bioaktif yang diproduksi oleh mikroba endofit dalam jaringan tanaman perlu dilakukan. Beberapa isolate jamur dan ragi dominan sudah dikaji oleh Erin, dkk (2020).

Berdasarkan hasil riset, dapat disimpulkan bahwa didapatkan total 25 isolat dan telah teridentifikasi 6 isolat sebagai kelas *Actinomycetes*, 4 isolat ragi dan 15 isolat fungi cendawan

Buku ini tidak diperjualbelikan.

teridentifikasi sebagai *Penicillium* sp., *Helicocephalum* sp., *Aspergillus* sp., *Acremonium* sp., *Didymostible* sp., *Oidiodendron* sp., *Phytohtora* sp., dan *Zopfiella* sp.



**Gambar 6.1** Morfologi mikroorganisma endofitik pada rami: (A) aktinomiset, (B) ragi, dan (C)cendawan (Foto: Erin, 2020)

## B. ENDOFIT PADA KULTUR JARINGAN

(Nair & Padmavathy, 2014) Bermanfaat bagi tanaman inang dalam banyak hal seperti yang telah dibahas sebelumnya bagian dari ulasan ini. Tetapi jika menyangkut kultur jaringan tanaman itu biasanya dianggap sebagai kontaminan. Tujuan utamanya kultur jaringan untuk mengembangkan tanaman axenic. Padahal kita sterilkan permukaan eksplan yang akan digunakan untuk kultur jaringan, setelah beberapa hari, bakteri atau jamur atau aktinomiset atau semuanya dari mereka mulai tumbuh dari jaringan atau eksplan yang dikulturkan.

Kontaminan ini tidak lain adalah mikroba endofit mengakibatkan hilangnya waktu, media, dan eksplan, yang terkadang mungkin dari beberapa spesies langka dan terancam punah yang perlu dilestarikan dengan teknik kultur jaringan.

Komposisi spesies endofit dan genotipe tumbuhan bersama dengan kondisi kultur jaringan adalah faktor kunci untuk mendapatkan kultur jaringan tanaman dengan kapasitas regenerasi yang tinggi.

Buku ini tidak diperjualbelikan.

Interaksi antara endofit dan sekunder spesifik senyawa mungkin menjadi faktor penting untuk pencokelatan dan sel kematian di kalus pinus Skotlandia [19]. Peneliti ini meneliti kalus hijau, cokelat muda, dan cokelat tua oleh TEM dengan menghormati keberadaan sel mikroba di jaringan. Itu sel mikroba lebih sering ditemukan dalam sel jaringan cokelat daripada di jaringan hijau yang tumbuh dengan baik, yang menunjukkan bahwa endofit bisa terlibat dengan pencokelatan dengan mendorong penuaan dan pelepasan tanin dalam jaringan atau yang diambil alih oleh endofit jika tidak, menua jaringan kalus. Kultur jaringan tanaman, yang umumnya memanfaatkan meristem, yang dianggap bagian steril dari tanaman apa pun, miliki Namun mengingat banyak referensi tentang keberadaan mikroba di jaringan ini [96-98]. Eliminasi endofit ini dengan demikian menjadi tujuan utama untuk mengembangkan tanaman axenic selama kultur jaringan. Banyak protokol telah dikembangkan oleh banyak orang peneliti untuk mengatasi masalah ini.

Buku ini tidak diperjualbelikan.

# BAB VII

# ANALISIS KEBUTUHAN BENIH RAMI BERKUALITAS

Dengan kemajuan yang dibuat dalam teknik kultur jaringan tanaman, kini memungkinkan untuk meregenerasi tanaman rami secara kultur jaringan dalam rangka memenuhi komplemen jumlah benih secara skala besar. Perbanyakan klonal dan pelestarian genotipe elit dari asesi rami dipilih untuk benih superior dengan kebutuhan derajat keseragaman genetik yang tinggi di antara tanaman yang beregenerasi. Bab ini menganlisis kebutuhan benih invitro yang dibutuhkan dengan kendala-solusi yang perlu ditindaklanjuti dalam rencana suplai benih in vitro tanaman rami.

***

Buku ini tidak diperjualbelikan.

# A. KEBUTUHAN BENIH RAMI

## 1. Proyeksi Kebutuhan Serat Alam Rami

Komoditas rami sudah masuk dalam rencana produksi skala nasional yang diprioritaskan untuk menyuplai bahan baku tekstil. Proyeksi kebutuhan serat rami dapat digambarkan berdasarkan kebutuhan Indonesia akan serat kapas adalah sekitar 99,2 % yang dapat dipenuhi dari impor. Data kebutuhan Indonesia terhadap komoditas kapas adalah minimal sebanyak 700 ribu ton/tahun (Kemenperin, 2012), maka diperlukan serat rami dengan jumlah tersebut untuk menjadi alternatif untuk suplai bahan baku tekstil yang dapat diproduksi secara lokal.

Produktivitas lahan rami secara optimal dapat menghasilkan serat sekitar $\pm$ 40-50 ton/ha/th. Dengan mengukur kapasitas produksi dan kesiapan manufaktur serat dan benang rami sampai lima tahun yang akan datang, dapat diasumsikan akan mampu untuk dapat menyubstitusi sekitar 30% (produksi serat bersih $\pm$ 200.000 ton/th) sebagai kebutuhan kapas dalam negeri.

Produksi serat rami sebanyak itu memerlukan persiapan luas lahan minimal sekitar 100.000 ha. Saat ini keberadaan lahan rami seluas $\pm$ 20 ha yang secara sistematis terkelola sebagian besar dapat dijalankan untuk kegiatan bisnis serat alam adalah hanya ada di daerah Kalikajar, Wonosobo , Jawa Tengah dan lahan kecil percobaan di Wilayah Sumedang Jawa Barat (Gambar 6.1).

Buku ini tidak diperjualbelikan.

**Gambar 7.1** Lahan rami di daerah Wonosobo
(Foto: Sembara, 2020)

Berdasarkan situasi saat ini, untuk ketersediaan lahan rami dengan target produksi serat rami sekitar 200.000 ha adalah masih sekitar 0,02%. Masih diperlukan upaya yang besar untuk penyediaan lahan-lahan produksi serat yang ada sebagai upaya pemenuhan suplai serat sampai lima tahun ke depan.

Jumlah rizoma per rumpun bisa mencapai 10 buah bahkan lebih bergantung pada umur tanaman. Rizoma yang beruas-ruas memiliki banyak mata tunas yang dapat tumbuh menjadi tunas anakan baru sebagai sistem perbanyakan tanaman. Kelebihan ini dimanfaatkan oleh petani sebagai cara yang paling mudah untuk perbanyakan tanaman.

## 2. Kebutuhan Benih untuk Budi Daya Rami

Proyeksi kebutuhan benih dengan kebutuhan lahan seluas 100.000 ha dapat diperhitungkan dengan analisis kebutuhan seperti:

Buku ini tidak diperjualbelikan.

- Kebutuhan rami kira-kira 8-10 kuintal/ha dengan ukuran stek rimpang berukuran 10 sampai 15 cm.
- Kebutuhan benih tanaman rami sangatlah di pengaruhi oleh faktor luas tanam, jarak tanaman dan jenis varitas yang di gunakan.
- penentuan kebutuhan benih perlu di lakukan demi efisensi penyiapan benih yang disediakan.
- kebutuhan benih tergantung pada luas lahan yang ditanam, populasi tanaman per Ha, bobot /ukuran biji pada umumnya jumlah benih yang digunakan antara 18-19 per Ha dengan jarak tanam 30 x 75 cm.

Berdasarkan kebutuhan benih seluas 100.000 ha. dengan menggunakan asumsi kapasitas pemenuhan suplai benih konvensional dari rimpang hanya sekitar 10% (1000 ha), maka untuk memenuhi lahan seluas perhitungan berdasarkan analisis sebagai berikut:

- untuk memenuhi luas lahan per hektare diperlukan sekitar 10 kuintal atau 1000 kg/ha rimpang. Untuk 1000 ha diperlukan $10^6$ kg rimpang (1000 kuintal);
- Pada umunya kemasan penyediaan benih rami tersedia dalam kotak dengan total berat rata-rata 12,5 kg yang dapat berisi rata-rata 1000 batang benih rimpang dengan ukuran rata-rata diameter batang rimpang sekitar 9 mm;
- Berdasarkan hal tersebut , maka untuk kebutuhan luas 1000 ha; akan dibutuhkan sebanyak 80 juta batang benih rimpang;

Buku ini tidak diperjualbelikan.

- Biasanya jumlah rimpang yang diperoleh dari satu hektare tanaman umur 2-4 tahun dapat memenuhi kebutuhan lahan baru seluas $\pm$ 20 hektar;
- Harga benih rami per rimpang dapat dihargai Rp 1000,00/ rimpang, sehingga untuk pemenuhan bibit sebanyak 80 juta batang diperlukan biaya sebesar Rp 8 M.
- bila kapasitas produksi bibit dipersiapkan untuk rizome dapat dipenuhi 10% nya, maka perlu perencanaan benih dari kultur jaringan sebanyak 90% atau sekitar benih invitro yang harus diproduksi dari sistem kultur jaringan.

## B. KUALITAS MUTU BENIH

Berkaitan dengan persyaratan mutu benih bersertifikat, pemerintah telah memiliki Undang- Undang No. 12 Tahun 1992 tentang Sistem Budi Daya Tanaman, dan Peraturan Pemerintah No. 44 Tahun 1995 tentang Perbenihan Tanaman. Dengan demikian pada pengembangan rami yang akan datang perlu diperhatikan bahwa:

1. bibit yang digunakan direkomendasikan menggunakan benih varietas unggul yang sudah bersertifikat;
2. Varietas Ramindo 1(nama lama Pujon 10) adalah jenis yang telah tersertifikasi sebagai rekomendasi varietas untuk ditanam di Indonesia. Jenis ini terbukti keunggulannya hasil penelitian memberikan produktivitas serat yang tinggi 2-2,7 ton/ha/tahun (Ruly

Praktek perbanyakan melalui rimpang memastikan tunas yang baik, kemurnian klonal dan ekonomis. Jumlah rimpang

Buku ini tidak diperjualbelikan.

yang diperoleh dari suatu satuan luas tergantung pada umur tanaman dan varietasnya.

> *"Di Indonesia, beberapa klon rami telah diteliti produktivitasnya. Klon Ramindo 1, saat ini paling banyak digunakan untuk dibudidayakan oleh petani dan industri rami. Klon ini sudah dalam status perlindungan HKI, 2006 (Balittas, 2015)."*

## Karakteristik Varietas Ramindo 1

Sebagai varietas unggulan pada tanaman rami, karakteristik Ramindo 1 (Gambar 7.1) dapat dicirikan sebagai berikut:

- asal varietas adalah Pujon di Malang;
- tipe pertumbuhan: semi determinate;
- warna batang: hijau; warna daun permukaan atas: hijau;
- warna pucuk daun: merah;
- bentuk daun: *cordate* (jantung);
- warna bunga jantan: hijau; warna bunga betina: merah muda;
- umur mulai berbunga: 20-30 hari setelah pangkas;
- tinggi tanaman 190-255 cm;
- diameter batang: 11-13 cm;
- jumlah batang per rumpun : 12-17;
- umur panen serat: 2 bulan;
- berat serat kering/ tanaman: 4-5 gram; produktivitas serat/ ha/tahun: 2-2,7 ton;

Buku ini tidak diperjualbelikan.

- rendemen serat: 3-4%;
- kualitas serat: baik;
- Batangnya akan berubah cokelat dan berkayu bila bila berkembang menjadi dewasa.
- Tanaman ini menghasilkan banyak ereksi batang atau batang ramping, tidak bercabang dan tumbuh dari 4 hingga 7 daun yang berwarna putih keperakan di bawahnya;

**Gambar 7.2** Tanaman rami Varietas Ramindo 1
(*Sumber: Purwati, D.A dan Sujindro*)

- kelompok bunga kecil kehijauan, berukuran mulai dari 8 hingga 16 mm diameter.
- kesesuaian daerah: dataran rendah, tinggi, dan lahan gambut (Litbang Perkebunan, diakses 2014).

## C. KENDALA DAN PENGENDALIANNYA DALAM KULTUR JARINGAN RAMI

### 1. Mortalitas Planlet dan Pengendaliannya

Kendala utama dalam penyiapan benih invitro dalam secara kultur jaringan adalah tingginya mortalitas planlet muda bila

Buku ini tidak diperjualbelikan.

mulai dipaparkan pada kondisi tanah baru. Kondisi sensitif terutama pada sistem akar di dalam tanah karena mereka tidak memiliki ketahanan yang cukup terhadap mikroflora tanah.

Efek endofit mengacu pada mikroorganisme bawaan yang telah disterilkan pada tahap awal persiapan eksplan tidak dapat membantu dalam proses pertahanan tanaman, telah disterilkan Kondisi tanah dengan variasi mikroorgnisma asing akan dapat menjadikan stress lingkungan bagi planlet muda.

Pengendalian motalitas dapat dilakukan dengan cara:

a) Biotisasi

Kultur bersama eksplan jaringan tanaman secara in vitro dengan bakteri dan mikoriza arbuskular vesikuler menginduksi perubahan perkembangan dan metabolisme pada planlet turunan yang meningkatkan toleransi terhadap cekaman abiotik dan biotik.

Respon resistensi tanaman terhadap perubahan awal selama adaptasi yang disebabkan oleh inokulan disebut sebagai '' biotisasi". Hao et al. (2010) melaporkan bahwa pengobatan sel suspensi Ginkgo biloba dengan endofit jamur mengakibatkan akumulasi flavonoid, peningkatan produksi ABA dan aktivasi fenilalanin amoniailase.

Bakteri yang berasosiasi dengan akar dan rizosfer dari banyak spesies tanaman juga dikenal sebagai rhizobakteri pemacu pertumbuhan. (Ramamoorthy et al. 2001). Sebagian besar bakteri ini termasuk dalam genus Bacillus dan Pseudomonas yang berkembang biak di sekitar jaringan dan juga di dalam jaringan tanaman dalam lingkungan seragam yang bebas dari fluktuasi suhu dan kondisi kelembaban.

Buku ini tidak diperjualbelikan.

b) Kolonisasi isolat endofit rami diinduksikan untuk Kolonisasi endofit pada tanaman kultur jaringan padi (Oryza sativa L.) (Gbr. 1) dengan menggunakan rhizobia telah dipelajari oleh Senthilkumar et al. (2008). Kalus yang diobati dengan Azorhizobium cauliodans strain ORS571 dan AA-SK-5 menunjukkan kolonisasi di hampir semua bagian tanaman dengan peningkatan yang signifikan dalam kandungan protein, total nitrogen dan aktivitas nitrogenase. Planlet hasil regenerasi menunjukkan korelasi positif dalam hasil dibandingkan kontrol yang tidak diinokulasi. Ini juga melindungi tanaman aksenik muda dari infestasi saprofit berbahaya (Pandey et al. 2000).

c) Mikorisasi

Kemampuan bakteri rhizosfer mampu meningkatkan fungsional tanah. Studi kasus tentang pentingnya mikorisa yang dapat meningkatkan kualitas tanah disampaikan sebagai berikut:

- Beberapa bakteri seperti Bacillus subtilis, Bacillus sp. Pseudomonas corrugata 1 dan P. corrugata 2 diuji sebagai inokulan mikroba untuk pertumbuhan tanaman teh dari kultur jaringan. Hasil kajian menunjukkan isolat bakteri cepat mendominasi tanah dan memengaruhi kelangsungan hidup dan pertumbuhan tanaman teh terutama panjang pucuk dan jumlah daun pada banyak kasus (Pandey et,al (2000);
- inokulasi mikroshoots Picrorhiza kurrooa oleh tiga tanaman pemacu pertumbuhan rhizobacteria (Bacillus megaterium, B. subtilis dan Pseudomonas corrugata) efektif dalam meningkatkan kelangsungan hidup tanaman setelah dipindahkan ke tanah. Kelangsungan

Buku ini tidak diperjualbelikan.

hidup maksimum (94,5%) diamati pada tanaman yang diinokulasi dengan B. megaterium (Trivedi dan Pandey (2007).

Mikorisasi jaringan tanaman yang dibudidayakan memberikan keuntungan dalam hal ketersediaan hara, pH tanah, aerasi dan perlindungan dari tekanan air. Kajian mendalam tentang aspek mikorisa tanaman rami seharusnya dapat dilakukan untuk dapat menjamin proses aklimtasisasi dan kestabilan pertumbuhan planlet muda dari dari hasil kultur jaringan.

## 2. Keterjaminan Keseragaman Genetik

Sistem penyediaan benih rami dengan rizoma secara konvensional memiliki keterbatasan terutama akan muncul variatas genetik yang kompleks. Tahap inisiasi dan konfirmasi kepastian sumber daya genetik rami tidak memastikan kesetiaan genetik dari progeni yang dibesarkan secara in vitro yang terdiri atas morfofisiologis, pendekatan biokimia dan sitologi.

Regenerasi planlet perlu direproduksi dengan meristem menggunakan eksplan nodal dengan huruf besar potensi meristematic dari meristem ketiak menjadi mengembangkan tanaman rami mikropropagasi in vitro en massal dan konfirmasi sifat asli mereka melalui tes kesetiaan klonal (*Clonal fidelity)*.

Perbanyakan klonal dan pelestarian genotipe asesi tanaman rami yang dipilih untuk menjadi karakteristik yang akan dikembangkan membutuhkan derajat keseragaman genetik yang tinggi di antara tanaman yang beregenerasi. Jika terjadi variasi somaklonal merupakan kelemahan baik untuk kloning in vitro maupun pengawetan plasma nutfah. Oleh karena itu,

Buku ini tidak diperjualbelikan.

ini dari kesetiaan klonal diantara planlet yang tumbuh perlu dievaluasi sebagai langkah signifikansi yang sangat besar untuk memastikan keseragaman genetik tanaman yang dibudidayakan secara in vitro pada tahap awal.

Saat ini, berbasis DNA penanda molekuler untuk pendekatan ini terutama didasarkan pada karakter, yang dapat dipengaruhi oleh manipulasi in vitro, lingkungan dan jenis jaringan tumbuhan; karenanya tidak mudah untuk membedakan ketepatan klonal dengan probabilitas tinggi. Penerapan berbasis DNA tersebut penanda menawarkan beberapa keunggulan dibandingkan penanda tradisional yang disebutkan di atas, karena mereka menyediakan data yang dapat dianalisis secara objektif.

Kemajuan dalam kultur jaringan seperti pembiakan cepat, kultur protoplas dan kultur sel suspensi, kultur anther, embriogenesis somatik dan organogenesis bahkan sudah masuk ketahap transformasi genetic.

Pada produksi skala besar, ada baiknya jika hasil kultur jaringan melalui proses *clonal fidelity* untuk mengetahui bahwa tumbuhan yang dihasilkan aman secara genetik untuk diproduksi dan bagi lingkungan. Proses *clonal fidelity* dilakukan dengan cara menggandakan RNA yang ada dari tumbuhan yang nantinya susunan polipeptida tumbuhan tersebut akan dicek kesamaannya dengan genetik tumbuhan donor melalui kesamaan dengan data gene bank(Sut et al., 2004).

Buku ini tidak diperjualbelikan.

# BAB VII
# PENUTUP

Potensi Indonesia untuk dapat menjadi negara yang berjaya dalam pembangunan ekonomi dengan perolehan devisa ekspor, penyerapan tenaga kerja, dan penyediaan sandang di dalam negeri dari segi Industri tekstil dan produk tekstil (TPT) perlu didukung dengan strategi pengadaan bahan serat alam selain kapas. Strategi PRN pada periode Tahun 2020-2024 salah satunya merencanakan ketersediaan tekstil berbahan baku rami. Namun sebagai negara produsen TPT yang cukup besar perlunya upaya yang besar dalam startegi di sisi hulu dalam budi daya tanaman rami pada skala besar.

Teknologi kultur jaringan pada rami dapat bermanfaat untuk transformasi genetic rami sehingga dapat diproyeksikan untuk kebutuhan sebagai berikut perbaikan serat, ketahanan stres (kekeringan, garam, herbisida, logam berat), penyakit/ resistensi serangga.

Beberapa aspek terkait pengadaan benih rami memiliki beberapa kelemahan seperti: ukuran benih rami generatif yang sangat kecil dengan tingkat perkecambahan yang sangat rendah,

Buku ini tidak diperjualbelikan.

karena itu penerapan benih tidak cocok untuk untuk budidaya skala besar. Secara konvensional, budidaya rami diperbanyak melalui rimpang atau stek batang dengan keterbatasan luas lahan produksi benih dan waktu simpan pendek dan tingkat pembangunan lapangan yang rendah. Pengadaan bibit secara konvensional perlu didampingi dengan teknologi pengadaan bibit secara invitro dengan mengadakan perbanyakan tanaman rami melalui kultur jaringan.

Strategi jangka panjang untuk memungkinkan suplai benih dengan skala besar menggunakan bioteknologi kultur jaringan memerlukan beberapa konsekuensi di awal kegiatan, terutama system pengadaan labarorium produksi yang memadai, investasi pendanaan untuk proses riset agar menghasilkan formulas atau metode yang mapan dalam menghasilkan planlet yang berkualitas. Upaya pencapaian standarisasi kualitas produk rami di sisi hilir terutama untuk menjadi produksi industri, memerlukan keterjaminan mutu serat dari sumber benih yang sudah direkomendasikan. Rekomendasi varitas rami adalah Klon atau asesi Ramindo 1 yang sudah dalam mutu benih bersertifikat.

Beberapa kajian yang mendasari produksi planlet dari tanaman rami pernah dilakukan sebelumnya. Banyak studi mengekspos planlet yang dikembangkan secara in vitro memberikan banyak peluang juga problema yang masih harus terus dikembangkan. Kendala dalam produksi planlet adalah potensi kontaminasi akibat mikroorganisme endofit tanaman dan tingginya mortalitas planlet muda selama proses aklimatisasi di tanah perlu ditangani dengan biotisasi. Tantangan ini menyangkut keberadaan mikroorganisme endofit tersebut untuk dikembangkan dalam target mikrob

Buku ini tidak diperjualbelikan.

yang harus disterilkan; yang dapat dijadikan sebagai induser bagi pertumbuhan tanaman; bahkan untuk pemanfaatan metabolitnya untuk berbagai aplikasi dalam bioteknologi.

Endofititik tanaman rami yang telah diketahui lebih didominansi oleh cendawan, ragi, dan aktinomiset. Dalam ulasan ini, kami telah sampai pada kesimpulan bahwa sebagian besar mikroorganisme endofit rersebut perlu dikoleksi sebagai kultur koleksi untuk penerapan inovatif yang berbeda secara bioteknologi dalam membantu memperkuat pemahaman interaksi tumbuhan-endofit, memproduksi senyawa bioaktif baru, meningkatkan pertumbuhan tanaman, dan meningkatkan aktivitas biocontrol. Peluang untuk menghasilkan bahan metabolit yang dapat dijadikan anti mikroba atau produksi senyawa penting secara farmasi fitoremediasi, biodegradasi, dan siklus hara yang perlu direkayasa untuk membantu tanaman dalam pertumbuhan yang lebih baik.

Dengan kemajuan yang dibuat dalam teknik kultur jaringan tanaman, memungkinkan untuk meregenerasi tanaman rami secara in vitro sebagai protokol mikropropagasi untuk perbanyakan skala komersial. Perbanyakan klonal dan pelestarian genotipe dipilih untuk aksesi rami yang superior dengan derajat keseragaman genetik yang tinggi di antara tanaman yang beregenerasi. Beberapa strategi perlu dilakukan dan diikuti untuk memastikan kesetiaan genetik dari progeni yang dibesarkan secara in vitro yang terdiri atas morfofisiologis, pendekatan biokimia dan sitologi. Selain kebutuhan secara kualitas sumber rami secara kualitas perlu diketahui target produksi benih secara kuantitatif. Pertimbangkan kapasitas produksi sarana dan prasarana dan ketersediaan lahan menjadi hal peniting untuk dianalisis dalam menyiapkan benih baik secara konvensional dengan rimpang.

Buku ini tidak diperjualbelikan.

# GLOSARIUM

| | | |
|---|---|---|
| Auksin | : | senyawa hormon pertumbuhan tanaman, ditemukan pada ujung batang, akar, dan pembentukan bunga yang berfungsi sebagai pengatur pembesaran sel dan memicu pemanjangan sel di daerah belakang meristem ujung. |
| Biotisasi | : | Biotisasi adalah respons metabolik tanaman yang ditanam secara in vitro dengan bahan inokulan mikroba, yang mengarah ke perkembangan. dan perubahan fisiologis yang meningkatkan resis stres biotik dan abiotik |
| China grass | : | Serat rami atau tanaman rami |
| Clonal fidelity | : | Teknik analisis kestabilan genetic dari mikropropagasi |

Buku ini tidak diperjualbelikan.

| | | |
|---|---|---|
| Endofit | : | Mikroorganisme yang hidup di dalam bagian tumbuhan dan bersimbiosis dengan inang tumbuhannya dengan menghasilkan metabolit sekunder yang membantu pertahanan tumbuhan tersebut. |
| Eksplan | : | bagian tanaman yang dipergunakan sebagai bahan awal untuk perbanyakan tanaman |
| | : | |
| hipokotil | : | batang dari kecambah, ditemukan di bawah kotiledon dan di atas radikula. |
| Koloni mikrob | : | Kumpulan sel mikroorganisme yang tumbuh pada media yang cenderung mengelompok sebagai satuan morfolgi |
| Planlet: | : | Tanaman mini yang tumbuh secara aseptik dalam kondisi terkontrol telah memiliki batang, akar, dan daun, serta sudah melakukan respirasi dan fotosintesis. |
| Kultur jaringan | : | sebagai kumpulan teknik/ metodologi yang digunakan untuk menumbuhkan atau memelihara sel, jaringan atau organ tanaman pada media kultur nutrisi dalam kondisi pertumbuhan aseptik |

Buku ini tidak diperjualbelikan.

| | | |
|---|---|---|
| Kotiledon | : | bakal daun yang terbentuk pada embrio. Kotiledon merupakan organ cadangan makanan pada sekelompok tumbuhan, sekaligus organ fotosintetik pertama yang dimiliki oleh tumbuhan yang baru saja berkecambah, walaupun bagi kecambah ia berfungsi sebagai daun,kotiledon tidak memiliki anatomi yang lengkap seperti daun sejati |
| Mikoriza | : | cendawan (fungi) yang bersimbiosis dengan tumbuhan. Biasanya bentuk simbiosis ini terletak di sistem perakaran tumbuhan |
| Mikropropagas | : | teknik yang banyak digunakan untuk produksi massal klon tanaman. |
| Rizosfer | : | bakteri yang terdapat pada daerah perakaran tanaman yang diketahui memiliki keanekaragaman tinggi. |
| petiole | : | tangkai daun merupakan pendukung helaian daun melekat pada batang tanaman atau dengan kata lain penghubung antara helaian daun dengan batang. |
| Sitokinin | : | Hormon ini berkaitan dengan pembelahan sel, modifikasi dominasi apikal, diferensiasi pucuk, dll |
| tunas aksiler | : | tunas yang terdapat pada sudut diantara daun dan batang |

Buku ini tidak diperjualbelikan.

# INDEKS


**A**

Aklimatisasi iv, vi, viii, 48, 51, 52, 54, 55, 60
aksesi 4, 5, 6, 82
auksin iv, 32, 33, 34, 35, 42, 45, 46

**B**

Bioteknologi iv, v, 18
Boehmeria nivea iii, vii, 1, 2, 3, 4, 45, 66, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93

**D**

Deng dan Donnelly 56
Dusi et al 44

**E**

eksplan vii, 19, 20, 21, 23, 27, 29, 30, 33, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 61, 62, 67, 76, 78

**F**

fitohormon 55
Fitomedisinal 7

**G**

Gaud 3, 45, 46, 88, 89, 90, 91, 92, 93
generatif 8, 9, 80
Guo et al 44

**H**

Han et al 45
heterotrof 48, 49
Huang et al 44

**I**

in vitro 17, 19, 20, 23, 34, 35, 40, 46, 48, 49, 52, 54, 55, 56, 57, 69, 76, 78, 79, 81, 82, 83, 88, 89, 92, 93

**L**

Linsmair dan Skoog 36


Buku ini tidak diperjualbelikan.

**M**

Marin et al 54
Mathur et al 54
mikroflora 54, 76
Mikropropagasi iv, v, 53
morfogenesis 43, 44
Mukherjee et al 46
Murashige dan Skoog Medium 21

**O**

organogenesis 21, 33, 46, 79, 89, 90

**P**

Pan et al 44
Parnidi & Setyo 6
Petruszka, M 12, 91
Planlet iv, vi, 44, 45, 52, 54, 55, 56, 75, 77, 84

**R**

rizoma 1, 6, 8, 9, 13, 19, 23, 71, 78

**S**

Sharma, dkk 7
sitokinin iv, 31, 33, 34, 35, 42, 45, 46
Sterilisasi vi

**V**

Van Huylenbroeck 56, 92
Varietas viii, 73, 74, 75, 90
vegetatif ix, 8, 12, 13, 15, 20, 22, 23, 24

**W**

Wang et al 47

**Y**

Yang et al 45

**Z**

Zhang et al 45
Zhou et al 44

Buku ini tidak diperjualbelikan.

# Tentang Bitread

Bitread telah aktif mengkampanyekan gerakan literasi dan penerbitan sejak tahun 2014. Sejalan dengan misi tersebut, Bitread Publishing lahir untuk memberikan kemudahan sekaligus kesempatan seluas-luasnya bagi para penulis untuk menerbitkan buku. Siapapun bisa menerbitkan buku di Bitread dengan estimasi waktu 1-2 bulan sejak naskah dikirimkan kepada tim redaksi.

Dengan kemudahan dan kecepatan proses penerbitan buku di Bitread, penulis memiliki porsi besar dalam mempersiapkan buku yang akan diterbitkannya. Tim redaksi Bitread akan melakukan asistensi bersama penulis untuk mempersiapkan naskah hingga layak diterbitkan. Bitread juga memberikan treatment kepada para penulis berupa pembuatan desain cover serta program marketing dan promosi bersama penulis.

Nikmati cara seru menerbitkan buku, hanya di:

Bitread_ID BitreadID www.bitread.id

Buku ini tidak diperjualbelikan.

# KULTUR JARINGAN

Penyiapan Bibit Rami Secara Invitro

Tanaman serat alam yang dikenal dengan sebutan rami dari spesies Boehmeria nivea sudah banyak dikaji potensinya untuk berbagai bidang, seperti tekstil, pakan, kesehatan, dan berbagai industri kreatif. Proyeksi manfaat tanaman ini di masa depan sangat prospektif untuk dikembangkan pada skala besar. Oleh karena itu perlu upaya budi daya secara massal.

Buku Kultur Jaringan ini disiapkan untuk membantu mahasiswa, praktisi lapangan, para pengembang rami, maupun masyarakat umum yang ingin mengenal lebih lengkap tentang kultur jaringan tanaman serat alam, khususnya rami. Pengenalan kultur jaringan merupakan salah satu langkah sederhana untuk memperkenalkan bioteknologi yang dapat diaplikasikan untuk meningkatkan kesejahteraan manusia dan juga untuk tujuan konservasi tanaman agroindustri serat alam.

Buku ini tidak diperjualbelikan.

bitread
www.bitread.id

NONFIKSI
ISBN 978-623-224-563-1
9 786232 245631