



TEKNIK PEMBIBITAN TANAMAN DAN PRODUKSI BENIH JILID 2

untuk SMK

Paristiyanti Nurwardani



JILID 2

Paristiyanti Nurwardani

# Teknik Pembibitan Tanaman dan Produksi Benih

untuk  
Sekolah Menengah Kejuruan



Direktorat Pembinaan Sekolah Menengah Kejuruan  
Direktorat Jenderal Manajemen Pendidikan Dasar dan Menengah  
Departemen Pendidikan Nasional



Paristiyanti Nurwardani

# TEKNIK PEMBIBITAN TANAMAN DAN PRODUKSI BENIH

JILID 2

**SMK**



**Direktorat Pembinaan Sekolah Menengah Kejuruan**  
Direktorat Jenderal Manajemen Pendidikan Dasar dan Menengah  
Departemen Pendidikan Nasional

Hak Cipta pada Departemen Pendidikan Nasional  
Dilindungi Undang-undang

# TEKNIK PEMBIBITAN TANAMAN DAN PRODUKSI BENIH JILID 2

Untuk SMK

Penulis : Paristiyanti Nurwardani

Perancang Kulit : TIM

Ukuran Buku : 17,6 x 25 cm

NUR NURWARDANI, Paristiyanti.  
a Teknik Pembibitan Tanaman dan Produksi Benih Jilid 1  
untuk SMK oleh Paristiyanti Nurwardani ---- Jakarta : Direktorat  
Pembinaan Sekolah Menengah Kejuruan, Direktorat Jenderal  
Manajemen Pendidikan Dasar dan Menengah, Departemen  
Pendidikan Nasional, 2008.  
vii, 255 hlm  
Daftar Pustaka : Lampiran. A  
ISBN : 978-979-060-105-5  
ISBN : 978-979-060-106-2

Diterbitkan oleh

**Direktorat Pembinaan Sekolah Menengah Kejuruan**

Direktorat Jenderal Manajemen Pendidikan Dasar dan Menengah  
Departemen Pendidikan Nasional

Tahun 2008

## KATA SAMBUTAN

Puji syukur kami panjatkan kehadirat Allah SWT, berkat rahmat dan karunia Nya, Pemerintah, dalam hal ini, Direktorat Pembinaan Sekolah Menengah Kejuruan Direktorat Jenderal Manajemen Pendidikan Dasar dan Menengah Departemen Pendidikan Nasional, telah melaksanakan kegiatan penulisan buku kejuruan sebagai bentuk dari kegiatan pembelian hak cipta buku teks pelajaran kejuruan bagi siswa SMK. Karena buku-buku pelajaran kejuruan sangat sulit di dapatkan di pasaran.

Buku teks pelajaran ini telah melalui proses penilaian oleh Badan Standar Nasional Pendidikan sebagai buku teks pelajaran untuk SMK dan telah dinyatakan memenuhi syarat kelayakan untuk digunakan dalam proses pembelajaran melalui Peraturan Menteri Pendidikan Nasional Nomor 45 Tahun 2008 tanggal 15 Agustus 2008.

Kami menyampaikan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada seluruh penulis yang telah berkenan mengalihkan hak cipta karyanya kepada Departemen Pendidikan Nasional untuk digunakan secara luas oleh para pendidik dan peserta didik SMK.

Buku teks pelajaran yang telah dialihkan hak ciptanya kepada Departemen Pendidikan Nasional ini, dapat diunduh (*download*), digandakan, dicetak, dialihmediakan, atau difotokopi oleh masyarakat. Namun untuk penggandaan yang bersifat komersial harga penjualannya harus memenuhi ketentuan yang ditetapkan oleh Pemerintah. Dengan ditayangkan *soft copy* ini diharapkan akan lebih memudahkan bagi masyarakat khususnya para pendidik dan peserta didik SMK di seluruh Indonesia maupun sekolah Indonesia yang berada di luar negeri untuk mengakses dan memanfaatkannya sebagai sumber belajar.

Kami berharap, semua pihak dapat mendukung kebijakan ini. Kepada para peserta didik kami ucapkan selamat belajar dan semoga dapat memanfaatkan buku ini sebaik-baiknya. Kami menyadari bahwa buku ini masih perlu ditingkatkan mutunya. Oleh karena itu, saran dan kritik sangat kami harapkan.

Jakarta, 17 Agustus 2008  
Direktur Pembinaan SMK



## DAFTAR ISI

		Hal
<b>JILID 1</b>		
BAB 1.	PENDAHULUAN	
	1.1. Potensi Pembenihan Tanaman	1
	1.2. Peran Pembenihan Tanaman	5
BAB 2.	KARAKTERISTIK TUMBUHAN	
	2.1. Anatomi Tumbuhan	7
	2.2. Anatomi Dan Morfologi Biji Tumbuhan	14
	2.3. Pertumbuhan Dan Perkembangan Tumbuhan	14
BAB 3.	TEKNIK PRODUKSI BENIH VEGETATIF TANAMAN	
	3.1. Dasar-dasar Pembibitan Tanaman dan Produksi benih	20
	3.2. Kesehatan dan Keselamatan Kerja (K-3)	20
	3.3. Pengelolaan Alat dan Mesin Pertanian	23
	3.4. Pohon Induk dan bibit Unggul	25
	3.5. Batang Bawah Dan Batang Atas	27
	3.6. Teknik Penyiapan Pembibitan	30
	3.7. Teknik Pembenihan Tanaman Secara Vegetatif	35
	3.8. Teknik Pemilihan Memproduksi Benih Vegetatif	68
	3.9. Sertifikasi Benih	71
BAB 4.	TEKNIK PRODUKSI BENIH GENERATIF TANAMAN	
	4.1. Proses Pembentukan Biji Pada Tanaman	78
	4.2. Buah, Biji dan Perkembangan Biji	80
	4.3. Penyerbukan (polinasi)	90
	4.4. Teknik Produksi Benih Generatif Tanaman	92
	4.5. Mutu Benih	106
	4.6. Pengujian Kesehatan Benih	122
BAB 5.	TEKNIK PEMELIHARAAN TANAMAN HASIL PEMBENIHAN	
	5.1. Media Tumbuh	143
	5.2. Sifat Fisik Tanah	148
	5.3. Sifat Kimia Tanah	162
	5.4. Teknik Pengolahan Tanah	162
	5.5. Teknik Penanaman	163
	5.6. Pemupukan	166
	5.6.1. Pupuk Organik	167
	5.6.2. Pupuk Anorganik	176
	5.7. Pengairan	185
	5.8. Air Tanah	186
	5.9. Pemangkasan (pruning)	191

5.10. Pengendalian Organisme Pengganggu Tanaman (OPT)	193
a. hama	194
b. Penyakit Tanaman	
1). Penyakit Non Infeksius	201
2). Penyakit infeksius	202
c. Gulma Tanaman	226
d. Teknik Pengendalian OPT	227
e. Implementasi pengendalian hama dan penyakit tanaman	236
f. Implementasi Pengendalian Gulma	240
Ringkasan, soal dan tugas	

## JILID 2

BAB 6.	TEKNIK PRODUKSI BENIH PADI	245
	6.1. Perlakuan Pra-Panen	245
	6.2. Perlakuan Pascapanen	254
	6.3. Pra-panen Produksi Benih Padi Hibrida	255
	6.4. Perlakuan Pascapanen	274
	Ringkasan, Soal dan Tugas	
BAB 7.	TEKNIK PRODUKSI BENIH KEDELAI	
	7.1. Perlakuan Pra-Panen	281
	7.2. Persyaratan Lahan	282
	7.3. Benih Sumber	282
	7.4. Waktu Tanam	283
	7.5. Penyiapan Lahan	284
	7.6. Penanaman dan Perlakuan Benih	285
	7.7. Pemeliharaan	286
	7.8. Pemanenan dan Perlakuan Pascapanen	289
	Ringkasan, Soal dan Tugas	290
BAB 8.	BIOTEKNOLOGI TANAMAN	295
	8.1. Bioteknologi Tanaman	295
	8.2. Struktur Dan Organisasi Bahan Genetik Tanaman	295
	8.3. Teknik Kultur <i>In-vitro</i>	306
	8.4. Rekayasa Genetik Pada Tanaman Tingkat Tinggi	322
	Ringkasan, Soal dan Tugas	323
BAB 9.	TEKNIK KULTUR JARINGAN TANAMAN	
	9.1. Fasilitas Laboratorium Kultur Jaringan	335
	9.2. Peralatan Dan Bahan Kimia	335
	9.3. Media Tanam	337
	9.4. Beberapa Komposisi Media	349
	9.5. Inisiasi Tunas dan Inokulasi	353
	9.6. Teknik Kultur Suspensi Sel	354
	9.7. Teknik Multiplikasi	355
	9.8. Teknik Aklimatisasi	358
	9.9. Teknik Kultur Jaringan Pada Berbagai Tanaman	359

	a. Teknik Kultur Jaringan Anggrek	359
	b. Kultur Jaringan Tanaman Kopi	362
	c. Rekayasa genetik pada tanaman tingkat tinggi	364
	Ringkasan, Soal dan Tugas	365
BAB 10.	KEWIRAUSAHAAN	
	10.1. Pengertian Kewirausahaan	368
	10.2. Ciri dan Karakteristik Wirausahawan	
	10.3. Penjualan	370
	a. Jiwa marketing dan motivasi tim	371
	b. Perlunya rasa kekeluargaan	372
	c. Strategi, visi dan misi	372
	d. Pentingnya informasi	373
	e. Pelanggan aset yang berharga	373
	10.4. Dasar-dasar Strategi Pemasaran	
	a. Kepercayaan	377
	b. Kemudahan	377
	c. Kenyamanan	378
	d. Gengsi	379
	e. Memasarkan benih Tanaman	379
	Ringkasan, Soal dan Tugas	380
BAB 11.	ANALISIS USAHA PEMBENIHAN KELAPA SAWIT DAN DURIAN	
	11.1. Analisis Usaha Pembenihan Tanaman	383
	a. Analisis B/C ratio	383
	b. Analisis R/C ratio	383
	c. Analisis ROI	383
	d. Analisis BEP	383
	11.2. Contoh Perhitungan Usaha Pada Pembenihan Kelapa Sawit	384
	11.3. Contoh Perhitungan Usaha Pada Pembenihan Durian	391
	Ringkasan, Soal dan Tugas	392

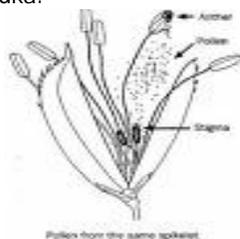
## LAMPIRAN

Daftar Pustaka .....	A
----------------------	---

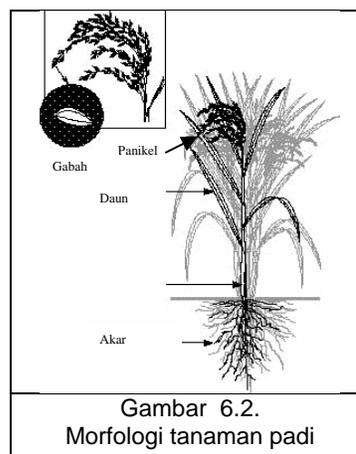
## BAB 6. TEKNIK PRODUKSI BENIH PADI

Padi di Indonesia masih merupakan tanaman pangan utama yang dikonsumsi tidak kurang dari 200 juta penduduk. Jika konsumsi beras rata-rata 130,5 kg/kapita/th maka total kebutuhan beras 26,1 juta ton/th. Bila rendemennya 70% maka kebutuhan padi Indonesia per tahun adalah 37,3 juta ton padi kering giling. Luas lahan yang diperlukan untuk menghasilkan kebutuhan padi tersebut minimal 8 juta ha jika produktivitas rata-rata per hektar 4,5 ton. Dengan demikian, kebutuhan benih padi Indonesia per tahun 200 ribu ton jika kebutuhan benih padi per hektar 25 kg.

Di Indonesia, kebutuhan benih padi dipenuhi oleh dua industri benih padi terbesar, yakni PT Sang Hyang Seri dan PT Pertani. Menurut catatan Ditjenta Pangan (1999), belum seluruh kebutuhan benih padi terpenuhi, baru berkisar 30-40% saja benih bersertifikat yang tersedia. Oleh karenanya, peluang berusaha di sektor penangkaran atau industri benih padi di Indonesia masih cukup terbuka.



Gambar 6.1.  
Anatomi bunga padi



Gambar 6.2.  
Morfologi tanaman padi

Padi umumnya diusahakan secara terus menerus pada lahan yang sama dengan varietas yang berbeda-beda antar-musimnya. Hal ini menjadi salah satu faktor sulitnya membebaskan lahan padi dari tanaman voluntir serta serangan hama dan penyakit, kecuali jika lahan ini diberakan selama beberapa kali musim tanam. Padi tergolong tanaman yang menyerbuk sendiri dan kemungkinan untuk menyerbuk silang sangat kecil (<4%). Isolasi jarak yang disarankan 3 m, sedangkan isolasi waktu sekitar 30 hari

Untuk dapat mengelola produksi benih padi bersertifikat terdapat beberapa proses yang harus dilakukan dengan seksama dan teliti.

## Perlakuan Pra-Panen

Untuk mendapatkan benih bersertifikat, setiap tahap budidaya perlu diperhatikan, dimulai dari kegiatan sebelum panen.



Gambar 6.3.  
Pengolahan lahan sawah dengan traktor, sebagai langkah untuk mempersiapkan tempat produksi benih padi.

### a. Persyaratan Lahan

Persyaratan berikut perlu diperhatikan pada saat memilih lahan adalah sebagai berikut:

- Lahan hendaknya merupakan bekas tanaman lain atau lahan yang diberakan,
- Lahan dapat bekas tanaman padi, asalkan varietas yang ditanam sama dengan varietas yang ditanam sebelumnya,
- Ketinggian lahan disesuaikan dengan daya adaptasi varietas tanaman, umumnya padi beradaptasi di dataran rendah,
- Lahan relatif subur, Ph 5,4-6, dan memiliki lapisan keras sedalam 30 cm agar sawah tidak lekas kering.

### b. Benih Sumber

Benih sumber yang digunakan hendaknya dari kelas yang lebih tinggi. Kebutuhan benih sumber per hektar diperkirakan sebanyak 10 kg benih penjenis untuk menghasilkan benih dasar, 25 kg benih dasar untuk menghasilkan benih pokok; dan 25 kg benih pokok untuk menghasilkan benih sebar.

Varietas yang ditanam hendaknya selain disesuaikan dengan kebutuhan konsumen, memperhatikan pula aspek kecocokan lahan, umur tanaman, dan ketahanan terhadap hama serta penyakit.



Gambar 6.4 Benih sumber padi

### c. Musim Tanam

Padi termasuk tanaman yang dapat tumbuh dalam genangan. Namun, padi juga dapat ditanam di lahan kering asalkan air cukup tersedia. Oleh karena itu, padi dapat ditanam pada musim hujan maupun musim kemarau, selama air tersedia cukup.

#### d. Penyemaian

Ukuran bedeng pesemaian umumnya 5% dari luas lahan penanaman. Misalnya, lahan penanaman direncanakan seluas satu hektar maka bedengan persemaian yang diperlukan sekitar 500m<sup>2</sup>.

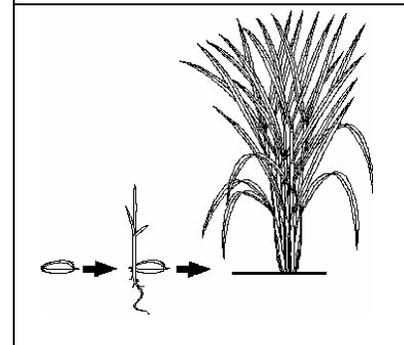
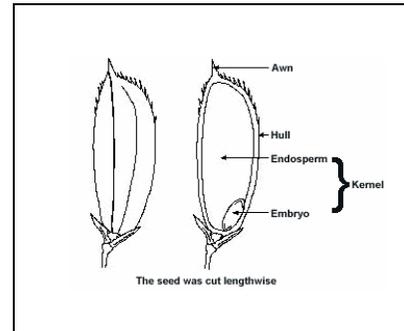
Sebelum diolah, lahan persemaian diiri lebih dahulu agar tanah menjadi gembur. Keesokan harinya, lahan dicangkul dan dibuat bedengan dengan ukuran lebar 120-150 cm, panjang 8-10 m atau tergantung bentuk petakan, dan ketinggian 15-20 cm. jarak antar bedengan dibuat selebar 30 cm.



Gambar 6.5 Benih padi siap disemai di lahan sawah

Benih yang digunakan sebaiknya mempunyai kadar air 11-12%. Sebelum disebarkan, benih (dalam karung) direndak di dalam kolam atau air yang mengalir selama 24 jam untuk mematahkan dormansi dan membersihkan benih dari patogen. Setelah itu, benih diberi perlakuan fungisida, misalnya

Benlate F-20 dengan dosis 125 g per 25 kg benih. Selanjutnya, benih diperam dalam air selama 24 jam untuk memacu perkecambahan. Lokasi tempat memeram sebaiknya dipilih tempat yang teduh.



Gambar 6.6 Bagian-bagian benih padi (a) dan perkembangan dan pertumbuhan benih padi menjadi bibit lalu menjadi tanaman (b)

Benih yang telah diperam kemudian disebar secara merata ke lahan pesemaian yang macak-macak (berlumpur). Setelah itu, permukaan lahan ditutup dengan sekam padi varietas yang sama. Penutupan dengan sekam ini ditujukan untuk melindungi benih padi dari terpaan hujan maupun angin.

Semai dipupuk pada umur 5 hari setelah tanam (HST) dengan campuran 200 g urea + 100 g SP-36 + 60 g KCL untuk setiap 10m<sup>2</sup>. pupuk disebar pada pagi hari sebelum pukul 08.00. untuk melindungi pesemaian dari serangan hama maupun penyakit, perlu disemprotkan insektisida, misalnya Bassa 50 EC ( dosis 1,5 ml/l air) dan Darmafur 3G sebanyak 2 kg.

Lahan pesemaian dijaga dalam kondisi macak-macak hingga tanaman berumur 14-18 HST : Jika lahan tergenang air atau kekeringan maka bibit padi akan cepat mati.

Benih yang telah diperam kemudian disebar secara merata ke lahan pesemaian yang macak-macak (berlumpur). Setelah itu, permukaan lahan ditutup dengan sekam padi varietas yang sama. Penutupan dengan sekam ini ditujukan untuk melindungi benih padi dari terpaan hujan maupun angin.

#### **e. Penyiapan lahan dan penanaman**

Penanaman padi menghendaki tanah sawah yang berstruktur lumpur dengan kedalaman sekitar 15-30 cm. untuk memperoleh struktur tanah demikian, lahan beberapa kali direndam dengan air.

- Perendaman I selama 3-4 hari lalu diikuti pembajakan I
- Perendaman II selama 2-3 hari lalu diikuti pembajakan II
- Perendaman III selama 2-3 hari lalu diikuti penggaruan I

- Perendaman III selama 2-3 hari lalu diikuti penggaruan II sambil permukaan tanah diratakan.

Kegiatan selanjutnya yaitu pengaturan jarak tanam jarak tanam dibuat 22 cm x 22 cm bila penanaman pada musim kemarau dan 30 cm x 15 cm bila penanaman pada musim hujan. Jarak tanam ini dapat pula disesuaikan dengan jarak tanam yang dianjurkan untuk varietas yang ditanam atau sesuai anjuran Dinas Pertanian Tanaman Pangan. Agar penanaman dapat teratur, pada lahan dibuat lajur (larikan) dengan menggunakan caplak atau tali. Bibit yang lemah maupun bibit volutir dicabut dan dibuang. Sementara bibit yang vigor, sehat, dan berumur 21-25 hari di cabut dan kemudian ditanam di lahan. Sebelum ditanam, bibit dipotong kira-kira 20 cm dari pangkal batang. Tujuannya untuk mengurangi penguapan agar bibit tidak lekas layu. Penanaman bibit sebaiknya 2-4 tanaman per rumpun sedalam ± 2-3 cm. untuk perbanyak benih BD dari benih BS, penanaman bibit adalah 1 bibit per lubang tanam. Adapun untuk perbanyak benih BP dari BD maupun BR dari BP, dalam satu lubang dapat ditanami 3 bibit.



Gambar 6.7  
Bibit padi siap tanam

Bibit yang masih tersisa dapat digunakan untuk penyulaman. Penyulaman dilakukan untuk menggantikan bibit yang mati atau kurang bagus pertumbuhannya. Tanaman pengganti ini diusahakan tidak terlalu jauh perbedaan umurnya. Penyulaman biasanya dilakukan pada 7-10 HST dan paling lambat pada umur 15 HST.

#### f. Pemeliharaan

Kegiatan pemeliharaan yang dilakukan meliputi pemupukan, penyulaman, penyiangan, pengairan, pengendalian hama dan penyakit serta roguing.

##### 1) Pemupukan

Pupuk yang digunakan adalah Urea, TSP, dan KCL dengan dosis per hektar 300 kg Urea, 200 kg TSP, dan 100 kg KCL. Pemupukan dasar diberikan 3-4 hari sebelum tanam dengan 1/3 bagian urea, sedangkan pemupukan susulan II diberikan 7 MST dengan 1/3 urea sisanya. Untuk tanah berpasir, penambahan bahan organik sangat dianjurkan, dosisnya bervariasi 0,5-2 ton bahan organik

(pupuk kandang, kompos atau bokhasi) per hektar tergantung pada kondisi lahan.



Pupuk dasar diberikan dengan cara disebar merata kemudian diinjak-injak. Pupuk susulan I diberikan dengan cara disebar dalam larikan dengan selang satu larikan. Pemberian pupuk susulan II dengan cara disebar pada larikan yang belum dipupuk pada pemupukan susulan I. Pada saat pemupukan, kondisi tanah dibuat macak-macak dan dibiarkan selama 3 hari.

##### 2) Penyulaman

Penyulaman terhadap tanaman yang mati atau tumbuh tidak normal dilakukan pada saat umur 4-5 HST atau paling lambat 10-15 HST. Tanaman penyulam dipilih tanaman yang seragam dengan pertumbuhan yang kuat dan sehat.

### 3) Penyiangan

Penyiangan dilakukan untuk membuang gulma dan tanaman pengganggu lainnya. Penyiangan dilakukan pada umur 21 HST pada saat tanaman aktif membentuk anakan dan 45 HST pada saat tanaman mulai berbunga. Jika perlu, dilakukan pula penyiangan saat tanaman berumur 50-60 HST. Penyiangan sebaiknya dilakukan bersamaan dengan pemupukan susulan I dan II agar lebih mengefisienkan waktu. Beberapa jenis gulma yang sering mengganggu tanaman di persawahan antara lain jejagoan (*Echinochloa crusgalli* L.), teki (*Cyperus rotundus* Linn.), paku-pakuan (*Salvinia molesta* DS. Mitchell), dan eceng (*Sagittaria guayanensis*).

Pengendalian gulma dapat pula dilakukan secara kimiawi dengan herbisida, seperti Ronstar 25 EC, Saturn-D, dan Ally. Penyemprotan herbisida dilakukan saat tanaman berumur 15-25 HST dengan dosis sesuai petunjuk pada label. Perlu diperhatikan bahwa herbisida sebaiknya digunakan sebagai alternatif terakhir, berkaitan dengan dampaknya terhadap pencemaran lingkungan.

#### g. Pengairan

Pengairan dilakukan sesuai dengan kondisi cuaca dan fase pertumbuhan tanaman. Pada awal fase pertumbuhan, pengairan perlu dilakukan sedikit demi sedikit hingga

tinggi air mencapai 7-10 cm di atas permukaan tanah. Pada fase pembentukan anakan, genangan air dipertahankan 3-5 cm di atas permukaan tanah. Bila tinggi air di atas 5 cm, pertumbuhan tunas (anakan) akan terhambat, kondisi ini disebut fase krisis I. memasuki fase pembentukan bulir (primordia) petakan sawah perlu diairi sampai ketinggian 10 cm. Kekurangan air pada fase ini dapat mengakibatkan kehampaan. Puncak kebutuhan air terjadi pada saat pembungaan, saat ini disebut juga fase krisis II. Setelah fase pembungaan, air perlu dikurangi dan dikeringkan agar akar dapat bernapas dan berkembang dengan baik, suhu tanah meningkat sehingga aktivitas organisme tanah juga meningkat, dan busuk akar dapat dihindari. Dua minggu sebelum panen sampai saat panen, lahan hendaknya dalam keadaan kering. Pengendalian hama dan penyakit

Pengendalian hama dan penyakit hendaknya mengikuti sistem pengendalian hama dan penyakit terpadu (PHT) yang meliputi pengelolaan varietas, pengelolaan budidaya, dan pengelolaan biologis. Penggunaan bahan-bahan kimia (pestisida) hanya diberikan pada kondisi yang tepat, yakni jika populasi hama melampaui batas ambang kendali. Hama dan penyakit utama yang biasa menyerang padi adalah hama tikus, hama penggerek batang (sundep dan beluk), wereng

cokelat, penyakit tungro, dan penyakit hawar daun (kresek).

#### 4) Pengendalian Organisma Pengganggu Tanaman

##### a) Pengendalian hama tikus

Hama tikus merupakan hama yang paling sering menghancurkan pertanian padi. Serangannya pada tahun 1963-1964 men-capai 800.000 ha dengan tingkat kerusakan rata-rata 40% bahkan di Sumatera Selatan kerusakannya mencapai 58-70%. Serangan tikus dapat terjadi sejak padi di pesemaian sampai padi hampir dipanen.



Gambar 6.9  
Hama tikus

Pengendalian hama tikus dapat dilakukan secara teknis budi daya, seperti gropyokan, yakni pembongkaran lubang-lubang tikus secara massal atau memasang pagar plastik yang dilengkapi dengan perangkap bubu. Cara pengendalian kimiawi dilakukan dengan pemberian umpan beracun dengan racun akut (dapat membunuh dengan cepat) atau racun kronis (tikus mati setelah memakan umpan berulang-ulang).

Contoh rodentisida yaitu Racumin (dosis 1:19 dari berat umpan) dan Klerat. Secara biologis, pengendalian hama tikus dapat dilakukan dengan memanfaatkan musuh alaminya, seperti ular, burung hantu, musang dan anjing.



Gambar 6.10  
Beberapa contoh rodentisida

##### b) Pengendalian hama penggerek batang

Jika serangan hama penggerek terjadi pada tanaman padi stadia vegetatif maka hama ini disebut sundep, bila serangan terjadi pada tanaman yang sedang berbunga maka hama itu disebut beluk. Selain itu, masih ada hama penggerek padi putih (*Tryporyza innotata* Wik) dan hama penggerek padi kuning (*Tryporyza incertulas* Wik) yang juga sering menyerang tanaman padi.

Selama ini, belum ada teknik budi daya yang efektif mengendalikan hama penggerek batang, kecuali menanam varietas yang tahan dan beranak banyak serta memupuk secara berimbang. Hal ini dilakukan untuk mengurangi intensitas serangan saja. Cara pengendalian kimiawi dilakukan dengan pemberian insektisida sistemik seperti Furadan 3G,

Dharmafur, Curater, dan Regent yang efektif diberikan pada fase pesemaian dengan fase vegetatif.

Pengendalian biologis dapat dilakukan dengan memanfaatkan pemangsa telur seperti *Conoshepalus iongipennis*, serta pemangsa larva seperti kumbang Carabidae dan laba-laba.

#### c) Pengendalian wereng cokelat

Hama wereng padi ada dua golongan, yakni wereng batang padi (planthopper) yang hidup di bagian pangkal tanaman dan wereng daun padi (leafhopper) yang hidup pada daun atau bagian atas tanaman. Dari kedua golongan tersebut, wereng batang padi atau wereng cokelat merupakan hama yang paling merugikan.

Hama wereng cokelat ada dua yaitu wereng batang cokelat (*Nilaparvata lugens* Stal) dan wereng punggung putih (*Sogatella furcifera*). Pengendalian secara budi daya dilakukan dengan penanaman serempak, penggunaan varietas lahan wereng, pergiliran varietas, dan pemupukan berimbang. Cara biologis dilakukan dengan menjaga agar kehidupan musuh-musuh alami, seperti Trichogrammatidae, Phytoseiidae, kumbang Carabidae, laba-laba, dan capung berkembang dengan baik.

Pengendalian secara kimiawi dapat dilakukan dengan insektisida sistemik seperti Applaud.

#### d) Pengendalian penyakit tungro

Penyakit tungro atau mentek (Jawa) merupakan penyakit yang disebabkan oleh virus tungro. Tanaman yang sakit akan menguning yang dimulai dari ujung daun. Virus tungro menyebar melalui vektor penularnya, yakni wereng hijau (*Nephotettix virescens* Distant, *N. nigropictus* Stal) dan wereng loreng (*Recilia dosalis* Toth).

Pengendalian secara budi daya dilakukan dengan pergiliran tanaman dan sanitasi lahan, serta pemusnahan (eradikasi) tanaman terserang. Adapun cara kimiawi dengan mengendalikan wereng hijau sejak dari fase pesemaian dengan pemberian insektisida.

#### e) Pengendalian penyakit hawar daun

Penyakit hawar daun atau penyakit "kresek" adalah penyakit yang disebabkan oleh bakteri busuk daun *Xanthomonas oryzae*. Penyakit ini kelihatan kurang berarti, tetapi mampu menurunkan produksi sampai 25% (Soemartono et.al., 1992). Gejalanya dimulai dengan bercak-bercak kuning pada sepanjang tepi daun bagian atas. Pada serangan lebih lanjut, daun menjadi berwarna kuning atau putih kotor dan akhirnya mati. Ciri penyakit hawar daun sering terlihat pada infeksi yang sistemik pada

bibit padi, dimana bakteri masuk ke dalam daun melalui permukaan yang telah dipotong atau luka sewaktu pemindahan tanaman.

Serangan bakteri hawar daun kerap terjadi di dataran rendah, musim kemarau, serta jika suhu dan kelembaban tinggi. Pengendalian yang dapat dilakukan adalah melalui penanaman varietas yang tahan serta pemupukan yang berimbang.

#### f) Roguing

Roguing biasanya dilakukan sebelum tanaman diperiksa oleh BPSB. Roguing minimal dilakukan 3 kali, yaitu pada fase vegetatif, fase berbunga, dan pada saat menjelang panen atau  $\pm$  80% malai telah menguning.



Gambar 6.11

Salah satu masa roguing yang tepat pada tanaman padi adalah pada saat menjelang panen

- Roguing I dilakukan pada fase vegetatif (umur 30 HST) antara lain untuk membedakan warna, bentuk, dan tinggi tanaman. Pelaksanaan Roguing I dengan membuang

rumpun yang memiliki warna dan bentuk batang serta daun yang berbeda.

- Roguing II dilakukan pada fase berbunga ( $\pm$  umur 50 HST) antara lain untuk membedakan umur tanaman, bentuk dan warna bunga, serta keseragaman saat berbunga. Pelaksanaan roguing II dengan membuang rumpun yang memiliki posisi dan warna bunga yang berbeda.
- Roguing III dilakukan pada saat menjelang panen atau saat 80% malai telah menguning ( $\pm$  umur 100 HST) antara lain untuk membedakan umur tanaman, tinggi tanaman, bentuk dan letak daun bendera, bentuk gabah, serta warna gabah. Pelaksanaan roguing III dengan membuang rumpun yang memiliki bentuk dan posisi daun bendera, serta bentuk dari warna gabah yang berbeda.

#### g) Pemanenan dan perlakuan pasacapanen

Pemanenan padi untuk benih dilakukan setelah pemeriksaan lapangan terakhir dan telah dinyatakan lulus oleh BPSB. Waktu panen ditentukan jika umur berbunga telah mencapai optimal. Kondisi ini ditandai oleh sebagian besar (80-90%) malai telah menguning dengan kadar air sekitar 17-23%. Tanda-tanda saat panen yaitu gabah sudah menguning dan keras bila dipijat, buku-buku

sebelah atas berwarna kuning, serta batang mulai mengering.

Panen dapat dilakukan dengan menggunakan sabit, ani-ani, atau dengan mesin pemanen padi (combine harvester). Pada pemanenan dengan mesin, kadar air biji padi sebaiknya sekitar 15-20%. Apabila kadar air lebih tinggi dari 20%, benih akar mengalami kerusakan mekanik (benih mamar) yang cukup besar. Demikian pula jika kadar air kurang dari 15%, risiko kerusakan mekanis (sekam terkelupas) lebih besar. Malai yang masih hijau tidak dipanen karena akan meningkatkan nilai butir hijau.



Gambar 6.12  
Panen padi

## 6.2 Perlakuan PascaPanen

Padi yang telah dipanen masih ada beberapa tahap perlakuan agar siap digunakan sebagai benih. Perlakuan tersebut antara lain perontokan, pengeringan, pengolahan, serta penyimpanan.

### a. Perontokan

Perontokan malai padi biasanya dilakukan langsung di sawah. Malai

padi dipukul-pukulkan pada papan perontokan yang terbuat dari kayu. Selain itu, dapat pula malai dipukul-pukul dengan penggebuk terbuat dari kayu sambil dibalik-balik sehingga perontokan dapat sempurna. Perontokan secara tradisional biasanya dilakukan dengan menginjak-injak malai padi sehingga bulir padi rontok. Perontokan dengan menggunakan alat perontok (thresher) sangat dianjurkan karena akan mempercepat penanganan dan pengolahan hasil. Penggunaan mesin perontok juga bermanfaat dalam menekan jumlah kehilangan benih (post harvest losses).

### b. Pengeringan dan pengolahan benih

Pengeringan padi dilakukan sesegera mungkin setelah benih dirontokkan. Apabila kondisi tidak memungkinkan maka calon benih ini harus dihamparkan dan diangin-anginkan untuk mencegah kenaikan suhu dan perkecambahan benih di dalam karung. Pengeringan secara alami dilakukan dengan menjemur calon benih di lantai. Dalam kondisi cerah, pengeringan secara alami mampu menurunkan kadar air dari 23% menjadi 11% dalam waktu 2 hari.

Benih yang telah kering (kadar air 11-12% dibersihkan dari kotoran campuran varietas lain, dan biji-biji gulma. Pembersihan dapat dilakukan dengan nyiru atau mesin pembersih, seperti air screen

cleaner. Pada proses pembersihan, benih dapat saja dipilah untuk peningkatan mutu fisik dan fisiologis berdasarkan panjang dan atau berdasarkan ketebalan sehingga diperoleh benih yang bermutu tinggi dan seragam.



Gambar 6.13.

Benih padi yang seragam menghasilkan benih yang bermutu tinggi.

Proses pengolahan benih merupakan proses yang cukup kritis. Jika saat di lahan, orientasi produksi maksimal merupakan tujuan utama, maka pada proses pengolahan benih, orientasi mutu maksimal merupakan prioritasnya. Jika produksi di lapang harus lulus standar lapang maka proses pengolahan benih pun harus lulus standar laboratorium.



Gambar 6.14

Perkembangan biji padi pada bagian luar dan bagian dalam, mulai dari biji muda sampai siap panen (kiri) dan Benih padi (kanan)

### c. Penyimpanan

Benih yang telah kering dan bersih dikemas dalam karung atau kemasan siap salur dan kemudian disimpan di dalam ruang penyimpanan. Ruang penyimpanan benih diusahakan mempunyai ventilasi yang baik agar kualitas benih dapat terjaga. Benih dalam karung dapat ditumpuk dan antara tumpukan karung diberi jarak untuk memudahkan pemeriksaan atau pengontrolan dalam pengendalian mutu benih oleh penangkar. Bagian bawah tumpukan karung diberi alas berupa potongan kayu (balok) sehingga karung tidak berhubungan langsung dengan tanah atau lantai yang memungkinan naiknya kelembaban.

Pemberian jarak di antara tumpukan karung maupun dengan alas lantai berguna untuk memperlancar sirkulasi udara. Lama penyimpanan benih hendaknya memperhatikan masa berlakunya label benih. Masa berlakunya label benih padi 6 bulan sejak selesainya pengujian dan paling lama 9 bulan setelah tanggal panen. Sebelum disimpan, pada umumnya benih diberi berbagai perlakuan pelapisan benih (seed coating), kemudian benih-benih tersebut akan diuji dengan berbagai peralatan modern.



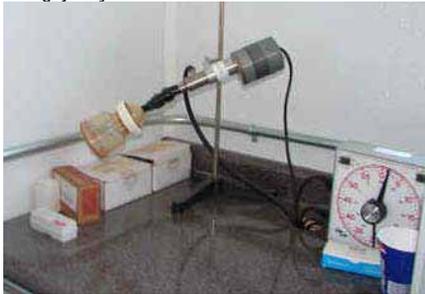
Gambar 6.15

Rotary Batch Lab treater, yang digunakan untuk memberi perlakuan pada benih seperti pelapisan benih dengan pestisida ataupun bahan perlakuan benih yang lainnya.



Gambar 6.16

Plantability Checks yang digunakan untuk menguji daya tumbuh benih.



Gambar 6.17.

Dust Off Test yang digunakan untuk mengukur konsentrasi debu pada benih tanaman.



Gambar 6.18

Germination Test yang digunakan untuk menguji daya kecambah benih

### 6.3 Pra-panen produksi benih padi hibrida

Sejalan dengan pertambahan penduduk di Indonesia maka kebutuhan beras dari tahun ke tahun selalu meningkat. Jika produksi beras diharapkan meningkat, maka kebutuhan benih padi pun akan meningkat.





Gambar 6.19

Treatment Analysis yang digunakan adalah GC (Gas Chromatography) dan HPLC (High Performance Liquid Chromatography). Kedua alat ini digunakan untuk menganalisis berbagai bahan yang digunakan untuk perlakuan benih.

Teknik produksi padi lokal dan hasil introduksi masih belum cukup untuk mengatasi hal tersebut, oleh sebab itu dibutuhkan alternatif baru yaitu produksi benih padi hibrida.

Pada prinsip rangkaian proses produksi benih padi hibrida sama dengan produksi benih padi bersertifikat. Perbedaan terdapat pada tahapan penyiapan galur induk jantan dan betina yang berasal dari jenis yang berbeda sifat genetiknya. Sebagai contoh adalah jantan mempunyai sifat genetik produksinya tinggi (diatas 5 ton per hektar) sedangkan induk betina mempunyai sifat genetik enak rasanya. Pada umumnya persilangan kedua galur jantan dan betina ini sudah diuji berulang kali melalui penelitian yang panjang. Teknologi produksi benih hibrida sangat berbeda dari varietas non hibrida. Benih hibrida harus diproduksi setiap musim tanam, dan

dipertahankan kemurnian genetiknya hingga lebih dari 98% agar dicapai hasil yang memuaskan.

Sebagai contoh kasus produksi benih hibrida akan disampaikan berdasarkan hasil penelitian IRRI (International Rice Research Institute) yang berlokasi di Filipina yaitu varietas Magat (PSB Rc26H, lama penanaman 110 hari dengan rata-rata produksi 5.6 ton/ha), Metsizo (PSB Rc72H dengan waktu penanaman 123 hari dan rata-rata hasil 5.4 t/ha) dan Panay (PSB Rc76H dengan waktu penanaman selama 106 hari dan hasil produksi rata-rata 4.8 t/ha).

Benih padi hibrida dihasilkan ketika sel telur dari induk betina dibuahi oleh serbuk sari dari anther varietas yang berbeda atau galur yang digunakan sebagai induk jantan. Hasil persilangan kedua induk tersebut disebut sebagai *First Generation* atau turunan generasi pertama atau *first filial generation* dan dikenal dengan istilah (*F1*) yang merupakan hasil persilangan antara dua varietas padi yang berbeda secara genetik. Padi hibrida pada umumnya memberi peluang hasil produksi yang lebih tinggi. Menurut IRRI (2006) Benih padi hibrida *F1* menghasilkan keuntungannya sekitar 10-15% dibandingkan dengan varietas yang dihasilkan melalui persilangan sendiri. Menghadapi kondisi lahan budidaya padi yang semakin menyempit, maka penggunaan

varietas hibrida merupakan salah satu solusi yang tepat. Sebelum melakukan serangkaian proses produksi benih padi hibrida, sebaiknya dianalisis terlebih dahulu standar benih padi hibrida yang telah ditetapkan. Penguasaan informasi tentang standar kualitas benih dapat memudahkan pengelolaan proses kegiatan di lapangan budidaya. Sebagai contoh untuk standar kemurnian benih padi hibrida adalah 98%, artinya penangkar benih harus melakukan roguing dengan sangat

seksama jangan sampai ada varietas lain yang tumbuh selain 2 varietas induk jantan dan induk betina yang direncanakan untuk disilangkan agar menghasilkan benih padi hibrida. Contoh kedua adalah tentang standar kadar air maksimal 14%. Dengan adanya pengetahuan tentang informasi standar benih padi tersebut, maka penangkar benih akan melakukan kegiatan pengeringan benih sampai dengan kadar airnya  $\leq 14\%$ .

Tabel 6.1 Ukuran standar benih padi F1

STANDAR BENIH	
FAKTOR	F1 Seed (%)
Kemurnian benih (min.)	98
Benih lain atau biji gulma (max.)	10
Bahan lain yang terbawa (max.)	2
Biji beras merah /500 gr (max.)	2
Biji varietas lain/500 gr (max.)	20
Daya kecambah (min.)	85
Kadar air (max.)	14

**a. Membibitkan galur induk benih sumber**

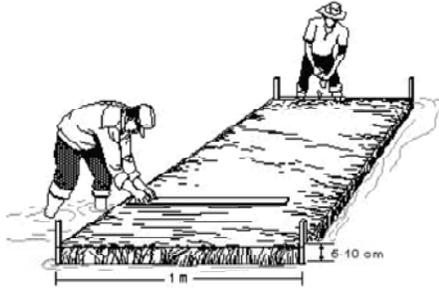
Galur induk benih sumber adalah benih yang berasal dari suatu galur tertentu yang digunakan untuk sumber induk jantan dan betina yang mempunyai sifat genetik yang berbedasesuai dengan harapan penangkar benih. Untuk melakukan kegiatan pembibitan padi hibrida sama dengan proses membibitkan padi non hibrida. Perbedaan yang harus diperhatikan adalah pada

pembibitan padi hibrida para penangkar harus membibitkan dua varietas galur induk hibrida yang akan dijadikan sebagai sumber benih jantan dan sumber benih betina.

Proses membibitkan galur induk benih sumber untuk bibit padi jantan dan betina mempunyai keuntungan sebagai berikut:

- Benih padi lebih cepat berkecambah (germinasi yang lebih cepat)

- Menghasilkan bibit yang lebih sehat dengan vigor yang lebih baik .
- Kebutuhan benih lebih sedikit.



Gambar 6.20

Dua tempat pembibitan yang disiapkan untuk sumber bibit jantan dan betina. Pembuatan bedengan pada umumnya berukuran lebar meter, tinggi 5-10 cm dan panjang disesuaikan dengan kebutuhan bibit padi yang akan ditanam

Dalam rangka menyiapkan bedengan untuk tempat pembibitan sumber benih jantan dan betina dilakukan langkah kerja sebagai berikut:

- Lahan bedengan digenangi sebanyak tiga kali dengan interval waktu setiap 7 (tujuh) hari. Kegiatan ini berfungsi untuk membunuh benih gulma atau padi liar.
- Bedengan pembibitan sebaiknya mempunyai ketinggian 4-5 cm lebih tinggi dari permukaan lumpur

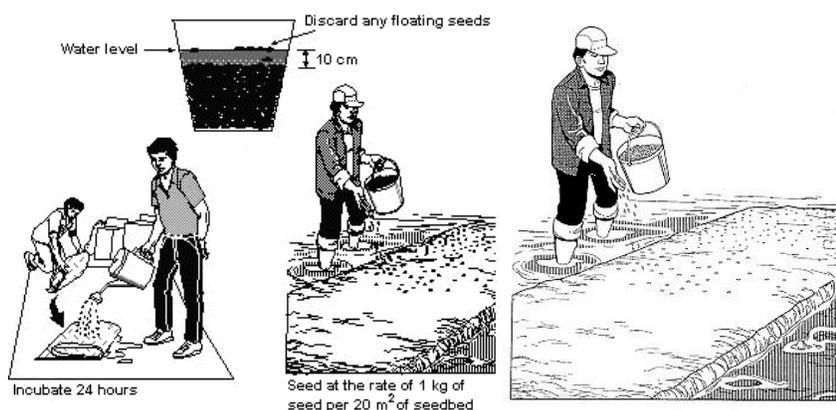
sawah dengan ukuran lebar 1 meter dan panjang sesuai dengan kebutuhan benih.

- Berikan pemupukan dengan pupuk organik dengan dosis 1.25 Kg/m<sup>2</sup>
- Sumber benih padi jantan disembarkan pada bedengan kecil yang telah disediakan (bedengan pendek ± 250-300 m<sup>2</sup> /ha produksi benih) dan benih betina disembarkan pada bedengan yang terpisah dari benih jantan (bedengan panjang ± 700-750 m<sup>2</sup> /hektar produksi benih).

Untuk memproduksi benih padi hibrida seluas satu hektar harus disiapkan 1000m<sup>2</sup> bedengan pembibitan (1000 m<sup>2</sup> bibit/1 hektar)

#### b. Perlakuan benih sebelum proses perkecambahan

- Benih gaur A (benih sumber betina) direndam dalam air bersih selama 12 jam. Benih galur R (benih sumber jantan) direndam selama 24 jam. Air rendaman benih diganti setiap 6 jam.



Gambar 6.21.

Benih diinkubasikan selama 12-24 jam (a). Penaburan benih pada bedengan (b)

- Kedua sumber benih yang telah direndam selanjutnya diaduk-aduk selama  $\pm 3-5$  menit. Benih-benih padi yang mengambang (tidak bernas/ kosong) dibuang. Benih yang tenggelam merupakan indikator bahwa benih tersebut bernas dan diharapkan dapat berkecambah dengan baik.
- Benih-benih yang akan diinkubasikan dicuci sampai bersih (proses ini diharapkan dapat mengurangi jumlah inokulum patogen (sumber penyakit) yang terbawa dalam air rendaman).
- Benih galur jantan dan betina diinkubasikan pada wadah terpisah dengan kondisi yang sama selama 24 jam dalam tempat yang terlindung.

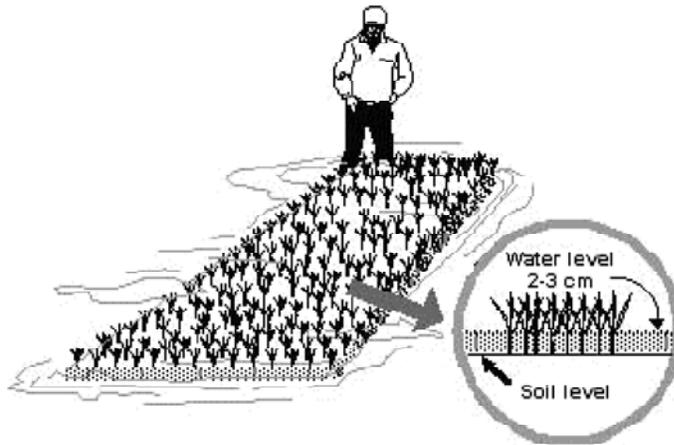
#### c. Kebutuhan benih

Kebutuhan benih untuk satu hektar sebanyak 20-25 kg galur-A (betina); dan 10 kg galur-R (jantan).

Kepadatan benih padi sebanyak 25 gram benih/m<sup>2</sup>. Pembibitan dengan kepadatan rendah (jarang) akan menghasilkan bibit dengan vigor (performansi bibit) sebagai berikut: anakan banyak, tegakan batang pendek, daun berwarna lebih hijau, dan akumulasi bahan kering lebih tinggi. Vigor bibit seperti tersebut di atas disebabkan oleh tingkat kompetisi antar tanaman yang rendah, dibandingkan dengan bibit padi yang disemaikan dalam kondisi kepadatan yang tinggi.

#### d. Interval Pembibitan

Pembibitan tanaman benih dilakukan melalui beberapa kali penyemaian. Untuk penyemaian pada musim kemarau dan musim hujan. Pada kedua musim tersebut kegiatan penyemaian, varietas induk yang digunakan dan tingkat kepadatan semai dapat dilihat pada tabel 6.2.



Gambar 6.22.  
Bibit padi pada bedengan pembibitan

#### e. Pemeliharaan Bedengan

Pemeliharaan bedengan dapat dilakukan dengan langkah-langkah sebagai berikut : Air di lahan produksi diupayakan selalu jernih sampai dengan bibit padi mempunyai 4 helai daun atau bibit padi berumur 10 hari setelah tanam (HST) dan sesekali harus dilakukan pengurasan air sehingga dihasilkan bibit padi dengan kualitas vigor yang baik. Tingkatkan ketinggian air (2-3 cm) secara bertahap, hal ini berfungsi untuk mengendalikan gulma. Gulma-gulma yang tumbuh dibedengan harus dikendalikan secara manual (dengan tangan). Pada saat 10 HSS (hari setelah semai), sebarkan 5-10 gram pupuk majemuk 14-14-14 atau 16-20-0 atau yang setara dengan dosis tersebut.

#### f. Persyaratan Lahan Produksi

Lahan produksi padi hibrida diharapkan dapat memenuhi kriteria sebagai berikut:

- Lahan produksi cukup cahaya
- Tanah mempunyai predikat subur
- Iklim lingkungan sesuai dengan syarat tumbuh padi
- Drainase dan irigasi berkualitas baik.
- Tingkat serangga hama dan penyakit rendah.
- Lahan terisolasi dari lahan sawah lain.

Dalam produksi benih padi hibrida, lahan produksi diharapkan terisolasi dari sawah lain. Persyaratan ini berfungsi untuk

menjaga kemurnian genetik benih padi hibrida (F-1) atau menghindari cross polination (penyerbukan silang). Jenis isolasi untuk produksi benih padi hibrida adalah

Isolasi jarak: Pertahankan jarak lahan produksi padi hibrida sekurang-kurangnya 100 meter dari plot lain atau varietas padi lainnya

Tabel 6.2 Waktu semai dan tingkat pembibitan tiga jenis induk padi Musim Kemarau (MK)

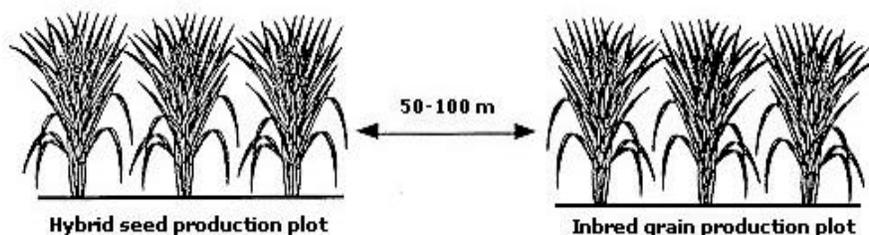
Waktu semai	Induk	Tingkat pembibitan (kg/ha)
Hari ke-1	34686 R1	5.0
Hari ke-7	IR 34686 R2	5.0
Hari ke-10	IR 58025 A	20 – 25
<b>Musim Hujan (MH)</b>		
Waktu Semai	Induk	Tingkat pembibitan (kg/ha)
Hari ke-1	IR 34686 R1	5.0
Hari ke-7	IR 34686 R2	5.0
Hari ke-21	IR 58025 A	20 – 25

Catatan:

Galur-A disemaikan satu kali dan Galur-R disemaikan dua kali.

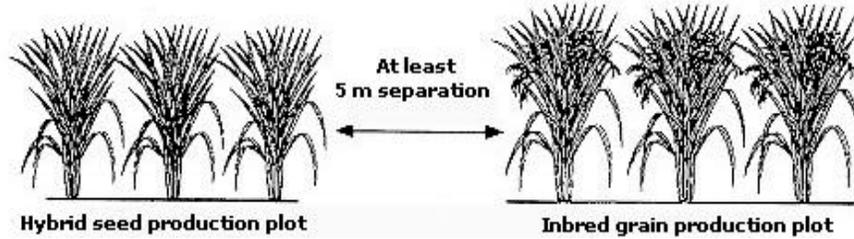
MK – interval pembibitan antara A & R1 adalah 8-10 hari.

MH – interval bibit antara A & R1 adalah 20-21 hari

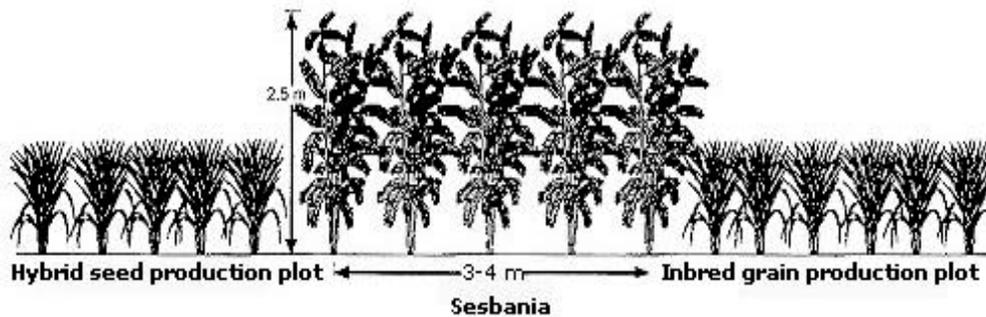


Gambar 6.23.

Isolasi jarak pada produksi benih padi hibrida, sekurang-kurangnya 50-100 cm



Gambar 6.24  
Isolasi waktu penanaman benih. Sekurang-kurangnya dipisahkan dengan jarak 5 m, untuk perbedaan pembungaan lebih dari 3 minggu



Gambar 6.25.  
Isolasi dengan penghalang berupa tanaman lain.

- isolasi waktu: Upayakan waktu penanaman padi hibrida agar periode pembungaan induk hibrida akan berlangsung sekurang-kurangnya 21 hari lebih awal daripada varietas lain atau 21 hari lebih lambat dari varietas lain yang ditanam pada areal produksi lain yang terdekat.
- Isolasi penghalang (barrier): Isolasi barrier (penghalang) umumnya berupa penghalang yang secara khusus dipersiapkan berupa suatu bahan atau tanaman dengan ketinggian sekurang-kurangnya 2.5 meter.
- Isolation geografis: Isolasi geografis dilakukan dengan cara menyeleksi area produksi benih padi hibrida agar terlindungi oleh tanaman lain yang tinggi atau berada didaerah yang terisolir (area produksi benih berada disekitar perkebunan tanaman seperti pisang, kelapa atau tanaman lainnya, yang terpenting adalah lahan produksi benih padi hibrida terisolasi dari penyerbukan silang padi, dan terhindar dari serangan HPT).

Isolasi geografis merupakan isolasi terbaik dibanding dengan isolasi yang lainnya.

**g. Penanaman**

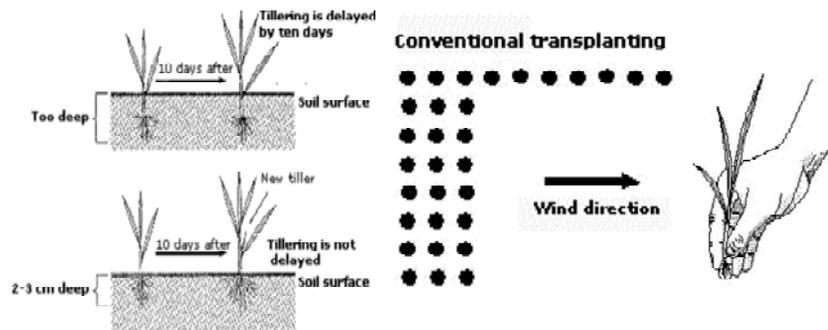
Kegiatan penanaman benih dilakukan sebagai berikut: Barisan bibit tanaman padi yang lurus akan memudahkan pengelolaan produksi benih padi hibrida karena akan memudahkan kegiatan pengendalian gulma, roguing dan pengendalian HPT). Jarak tanam yang diaplikasikan sesuai dengan anjuran akan memaksimalkan jumlah tanaman per hektar dan produksi benih padi hibrida.

Penanaman bibit padi baru dapat dilakukan setelah persiapan lahan dianggap memenuhi syarat. Penanaman bibit umumnya adalah sebagai berikut:

- Bibit padi R-1 dan R-2 yang berumur 20 HSS ditanam pada baris R dan bibit A berumur 10 HSS (atau 21 HSS pada saat musim hujan) ditanam pada baris A. Semua bibit padai ditanam dengan jarak tanam 20 x 15 cm dengan kedalaman 2-3 cm, hal ini akan memudahkan pertumbuhan dan perkembangan bibit serta tillering.

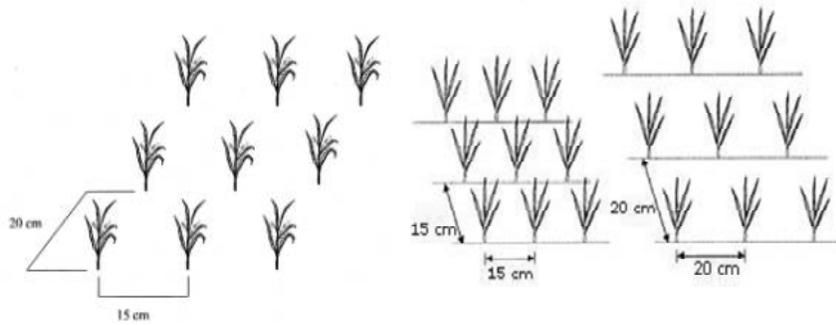
Rasio baris adalah 2:8 (R:A) untuk musim hujan dan 2:12 untuk musim kemarau.

**1) Teknik penanaman**



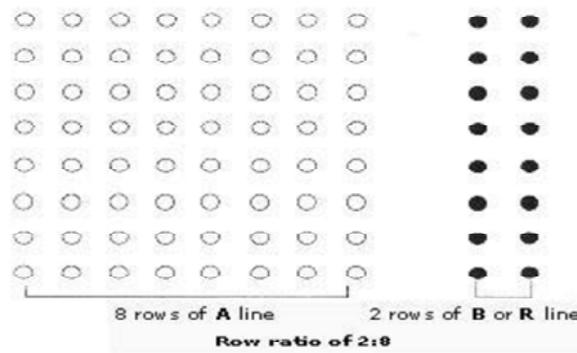
Gambar 6.26

Penanaman bibit padi di lahan produksi, dan pengaturan posisi penanaman bibit secara konvensional



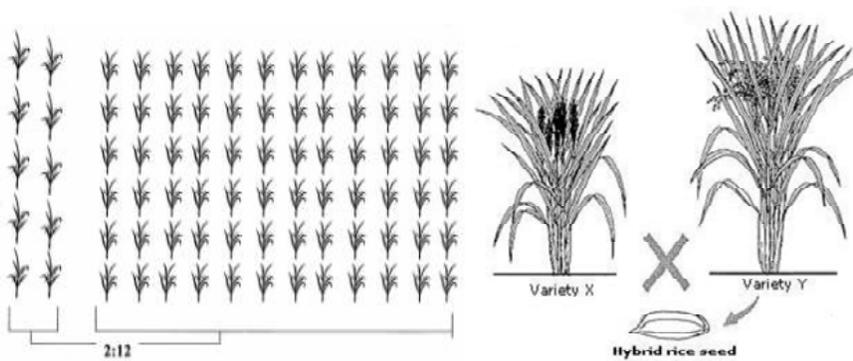
Gambar 6.27.

Jarak tanam yang dianjurkan adalah 15 x 20 cm (a). Modifikasi jarak tanam adalah 15 x 15 cm atau 20 x 20 cm (b).



Gambar 6.27a.

Posisi dan rasio penanaman bibit induk betina dan jantan



Gambar 6.28.

Posisi penanaman benih induk betina dan induk jantan.

- Penanaman dilakukan dengan rasio satu bibit/titik tanam untuk baris-A dan 2-3 bibit/titik tanam pada baris-R.
- Lakukan observasi secara seksama pada baris tanaman. Hal ini dilakukan untuk memastikan bahwa pada periode pembungaan, penyebaran serbuk sari dari bunga jantan akan berlangsung dengan mudah menyerbuki bunga betina

## 2) Penyulaman bibit

Penyulaman bibit padi hibrida bertujuan untuk mengganti bibit yang tidak tumbuh dan berkembang dengan baik, sehingga harus diganti dengan bibit baru yang mempunyai vigor (kualitas) yang baik. Kegiatan pembibitan diupayakan dalam kondisi sebagai berikut:

- Lahan sawah harus selalu cukup air (macak-macak), untuk menjamin tumbuhnya bibit selama 4-5 hari, kemudian permukaan air swah dinaikkan secara perlahan sampai naik setinggi 2-3 cm.
- Penyulaman bibit dilakukan pada saat 5 hari setelah tanam.
- Perhatikan dengan seksama agar bibit pada baris-A benar-benar ditanami secara penuh pada baris sebelah kanan.

### h. Pemeliharaan tanaman

#### 1) Pengendalian hama, penyakit dan gulma

Pengendalian hama dan penyakit tanaman padi harus dilakukan secara terpadu melalui proses observasi hama dan penyakit sesuai dengan hasil informasi dari SLPHT (Sekolah Lapang Pengendalian Hama dan penyakit secara Terpadu). Hama dan penyakit tanaman padi dikendalikan dengan menggunakan perpaduan pengendalian secara kultur teknis (memberikan unsur hara yang berimbang, menggunakan varietas tahan hama dan penyakit tertentu sehingga mengkondisikan tanaman padi dalam keadaan sehat dan mempunyai daya tahan terhadap serangan hama penyakit tanaman), fisik, mekanik atau menggunakan metode pengendalian secara terpadu. Pengendalian secara kimia akan dilakukan jika populasi hama atau penyakit melebihi ambang batas ekonomi.



Gambar 6.29.  
Penyulaman bibit tanaman padi.

Pengendalian gulma bertujuan untuk mengurangi kompetisi dalam hal tempat tumbuh, air, cahaya matahari, dan unsur hara. Pengendalian gulma dapat dilakukan dengan menggunakan

metoda dicabut langsung dengan tangan, secara mekanik (menggunakan caplak bambu) atau secara kimia (menggunakan herbisida) atau dengan pengendalian gulma secara terpadu.

## 2) Pemupukan

Padi hibrida sama dengan padi non hibrida yakni membutuhkan hara untuk menunjang pertumbuhan dan perkembangan. Untuk mengoptimalkan suplai hara maka pemupukan dilakukan harus sesuai dengan rekomendasi terutama pupuk P dan K serta pupuk organik (diaplikasikan sebelum pembajakan yang terakhir). Pupuk Nitrogen diaplikasikan dalam 3 waktu:

- 1/3 5-7 hari setelah tanam.
- 1/3 20-25 hari setelah tanam.
- 1/3 at 5-7 hari sebelum inisiasi bunga (panikel).

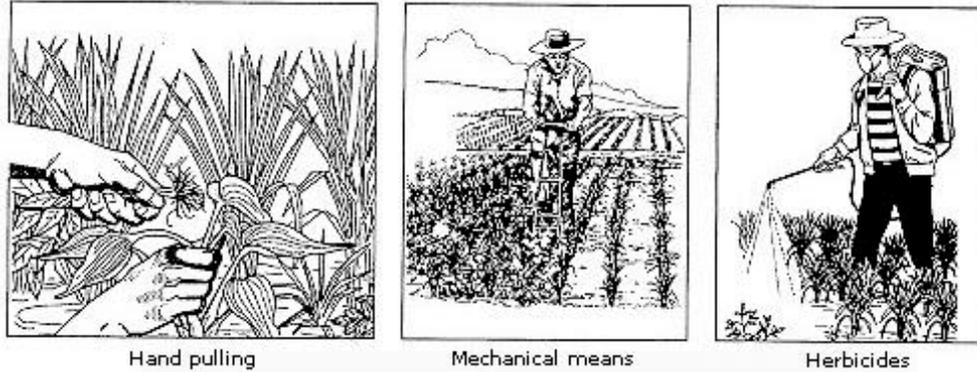
Pemupukan untuk musim hujan adalah sebanyak 60-90 Kg Nitrogen, 40 Kg pupuk Fosfat dan 45 kg pupuk Kalium per hektar. Untuk musim kemarau pemupukan direkomendasikan sebagai berikut: 120 Kg Nitrogen, 50 Kg Fosfat dan 60 kg Kalium per hektar.

## 3) Pengairan

Selama proses produksi benih padi hibrida pengelolaan air harus mendapat perhatian terutama pada masa-masa kritis seperti saat menjelang pembungaan, saat aplikasi ZPT dan saat menjelang panen. Selama masa budidaya air sawah harus selalu diamati dan upayakan agar permukaan air selalu setinggi 2-3 cm.



Pesticide application



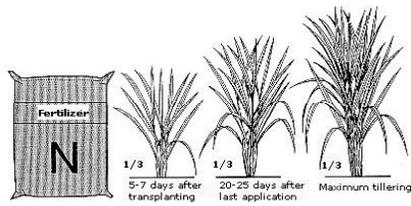
Gambar 6.30.

Pengendalian hama dan penyakit tanaman secara kimiawi (a). Pengendalian gulma secara manual , mekanik dan kimiawi (b).

Pada saat masa jumlah anakan mencapai maksimum, kurangi suplai air sampai kondisi lahan sawah lembab dan terlihat beberapa rekahan halus pada tanah sawah. Setelah masa anakan, amati permukaan air sawah agar diupayakan selalu setinggi 3-5 cm selama inisiasi bunga (naikkan permukaan air sedikit demi sedikit sampai dengan 3-5 cm sampai dengan masa generatif). Pada saat tanam menjelang stadium generatif kurangi air sampai dengan kondisi macak-macak (selama masa pembungaan) kemudian naikan permukaan air setinggi 3-5 cm pada saat aplikasi Zat Perangsang Tumbuh (ZPT) GA3. Selama masa pengisian biji, kondisi air harus dalam keadaan cukup dengan permukaan air sekitar 3-5 cm. Pada saat 2 minggu sebelum panen, air harus dikeringkan dan dipertahankan terus sampai dengan masa panen.

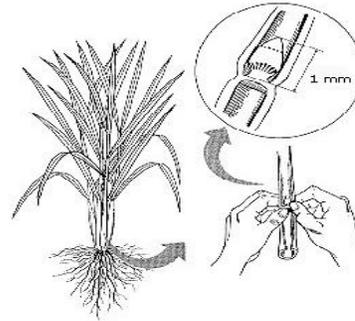
#### 4) Pembungaan

Pada kegiatan produksi benih padi hibrida, masa pembungaan harus diperkirakan seakurat mungkin (perkiraan harus tepat). Kondisi ini diperlukan untuk memaksimalkan hasil persilangan antara bunga jantan dengan bunga betina. Perubahan cuaca akan mempengaruhi kegiatan produksi benih terutama sangat berpengaruh terhadap sinkronisasi pembungaan. Oleh sebab itu perkiraan pembungaan harus diupayakan diprediksi secara tepat. Pengamatan pertumbuhan *panicle* pada baris-A dan baris-R sangat berguna terutama untuk menentukan masa pembungaan yang tepat yang harus diatur atau disesuaikan (sinkronisasi pembungaan).



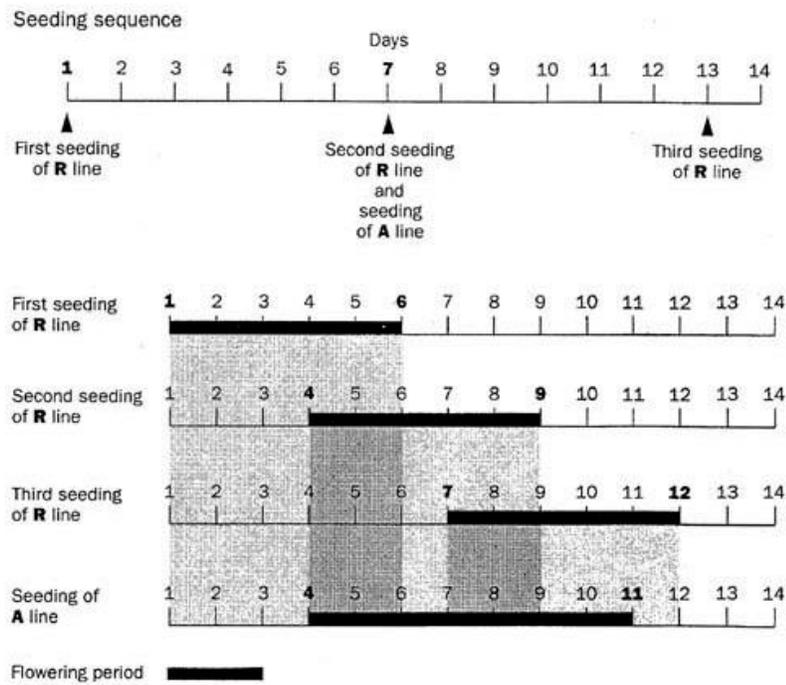
Gambar 6.31.

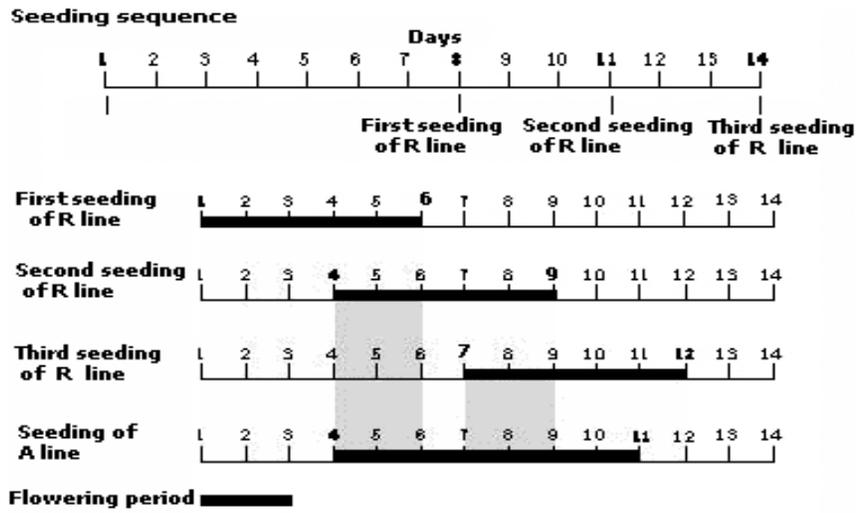
Tiga waktu pemupukan yang dianjurkan, yaitu 5-7 hari setelah tanam, 20-25 hari setelah pemupukan pertama, dan menjelang pembungaan.



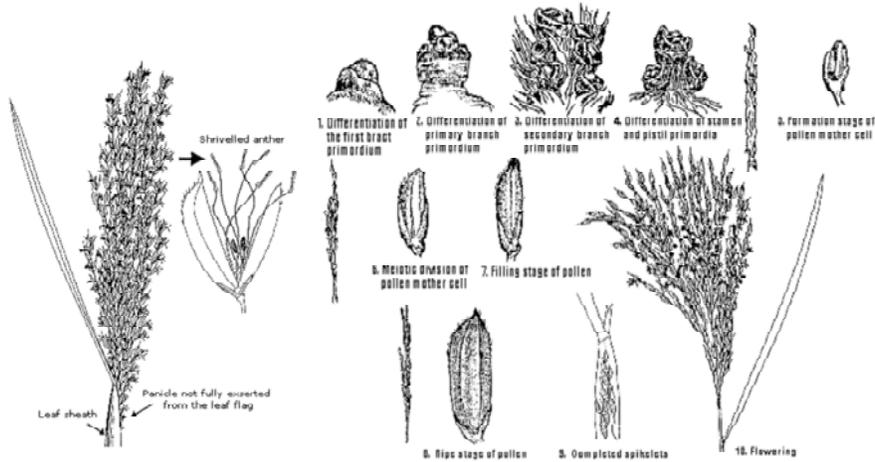
Gambar 6.32  
Pengamatan inisiasi panicle

Berikut ini proses sinkronisasi pembungaan yang umum dilakukan untuk memproduksi benih padi hibrida.





Gambar 6.33  
Singkronisasi pembungaan



Gambar 6.34  
Proses perkembangan bunga padi (a). Sepuluh tahap perkembangan panikel padi (b).

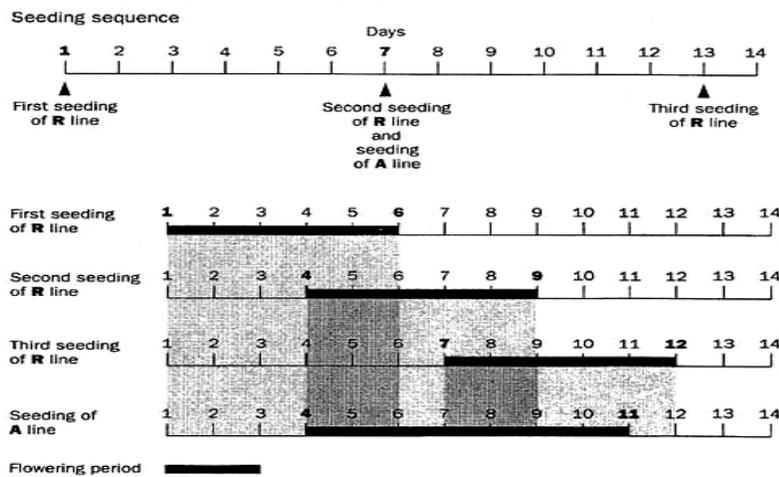
### 5) Penyesuaian waktu pembungaan

Pada kondisi yang sesungguhnya di lapangan, pembungaan bunga jantan dan betina seringkali muncul tidak sesuai dengan perkiraan. Jika induk padi hibrida berbunga terlalu awal, maka masa pembungaan dapat diundurkan dengan mengurangi aplikasi pupuk Nitrogen sebanyak 2% dari dosis rekomendasi. Kemudian air sawah dikurangi dan daun dipangkas. Jika masa pembungaan harus dipercepat, maka proses tersebut dapat diupayakan dengan menyemprot 1% pupuk P (fosfat) atau  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ . Selain itu pertahankan agar air selalu tersedia di sawah dan lakukan penyemprotan GA3.

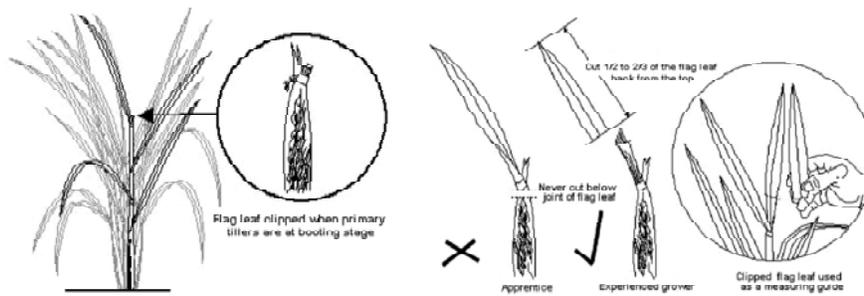
### 6) Pemangkasan daun

Pada masa pembungaan dan menjelang masa penyerbukan padi hibrida, semua organ tanaman yang

menghalangi proses penyerbukan harus dibuang. Oleh sebab itu pangkas semua barier sehingga mendorong penyerbukan silang. Daun bendera harus dipotong 1/3 sampai 1/2-nya. Potongan daun jangan dibuang ke lahan produksi. Sisa potongan daun yang terserang hama dan penyakit dapat menjadi sumber penyakit dan menularkan patogen ke tanaman induk sehingga akan mengganggu kesehatan tanaman dan dapat menyebabkan penurunan produksi benih (produksi lebih rendah dari harapan). Pemotongan daun bendera sebaiknya dilakukan pada saat cuaca cerah atau lebih baik pada musim kemarau. Kondisi ini akan mendorong serbuk sari dapat menyebar secara luas sehingga akan menghasilkan banyak calon benih.



Gambar 6.35  
Sinkronisasi Pembungaan



Gambar 6.36.

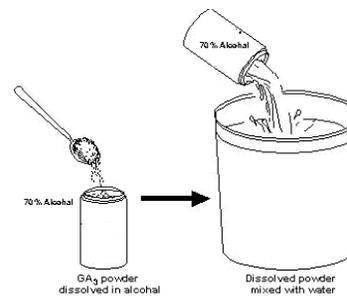
Daun bendera yang harus dibuang (a). Teknik pemotongan daun bendera yang dianjurkan (b).

### 7) Aplikasi Gibberellic Acid (GA3)

Giberelic Acid (GA3) merupakan salah satu ZPT yang sering digunakan untuk meningkatkan keberhasilan proses pembungaan dan pembuahan pada tanaman. Demikian pula pada proses produksi benih padi hibrida, GA3 berfungsi untuk membantu meninggikan tanaman baik itu induk jantan ataupun betina; mendorong keluarnya *panicle* dari daun bendera; meningkatkan waktu membukaan bunga betina sehingga meningkatkan peluang diserbuki oleh bunga jantan; meningkatkan kekuatan dan pembentukan tangkai sari serta memperpanjang durasi stigma membentuk serbuk sari.

Aplikasi GA3 yang optimal adalah sebanyak 100-150 gram/hektar untuk 3 kali penyemprotan. Penyemprotan pertama sebanyak 30% dari dosis; penyemprotan ke-2 sebanyak 50% dari dosis dan penyemprotan terakhir sebanyak 20% dari dosis.

Penyemprotan sebaiknya dilakukan pada saat sore hari yang cerah. Jangan melakukan penyemprotan GA3 jika diduga akan turun hujan pada 24 jam setelah penyemprotan GA3. Lakukan penyemprotan pada saat hari tenang jika memungkinkan tidak ada angin sehingga GA3 dapat menyebar dengan merata di lapangan.



Gambar 6.37.  
Pembuatan larutan GA3

### 8) Bantuan penyerbukan (Polinasi)

Pada produksi benih padi lokal atau non hibrida, penyerbukan dilakukan secara alami tanpa tindakan bantuan/perlakuan khusus. Untuk

produksi padi hibrida, proses penyerbukan harus dibantu dengan cara menggoyangkan tangkai malai induk jantan pada saat stadium pembungaan yakni bersamaan dengan periode pematangan serbuk

sari. Perlakuan bantuan polinasi diharapkan dapat membantu menyebarkan serbuk sari dari induk jantan agar menempel dengan baik pada putik induk betina.

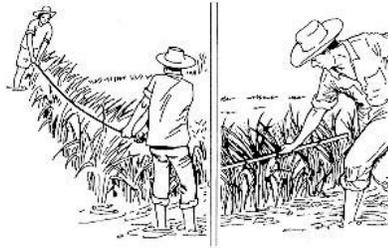
Tabel 6.4 Kebutuhan Volume Larutan GA3 dengan alat *Knapsach sprayer*

Area (m <sup>2</sup> )	vol(lt.) air	Konsentrasi			
		60 ppm		30 ppm	
		100%	90%	100%	90%
1000	50	3.0	3.3	1.5	1.7
2000	100	6.0	6.7	3.0	3.3
4000	200	12.0	13.3	6.0	6.7
6000	300	18.0	20.0	9.0	10.0
8000	400	24.0	26.7	12.0	13.3
10000	500	30.0	33.3	15.0	16.7
Ultra-low volume sparyer					
1000	2	1.0	1.1	0.5	0.6
1500	3	1.5	1.7	0.7	0.8
2000	4	2.0	2.2	1.0	1.1
2500	5	2.5	2.8	1.3	1.4
5000	10	5.0	5.6	2.5	2.8
7500	15	7.5	8.3	3.8	4.2
10000	20	10.0	11.2	5.0	5.6

Untuk membantu proses penyerbukan tersebut dapat dilakukan dengan cara tangkai malai digoyang dengan tangan atau gunakan tongkat bambu dan pukulkan dengan perlahan ke pangkal tangkai malai induk jantan. Penyerbukan harus dilakukan tepat waktu yaitu lakukan penyerbukan pada saat hari tenang dan angin

sepoi-sepoi(1-3 km/hr). Bantuan polinasi dapat dilakukan pada saat pagi hari ketika bunga membuka dengan sempurna baik itu bunga dari induk betina maupun jantan, sehingga serbuk sari menyebar dengan sempurna pada putik bunga betina. Kanopi tanaman digoyangkan setiap 30 menit sampai dengan bunga padi

menutup (umumnya pukul 10.00 sampai dengan pukul 13.30).

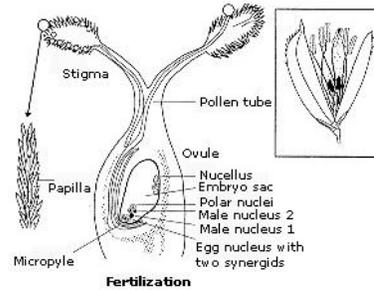
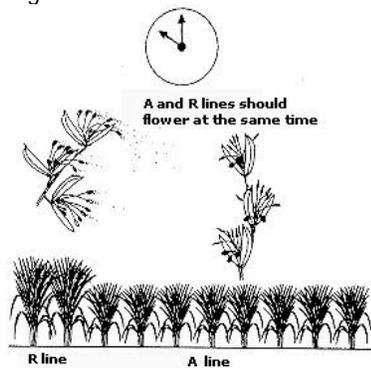


Gambar 6.38.

Bantuan penyerbukan dengan menggunakan potongan bambu.

### 9) Roguing

Pada proses produksi benih padi hibrida, proses roguing mutlak dilakukan. Roguing berfungsi untuk membuang tumbuhan yang tidak dikendaki (dari spesies ataupun varietas yang berbeda). Pembuangan varietas lain harus dilakukan karena dapat menyebabkan penyerbukan silang dengan baris-A sehingga akan menyebabkan menurunnya kemurnian benih hibrida yang diinginkan.



Gambar 6.38.

Waktu pembungaan bunga betina diupayakan harus bersamaan dengan bunga jantan (a). Fertilisasi pada bunga betina padi (b).

Waktu yang paling tepat untuk melakukan kegiatan roguing adalah pada saat tanaman mulai tumbuh di lahan. Roguing sangat penting dilakukan pada stadium tanaman jumlah anakan yang maksimum, saat pembungaan dan sebelum panen.

Roguing dilakukan pada semua tumbuhan yang terdapat pada jarak antar baris. Semua tanaman yang tumbuh lebih pendek atau lebih tinggi dari benih tanaman atau induk jantan harus dibuang (dicabut). Semua organ tanaman yang terlihat terserang hama atau penyakit harus dibuang dari lahan produksi. Selain itu buang tipe tanaman yang mempunyai bentuk dan ukuran daun bendera berbeda atau mempunyai seludang daun yang berbeda warnanya.

Roguing dilakukan juga pada saat pembungaan yaitu semua tumbuhan yang tidak diinginkan harus dibuang dari baris-A. Selain itu semua tumbuhan yang

mempunyai periode pembungaan lebih cepat atau lebih lambat harus dibuang. Pada saat menjelang panen semua tumbuhan yang bukan induk padi hibrida harus dibuang dari pada baris-A, begitu pula dengan tumbuhan yang mempunyai bentuk, ukuran dan warna biji yang berbeda harus dibuang. Hal ini dilakukan agar benih padi hibrida tidak tercampur (terkontaminasi) oleh benih padi lainnya.

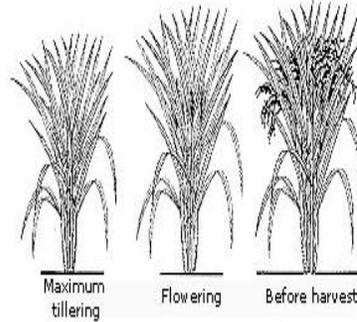


Gambar 6.40. Induk betina (atas) dan induk jantan (bawah) yang siap untuk diserbuki dan menyerbuki

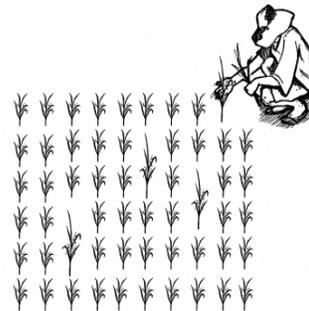
#### 6.4. Perlakuan Pasca Panen

Proses pemanenan dilakukan terlebih dahulu pada baris-R dan dilakukan secara manual, kemudian dilanjutkan dengan baris-A. Proses

pemanenan baris A dapat dilakukan secara manual ataupun secara mekanik. Baris-A yang dipanen disebut F-1 atau benih hibrida. Baris-R jangan digunakan sebagai benih. Hasil panen dari baris R dan baris-A harus benar-benar terpisah selama masa panen, perontokan, pengeringan ataupun pengepakan.



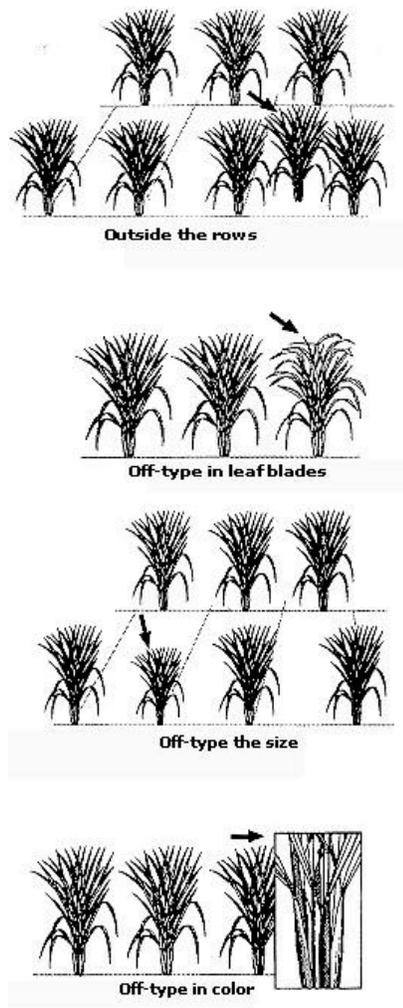
Gambar 6.41. Waktu roguing yang dianjurkan



Gambar 6.42. Kegiatan roguing di lahan produksi benih padi hibrida.

Waktu pemanenan dapat diupayakan pada saat 90% biji sudah berbulir penuh. Biji-biji yang terdapat pada malai padi dari baris A terlihat bernas, bersih dan mengkilat dengan warna gabah yang cerah. Biji padi yang dipanen

harus dipastikan dalam kondisi yang kering. Kegiatan pengeringan lahan dilakukan selama 2 minggu sebelum waktu panen.

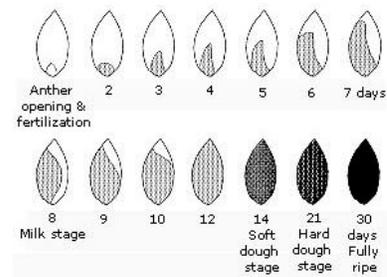


Gambar 6.43. Contoh tumbuhan yang tidak dikehendaki dan harus dibuang pada proses roguing.

#### a. Perontokan

Sebelum proses perontokan, semua peralatan perontokan padi

harus ditempatkan di atas lantai yang benar-benar bersih. Baris-A dirontokkan terlebih dahulu kemudian baris-R. Karung dan kantong benih harus tersedia dalam kondisi bersih dan siap untuk diisi dengan benih. Selama perontokan benih yang berasal dari induk betina (baris-A) harus benar-benar dipisahkan dari biji yang berasal dari induk jantan (baris-R).



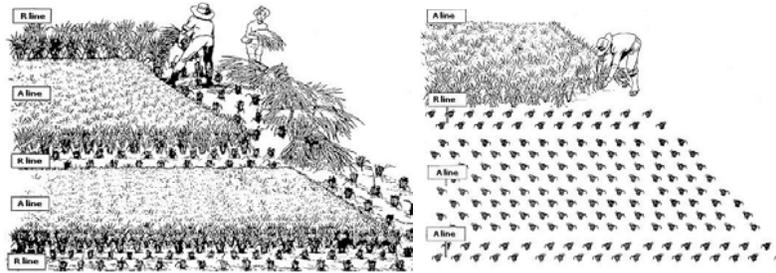
Gambar 6.44. Proses kematangan buah padi.

#### b. Pengeringan dan pembersihan

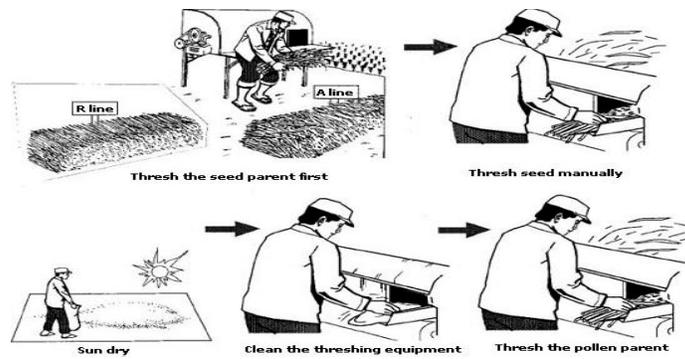
Pengeringan dan pembersihan benih padi harus dilakukan. Kegiatan ini berfungsi untuk mempertahankan kualitas benih agar selalu dapat kondisi yang baik. Benih dikeringkan sesegera mungkin setelah proses perontokan sampai dengan kadar air benih kurang dari 14% (standar benih berkualitas bagus). Benih dapat dikeringkan secara mekanik atau menggunakan pengering dengan *solar sel*. Upayakan untuk tidak menjemur benih secara langsung di atas lantai jemur. Selama pengeringan balikkan benih secara berkala agar

kekeringan merata. Benih yang sudah kering harus dibersihkan dari ketidak murnian seperti harus terbebas dari biji gulma, biji yang belum matang, dan gabah. Benih dapat dibersihkan secara manual dengan cara ditampi, atau menggunakan mesin pembersih

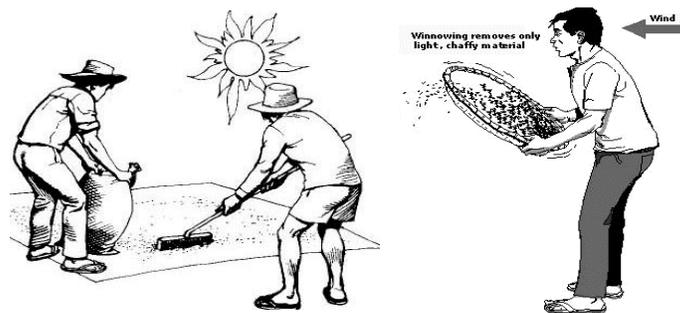
benih. benih yang kering dan bersih dimasukkan dalam kantong yang baru lalu diberi label yang memuat informasi sesuai dengan keperluan (varietas, tanggal panen dan nomor lot benih)



Gambar 6.45 Proses pemanenan benih padi hibrida.



Gambar 6.46 Proses perontokan benih padi.

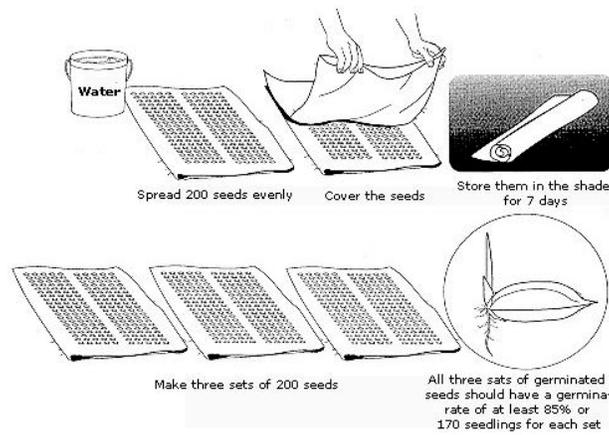


Gambar 6.47 Proses pengeringan benih

**c. Penyimpanan**

Penyimpanan benih padi pada umumnya mempunyai 2 (dua) tujuan yaitu untuk penanaman pada musim berikutnya atau untuk penanaman pada dua musim yang akan datang. Jika benih akan digunakan pada musim tanam yang terdekat dan didistribusikan secepatnya maka benih dapat disimpan pada suhu kamar. Benih

yang akan digunakan pada musim yang akan datang harus disimpan pada kondisi dingin dan kering. Benih yang berkualitas baik adalah benih yang sesuai dengan standar yang ditentukan masing-masing negara. Salah satu kriteria benih berkualitas baik adalah mempunyai daya kecambah minimal 85%.



Gambar 6.48 Teknik pengujian daya kecambah benih padi.

## Ringkasan

Setelah mempelajari BAB 6. siswa telah mampu menguasai kompetensi-kompetensi berikut:

1. Potensi benih tanaman
2. Menerapkan persyaratan kerja
3. Menyiapkan lahan pembenihan
4. Merawat benih tanaman
5. Mengelola alat dan mesin pembenihan
6. Membiakkan tanaman dengan biji

Perlakuan pra-panen benih padi	Perlakuan Pascapanen
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Persyaratan lahan</li> <li>• Benih sumber</li> <li>• Musim tanam</li> <li>• Penyemaian</li> <li>• Penyiapan lahan dan penanaman</li> <li>• Pemeliharaan</li> <li>• Pengairan</li> <li>• Pengendalian OPT</li> <li>•</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Perontokan</li> <li>• Pengeringan</li> <li>• Penyimpanan</li> </ul>
Perlakuan pra panen padi hibrida	Perlakuan pascapanen padi hibrida
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Membibitkan gakar induk benih sumber.</li> <li>• Perlakuan benih sebelum proses perkecambahan</li> <li>• Kebutuhan benih</li> <li>• Interval pembibitan</li> <li>• Pemeliharaan bedengan</li> <li>• Persyaratan lahan produksi</li> <li>• Penanaman</li> <li>• Pemeliharaan tanaman</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Perontokan</li> <li>• Pengeringan dan pembersihan</li> <li>• Penyimpanan</li> </ul>

SOAL:

1. Deskripsikan persamaan dan perbedaan produksi benih padi local dengan padi hibrida.
2. Bagaimana teknik pemeliharaan alat dan mesin yang digunakan dalam proses produksi benih tanaman .

TUGAS:

1. Lakukan identifikasi proses produksi benih yang dilakukan oleh petani dan sekolahmu.
2. Bagaimana system penggudangan benih yang ada di sekolahmu / perusahaan benih di sekitar kotamu



## BAB 7. TEKNIK PRODUKSI BENIH KEDELAI

Ketersediaan benih kedelai di Indonesia masih sangat rendah dibandingkan kebutuhannya. Data Departemen pertanian menunjukkan bahwa produksi kedelai nasional tahun 2000 sebesar 1.017.634 ton dan impor kedelai tahun 1999 sebesar 839.969 ton. Jika ditambahkan dengan impor kedelai hitam untuk kebutuhan industri kecap tahun 1988 yang mencapai 104.867 ton maka total konsumsi kedelai nasional adalah 1.962.470 ton atau hampir 2 juta ton. Jika produktivitas rata-rata kedelai 1 ton/ha maka untuk memenuhi kebutuhan nasional diperlukan lahan produksi seluas 2 juta ha. Ini berarti diperlukan penyediaan benih kedelai sebesar 40 ribu ton per tahun. Ditjentan Pangan (1992) mencatat bahwa pemenuhan benih kedelai bersertifikat secara nasional masih di bawah angka 5%. Rendahnya persentase ini merupakan salah satu kendala utama yang dihadapi dalam pengembangan kedelai nasional.

Di Indonesia tercatat belum ada industri benih yang mengusahakan produksi benih kedelai secara mapan. Sebelum tahun 1986, PT Patra Tani merupakan satu-satunya industri benih kedelai nasional yang sangat besar. Perum Sang Hyang Seri pada waktu itu juga memproduksi benih kedelai, tetapi dalam volume yang terbatas. Setelah tahun 1986

sampai sekarang, PT. Patra Tani tidak lagi memproduksi benih sehingga nyaris tidak ada lagi produsen benih kedelai. Satu-satunya penghasil benih kedelai adalah para penangkar benih lokal dan produsen benih sumber milik Pemerintah, seperti Balai Benih Induk, Balai Benih Utama, dan Balai Benih Pembantu, yang kapasitas penyediaannya sangat terbatas. Fenomena ini yang semakin mendorong petani untuk menyediakan benih kedelai secara sendiri tanpa melalui proses sertifikasi benih.

Beberapa alasan kurang terariknya para investor untuk memproduksi benih kedelai di Indonesia antara lain sebagai berikut :

- Produktivitas tanaman kedelai masih rendah sehingga secara usaha tani kurang menguntungkan.
- Harga kedelai konsumsi nasional rendah sehingga petani kurang tertarik mengusahakannya. Bila menanam kedelai, petani pun enggan membeli benih bersertifikat.
- Masa edar (waktu pemasaran) benih kedelai sangat singkat karena daya simpannya yang sangatsingkat.
- Harga kedelai impor yang lebih murah dari harga kedelai lokal semakin mengecilkan minat

petani dan penangkar benih kedelai. Akibatnya, kedelai hanya sebagai tanaman sela, tanaman tumpang sari, atau sekedar tanaman rotasi.

Meski permasalahan kedelai cukup kompleks, tetapi pengusahaannya perlu terus ditingkatkan karena prospek yang sangat besar. Jika kebijakan Pemerintah telah berubah dan nilai produksi pertanian disejajarkan dengan produk industri non pertanian lainnya maka usaha produksi benih kedelai sangat menguntungkan karena belum ada industri benih yang mengusahakannya. Tentunya usaha yang dilakukan hendaknya diiringi dengan perbaikan-perbaikan, baik varietas tanaman, teknologi budi daya dan pascapanennya, pendekatan lingkungan, serta pengelolaan dan pemasarannya.

Kedelai termasuk tanaman yang menyerbuk sendiri sehingga isolasi jarak hanya 8 meter, sedangkan isolasi waktu hanya 15 hari agar tidak terjadi pencampuran benih antar-varietas. Adapun standar lapang untuk proses produksi benih kedelai bersertifikat dapat dilihat pada tabel 6.5.

### 7.1 Perlakuan Prapanen

Telah dijelaskan bahwa permasalahan produksi benih kedelai cukup kompleks, salah satunya adalah potensi hasilnya yg

masih rendah. Agar penanganan produksi dan pascapanen benih kedelai tidak keliru, sifat-sifat benih kedelai seperti berikut perlu dipahami lebih dahulu.



Gambar 7.1

Pertumbuhan dan perkembangan tanaman kedelai (atas) dan tanaman kedelai (bawah)

- Pada kondisi suhu dan kelembapan yang relatif tinggi, viabilitas (daya tumbuh dan kekuatan tumbuh) benih kedelai mudah menurun akibat laju respirasi yang meningkat.
- Benih bersifat higroskopis sehingga kadar airnya mengikuti kelembapan udara di sekitarnya.

Tabel 7.1 Standar Kondisi Lapangan Untuk Menghasilkan Benih Kedelai Bersertifikat

Kelas Benih	Isolasi Jarak (m)	Varietas Lain dan Tipe Simping Maksimum (%)
Benih dasar	8	0,1
Benih Pokok	8	0,2
Benih sebar		
• Berlabel biru	8	0,5
• Berlabel hijau (ES1 s/d ES4)	8	0,7

- Kulit benih kedelai amat tipis sehingga mudah terinfeksi oleh cendawan, bakteri dan virus, serta rentan terhadap kerusakan fisik dan mekanik
- Saat di pertanaman, kedelai mudah terserang hama penggerek dan pengisap biji.
- Penyakit, terutama hama yang menyerang biji.
- Lahan terbebas dari gangguan gulma.
- Lahan pertanaman bukan bekas pertanaman kedelai varietas yang berbeda, kecuali bila telah diberakan selama 3 bulan. Adapun varietas-varietas kedelai yang direkomendasikan untuk diusahakan dapat dilihat pada tabel 12.

## 7.2 Persyaratan lahan

Beberapa persyaratan yang harus diperhatikan dalam memilih lahan untuk produksi benih kedelai sebagai berikut :

- Lokasi penanaman mempunyai curah hujan sedang (150–200 mm perbulan) pada saat pertumbuhan dan kurang dari 50 mm per bulan pada saat pematangan polong. Suhu harian lokasi penanaman tidak melebihi 35°C dengan kelembaban nisbi yang relatif rendah (sekitar 70%).
- Lahan tergolong subur dan cukup tersedia air.
- Daerah pertanaman bebas dari gangguan hama maupun

## 7.3 Benih sumber

Kebutuhan benih sumber berkelas lebih tinggi  $\pm 40$  kg/ha. Untuk produksi benih berlabel merah jambu (BMJ), dapat digunakan benih sumber dari kelas benih sebar. Benih BMJ masih ditolerir beredar karena dua pertimbangan, yakni (1) sangat minimnya produsen benih kedelai, (2) sangat rendahnya indeks penangkaran (benih sumber menjadi benih komersial), hanya berkisar angka 40.

Tabel 7.2. Karakteristik Berbagai Varietas Kedelai dan Tahun Pelepasannya

Nama Varietas	Tahun Pelepasan	Kisaran Hasil (ton/ha)	Bobot 100 biji (g)	Umur Panen (hari)
<b>A. Umur Genjah</b>				
1. Lokon	1982	1,1 – 2,0	10,8	76
2. Guntur	1982	1,1 – 2,0	10,6	78
3. Tidar	1987	1,4 – 2,0	7	75
4. Petek	1989	1,0 – 1,5	8	80
5. Lumajang Bewok	1989	1,0 – 1,5	9,6	80
6. Lawu	1991	1,2 – 2,0	11	74
7. Dieng	1991	1,2 – 2,0	7,5	78
8. Tengger	1991	1,2 – 2,0	11	79
9. Malabar	1992	1,2 – 2,0	12	70
<b>B. Umur Sedang</b>				
1. Wlis	1983	1,5 – 2,5	10	88
2. Kerinci	1985	1,5 – 2,5	9	87
3. Raung	1986	1,5 – 2,5	13	85
4. Rinjani	1989	1,5 – 2,5	10	88
5. Tambora	1989	1,5 – 2,0	14	85
6. Lampobatang	1989	1,5 – 2,5	10	86
7. Jayawijaya	1991	1,2 – 2,0	9	87
8. Krakatau	1992	1,6 – 2,7	8	85
9. Tampomas	1992	1,5 – 2,5	11	84
10. Cikuray	1992	1,4 – 2,2	12	85
11. Singgalang	1992	1,5 – 2,0	10	85
12. Pangrango	1995	1,7 – 2,2	10	88
13. Argomulyo	1998	1,5 – 2,0	20	82
14. Bromo	1998	1,5 – 2,5	16	85
15. Burangrang	1999	1,5 – 2,5	21	81
<b>C. Umur Dalam</b>				
1. Dempo	1984	1,5 – 2,5	13	90
2. Merbabu	1986	1,5 – 2,5	10	90
3. Kipas Putih	1992	1,7 – 2,1	12	90

#### 7.4 Waktu tanam

Kedelai tergolong peka terhadap kekeringan, tetapi tidak tahan terhadap genangan air. Pada

lahan beririgasi teknis, tanaman kedelai sebaiknya ditanam pada akhir musim hujan. Dengan demikian, tanaman mendapatkan air yang cukup pada awal

pertumbuhannya dan kondisi lahan telah kering saat menjelang panen.



Gambar 7.2  
Benih sumber kedelai

Kondisi musim di tiap daerah tidaklah sama. Oleh karena itu waktu penanaman kedelai juga tidak bersamaan. Waktu tanam yang tepat sebaiknya disesuaikan dengan kondisi yang paling kecil risiko maupun biaya pemeliharannya. Sebagai contoh, penanaman yang dilakukan pada musim hujan yang berlebihan akan berisiko terhadap serangan hama maupun penyakit dan membutuhkan biaya relatif banyak untuk penanganan lepas panennya.

Agar benih tidak terlalu lama tersimpan maka penangkaran benih sebaiknya dilakukan 4–6 bulan sebelum tiba, musim tanam kedelai (petani). Sebagai gambaran, bila produksi benih kedelai dilakukan di lahan sawah beririgasi maka penanaman sebaiknya dilakukan pada musim kemarau. Namun, jika di lahan kering (tegalan), sebaiknya penanaman pada permulaan musim labuhan (hujan) dan akhir rendengan (kemarau).

## 7.5 Penyiapan lahan

Pengolahan tanah ditujukan untuk memperbaiki struktur dan aerasi tanah agar pertumbuhan akar dan penyerapan hara dapat berlangsung secara baik. Tanaman kedelai dapat ditanam di lahan sawah maupun di lahan kering (tegalan).

Pada lahan sawah dibuat parit sekeliling lahan di dekat pematang secara membujur dan melintang. Parit dibuat dengan lebar 20-25 cm sedalam 25-30 cm. Tanah diolah secara dangkal dengan membenamkan gulma. Bedengan dibuat dengan lebar 3-4 m dan panjang sesuai petakan.

Pengolahan lahan kering (tegalan dengan cara dibajak/dicangkul agar gembur. Tanah dibersihkan dari gulma, kemudian diratakan dan dibuat parit di sekeliling lahan. Pada saat pengolahan, tanah ditaburi kapur dengan jumlah sesuai kebutuhan (misalnya 2 ton/ha untuk tanah ber pH 4,5–5,0), semakin tanahnya masam, kebutuhan kapur semakin banyak. Tanah selanjutnya diolah dengan cara dicangkul sedalam 10–20 cm dan diratakan.

Jika penanaman dilakukan setelah pertanaman padi, maka pengolahan tanah tidak diperlukan. Namun, penanaman dilakukan paling lambat seminggu setelah panen padi agar tanah masih lembap, sekitar 50-60% yang merupakan kelembapan optimum

untuk perkecambahan dan pertumbuhan awal tanaman kedelai. Bila terlambat menanam, gulma telah tumbuh dan menjadi pesaing tanaman kedelai. Bening ditanam langsung dengan bantuan tugal.

### 7.6 Penanaman dan perlakuan benih

Apabila penanaman dilakukan di lahan yang belum pernah ditanami kedelai, benih yang akan ditanam perlu dicampur dengan inokulum *Rhizobium*, seperti Legin, Rhizoplus, atau Rhizogin yang telah dibasahi. Sebagai gambaran, diperlukan 30 g Legin atau Rhizogin untuk 10kg benih. Benih segera ditanam setelah 6 jam diinokulasi. Selain dengan inokulum *Rhizobium*, dapat pula digunakan tanah dari pertanaman kedelai dengan takaran 2-3 kg tanah untuk 10 kg benih. Tanah ini dicampurkan dengan benih, kemudian diaduk hingga merata.

Benih ditanam secara teratur dengan jarak tanam optimal. Jarak tanam yang disarankan adalah 40 cm x 15 cm atau 40cm x 20 cm, tergantung varietas yang digunakan. Jika menggunakan varietas umur sedang, jarak tanam yang digunakan 40 cm x 15 cm. Untuk varietas umur genjah, jarak tanam yang digunakan 40 cm x 10 cm atau 30 cm x 15 cm.

Benih kedelai ditanam dalam lubang tanam yang dibuat dengan tugal sedalam 3-5 cm. Setiap

tubang dapat ditanam 2-3 benih. Untuk daerah ang sering terserang hama lalat bibit (*Ophiomya phaseoli*), benih diberi insektisida Marshal 25 ST dengan dosis 5 g bahan aktif per kg benih sebelum ditanam. Setelah itu, lubang tanam ditutup dengan tanah halus atau pasir agar proses perkecambahan dan pertumbuhan kecambah tidak terhambat.



Gambar 7.3.  
Tanaman kedelai dan bagian-bagiannya  
(atas) Tanaman kedelai muda (bawah)

Penggunaan mulsa (penutup tanah) jerami pada benih yang baru ditanam dapat menjaga kelembapan tanah, menekan

pertumbuhan gulma dan serangan lalat bibit. Jumlah mulsa yang dibutuhkan sekitar 2-5 ton/ha, tergantung musim tanamnya. Pada musim hujan, jumlah mulsa dapat dikurangi. Mulsa ini dapat dihamparkan di atas tanah secara merata segera setelah tanam.

## 7.7 Pemeliharaan

Tanaman akan tumbuh dengan baik bila dipelihara dengan baik pula. Oleh karena itu kegiatan pemeliharaan penting untuk diperhatikan.

### a. Penyulaman

Penyulaman dilakukan terhadap benih yang tidak berkecambah atau tumbuh dengan kondisi kurang baik. Waktu penyulaman dilakukan hingga satu minggu setelah tanam agar keseragaman pertanaman tetap terpelihara.

### b. Penyiangan dan pembumbunan

Gulma merupakan pesaing tanaman yang sangat merugikan. Selain pesaing dalam perolehan ruang tumbuh, hara, air, dan cahaya matahari, gulma kerap kali menjadi inang hama atau penyakit tertentu. Penurunan hasil dapat mencapai 10–60% jika gulma tidak dikendalikan dengan baik.

Pengendalian gulma dapat dilakukan secara manual dengan penyiangan atau secara kimiawi

dengan menggunakan herbisida. Penyiangan dilakukan dua kali yaitu pada saat tanaman berumur 3 minggu dan 6 minggu setelah tanam. Penyiangan pertama dilakukan bersamaan dengan pembubunan dan pemupukan kedua. Pada saat berbunga, penyiangan tidak dianjurkan untuk menghindari “goncangan” pada tanaman yang dapat merontokkan bunga.

### c. Pengairan

Pertanaman kedelai tidak boleh kekurangan air, terutama pada saat-saat kritis. Saat kritis yang dimaksudkan adalah pada fase perkecambahan, fase awal pertumbuhan (20–25 HST), menjelang berbunga (35 – 45 HST), fase pembentukan polong, dan fase pengisian biji (50-60 HST). Pada masa-masa tersebut, air harus cukup tersedia atau yang diperkirakan 0,5–0,6 l/det/ha (BPTB Karangploso, 2000). Meski-pun demikian, kebutuhan air untuk tanaman kedelai tergantung pada varietas, karena semakin panjang umur suatu varietas, semakin banyak air yang dibutuhkan.

### d. Pemupukan

Pemupukan tanaman kedelai secara umum diberikan bersamaan dengan saat tanam atau 7–10 hari setelah tanam. Pupuk di-berikan secara larikan di samping tanaman dengan jarak sekitar 5–7 cm.

Setelah ditabur, pupuk dibenamkan ke dalam tanah. Jenis dan dosis pupuk yang diberikan bervariasi bergantung pada jenis tanah. Menurut BPTP Karangploso (2000), dosis pupuk yang diberikan pada beberapa jenis tanah yaitu :

- Vertisol atau Grumosol: 50 kg Urea + 75 kg SP-36 + 75 kg KCl
- Hidromorf : 100kg Urea + 75 kg SP-36 + 100 kg KCl.
- Aluvial: 50 kg Urea + 50 kg SP-36 + 50 kg KCl, dan
- Regosol: 50 kg Urea + 50 kg SP-36 + (75 – 100) kg KCl.

Pada lahan tegalan, dianjurkan juga diberi pupuk kandang sebanyak 3-5 ton/ha yang ditabur secara merata pada saat pengolahan tanah. Untuk lahan yang kurang subur, perlu ditambah pupuk N, ± 50-75 kg/ha, yang diberikan pada saat pembubunan.

#### e. Pengendalian hama dan penyakit

Jenis hama yang menyerang tanaman kedelai sangat banyak, konon lebih dari 100 jenis. Namun demikian, hama utama yang menyebabkan kerusakan cukup berat antara lain lalat bibit (*Ophionya phaseoli*), kutu daun (*Aphis glycine*), kutu kebul (*Bemisia tabaci*), kumbang kedelai (*Phaedonia inclusa*), ulat penggerek (*Helicoverpa armigera*), ulat grayak (*Spodoptera litura*), penggerek polong (*Etiella spp.*),

kepek polong (*Riptortus liniaris*), kepek hijau (*Nezara viridula*), dan kepek (*Piezodorus hybneri*). Adapun potensi kerugian dan saat penyerangannya dapat dilihat pada tabel berikut ini.

Pengendalian hama secara kultur teknis dilakukan dengan menanam tanaman perangkap, seperti tanaman jagung. Jagung dengan umur yang berbeda (genjah, sedang, dan dalam) ditanam di pematang, 21 hari sebelum penanaman kedelai dengan jarak tanam 25 m x 25 cm.

Cara lain pengendalian hama dengan memasang perangkap sex pheromone yang menyebarkan bau serangga betina sehingga serangga jantan datang dan terperangkap. Cara pengendalian kimiawi dengan menggunakan insektisida secara tepat, baik dosis dan waktunya (lihat tabel kemasan). Beberapa jenis insektisida yang digunakan untuk mengendalikan hama antara lain Marshal 200 EC, Dursban 20 EC, Surecide 25 EC, Applaud 10 WP, dan Mitac 200 EC.

Penyakit yang sering menyerang tanaman kedelai adalah karat daun (*Phalaespora phacyrizi*) dan virus, seperti virus mosaik (*soybean mozaik virus*), virus kerdil (*soybean stunt virus*), dan virus katai (*indonesian soybean dwarf virus*). Pengendalian pe-nyakit karat dengan cara menanam varietas yang tahan atau dengan menggunakan fungisida, seperti Diithane, Benlate, Anvil, dan Bayleton. Adanya virus hanya

dapat dicegah dengan penggunaan benih yang sehat, pergiliran tanaman, sanitasi lahan, dan eradikasi tanaman sakit.

f. Roguing

*Roguing* pada pertanaman kedelai dilakukan tiga kali, yaitu sebagai berikut :

- *Roguing I* pada saat tanaman berumur 2 minggu, pemerik-

saan dilakukan terhadap keseragaman warna hipokotil.

- *Roguing II* pada awal berbunga, pemeriksaan dilakukan terhadap warna bunga, warna batang, bentuk percabangan, bulu pada batang, dan waktu berbunga.
- *Roguing III* pada saat menjelang panen, pemeriksaan dilakukan terhadap warna dan bentuk polong.

Tabel 7.3 Hama- Hama Penting Kedelai Dan Waktu Penyerangannya

Jenis Hama	Umur Tanaman (Hari Setelah Tanam)				
	< 10	11-30	31 – 50	51 – 70	> 70
1. Lalat bibit ( <i>Ophionya phaseoli</i> )	xxxxx				
2. Kutu daun ( <i>Aphis glycine</i> )	xxxxx	xxxxx	000000		
3. Kutu kebul ( <i>Bemisia tabaci</i> )	xxxxx	xxxxx	000000		
4. Kumbang kedelai ( <i>Phaedonia inclusa</i> )	xxxxx	xxxxx	xxxxx	xxxxx	
5. Ulat penggerek ( <i>Helicoverpa armigera</i> )		xxxxx	000000	000000	xxxxx
6. Ulat grayak ( <i>Spodoptera litura</i> )			000000	xxxxx	
7. Penggerek polong ( <i>Etiella spp.</i> )			xxxxx	xxxxx	
8. Kepik polong ( <i>Riptortus liniaris</i> )			xxxxx	xxxxx	000000
9. Kepik hijau ( <i>Nezara viridula</i> )			xxxxx	xxxxx	000000
10. Kepik ( <i>Piezodorus hybneri</i> )			xxxxx	xxxxx	000000

Keterangan : xxxxx = sangat berbahaya

ooooo = berbahaya

\*\*\* = serangga penular penyakit virus belang samar kacang panjang (CMMV), *Cowpea Mild Mottle Virus*

\*\* = serangga penular berbagai penyakit virus kacang-kacangan

Sumber : BPTP Karangpajo, 2000

Apabila dijumpai tanaman yang berbeda dari ciri yang ada perlu dicabut dan dimusnahkan. Tanaman yang masak tidak merata dan warna polongnya berbeda sebaiknya tidak digunakan sebagai benih.

### 7.8 Pemanenan dan perlakuan pascapanen

Pemanenan kedelai untuk benih dilakukan pada umur 75–110 hari atau bila kadar air benih mencapai 18–20%. Tanda-tanda kedelai sudah dapat dipanen dapat dikenali dari daun yang telah menguning dan sebagian sudah rontok, batang berwarna kuning sampai cokelat, serta polong berwarna kuning sampai cokelat. Masak fisiologis terjadi jika lebih dari 60% populasi tanaman telah menunjukkan polong yang berwarna cokelat.

Pada saat masa fisiologis, benih kedelai telah lepas dari plasenta di dalam polong. Karena sifat yang higroskopis dan kulitnya yg tipis, benih sangat peka sekali terhadap pengaruh kelembaban lingkungan. Dengan kondisi seperti itu, dianjurkan panen dilakukan tidak terlalu lamasetelah benih mencapaimasa fisiologis. Jika masa fisiologis tepat pada saat 60% polong telah matang (cokelat) maka panen benih dilakukan pada saat polong matang (cokelat) mencapai 80%.



Gambar 7.4  
Polong kedelai siap panen

Keterlambatan panen akan menu-runkan mutu fisik dan fisiologis benih. Tidak jarang benih hasil panen terlihat pecah kulit jika selama benih di lapang terjadi hujan.

Pemanenan benih kedelai dilakukan dengan cara memotong pangkal batang dengan bantuan sabit. Kadangkala, petani memanen kedelai dengan cara mencabut seluruh tanaman. Cara ini hanya dianjurkan bila lahan penanaman relatif gembur. Dari kedua cara tersebut, pemanenan dengan cara memotong batang dianggap lebih menguntungkan karena lebih menghemat waktu dan tenaga. Selain itu, bintil akar yang mengandung *Rhizobium* akan tetap tertinggal di dalam tanah sehingga berguna untuk kesuburan. Setelah dipanen, benih kedelai tidak mengalami dormansi sehingga benih yang baru dipanen

mempunyai kualitas yang semakin baik.

Waktu pemanenan hendaknya tidak dilakukan pada saat hari hujan atau pagi hari saat masih ada embun. Panen hendaknya dilakukan setelah embun pagi mengering (sekitar pukul 08:00) agar kadar air benih tidak mengalami peningkatan akibat air embun.



Gambar 7.5  
Benih kedelai

## Ringkasan

Setelah mempelajari BAB 7. siswa telah mampu menguasai kompetensi-kompetensi berikut:

1. Potensi benih tanaman
2. Menerapkan persyaratan kerja
3. Menyiapkan lahan pembenihan
4. Merawat benih tanaman
5. Mengelola alat dan mesin pembenihan
6. Membiakkan tanaman dengan biji

Perlakuan pra panen	Persyaratan lahan	Benih sumber	Waktu tanam
Perlakuan benih dengan Rhizobium, insektisida dan fungisida.	Lahan pembenihan harus dekat dengan sumber air, subur, tidak ada serangan OPT, bukan bekas tanaman kedelai.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Umur genjah</li> <li>• Umur sedang</li> <li>• Umur dalam</li> </ul>	Waktu musim hujan atau musim kemarau. Pada tanah tegalan sebaiknya pada akhir musim kemarau atau akhir musim hujan
Penyiapan lahan	Penanaman dan perlakuan benih	Pemeliharaan	Pemanenan dan perlakuan pascapanen
Memperbaiki struktur tanah, dan aerasi.	Benih diberi perlakuan rhizobium, jarak tanam 40 x 15 atau 40 x 20 dan apabila perlu dapat digunakan mulsa.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Penyulaman</li> <li>• Penyiangan dan pembumbunan</li> <li>• Pengairan</li> <li>• Pemupukan</li> <li>• Pengendalian OPT</li> </ul>	Panen dilakukan pada saat 75-110 hari setelah tanam. Ciri-ciri kedelai siap panen adalah daun dan polong menguning.

SOAL:

1. Jelaskan langkah-langkah kerja pada produksi benih kedelai sampai dengan pengemasan.
2. OPT apakah yang harus dikendalikan dari tanaman kedelai dan mengapa demikian.

TUGAS:

1. Bagaimana teknik perlakuan pra tanam pada benih kedelai yang ditanam oleh petani atau tim produksi di sekolahmu.
2. Lakukan observasi pada kegiatan panen suatu benih tanaman di sekitar sekolahmu atau sekolahmu.



## BAB 8. BIOTEKNOLOGI TANAMAN

Kegiatan pada bidang pertanian dapat dibagi menjadi 3 generasi :

- Generasi pertama adalah kegiatan menghasilkan benih (generatif dan vegetatif).
- Generasi kedua adalah kegiatan menghasilkan teknik budidaya pada bidang pertanian.
- Generasi ketiga adalah kegiatan menghasilkan produk agroindustri

Berdasarkan hasil penelitian pada bidang biologi yang diintegrasikan dengan teknologi yang mengkaji ilmu dasar (*basic science*) ditemukan berbagai mekanisme dalam proses metabolisme makhluk hidup yang lebih dimengerti sehingga pada periode ke tiga ini dihasilkan produk pertanian yang lebih efektif dan efisien. Keilmuan tentang penerapan prinsip-prinsip biologi, biokimia dan rekayasa dalam pengolahan bahan dengan memanfaatkan agensia jasad hidup dan komponen-komponennya untuk menghasilkan barang dan jasa disebut bioteknologi (Yuwono, 2006). Bioteknologi diharapkan dapat berperan menghasilkan produk agribisnis yang berdaya saing tinggi. Peran ini dapat diimplementasikan kedalam ketiga generasi pertanian diatas. Dari kenyataan yang ada, perkembangan bioteknologi telah berhasil memberikan terobosan pada bidang pertanian seperti percepatan untuk menghasilkan suatu varietas tanaman yang baru; pemanfaatan mikroba sebagai vektor pembawa sifat genetik yang dapat mentranfer sifat tersebut dari satu organisme ke

organisme lainnya, baik itu yang mempunyai hubungan kekerabatan yang dekat (contohnya satu spesies atau famili) maupun sebaliknya; pemanfaatan mikroba sebagai starter untuk memproduksi pupuk (*bio-fertilizer* dan dekomposer) ataupun pestisida (*bio-pesticide*), teknik kultur jaringan, teknologi DNA rekombinan dan berbagai rekayasa genetik pada tanaman dan mikroba yang menguntungkan untuk efisiensi input budidaya tanaman.

Sukses pada generasi pertama pertanian seperti pengadaan bibit unggul, akan mendukung sukses budidaya dan selanjutnya mendukung sukses agroindustri. Benih pertanian yang dihasilkan melalui bioteknologi meliputi pengembangan dan penyediaan benih unggul sehingga dapat meningkatkan produktivitas dan kualitas tanaman, serta mempunyai ketahanan terhadap hama dan penyakit.

Benih yang dihasilkan juga tepat sasaran dan mudah ditangani (*user friendly*). Tepat sasaran artinya, sifat benih yang dikembangkan sesuai sasaran, seperti menghasilkan buah yang banyak dan bermutu baik. Sebagai contoh adalah pisang *cavendis* (buah pisang berukuran besar) mudah dibudidayakan, sehingga sesuai dengan kondisi petani yang pada umumnya sederhana dan praktis.

Kemampuan bioteknologi dalam pengadaan benih diantaranya dilakukan melalui proses rekayasa genetika (*genetic engineering*). Dalam hal ini adalah proses menghimpun dan menyatukan sifat-sifat tanaman (sifat genetik) yang unggul dan membuang sifat yang tidak baik. Pengetahuan tentang peta genetik banyak bermanfaat untuk pembenihan, antara lain digunakan pada seleksi benih yang tidak unggul atau cacat tidak perlu diperbanyak karena akan merugikan petani. Perbanyak benih vegetatif dapat dilakukan melalui kultur jaringan (*tissue culture*) ataupun embriogenesis. Benih vegetatif dapat diperbanyak secara massal, dengan mutu yang standar, fisik dan sifatnya seragam. Hal ini ditujukan untuk menjawab kebutuhan benih dalam jumlah besar dalam waktu serentak, sehingga memenuhi QCD (Quality Cost dan Delivery).

Di Indonesia, perkembangan bioteknologi belum optimal karena sampai saat ini belum dapat memberikan solusi-solusi yang diperlukan untuk mengatasi masalah petani, sebagai contoh, untuk kebutuhan pemenuhan kedelai bagi industri tempe yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat kita, ternyata kedelai yang digunakan adalah kedelai impor, karena kedelai yang dihasilkan oleh petani kita kurang cocok.

Generasi kedua pertanian meliputi teknik budidaya yang mencakup pengetahuan lahan, teknik pengolahan lahan, teknik penanaman, teknik pemupukan dan teknik pemeliharaan serta panen. Dengan memakai benih unggul diharapkan hasil budidaya pun akan unggul pula. Hal ini ditandai,

melalui biaya per unit produk yang relatif rendah, masa tanam dan pemeliharaan yang lebih singkat, produksi yang tinggi dengan mutu baik dan seragam, tahan hama dan penyakit, tidak merusak lingkungan, mudah dalam pemeliharaan atau perawatan.

Dalam budidaya tanaman, bioteknologi juga mempunyai peranan yang sangat besar terutama dalam pengembangan dan penyediaan pupuk organik (biofertilizer) dan pestisida (biopestisida), sehingga dapat meningkatkan pertumbuhan dan perkembangan tanaman serta melipatgandakan hasil pertanian. Selain hal tersebut di atas, bioteknologi dapat memberikan kontribusi yang sangat besar terhadap konservasi lahan dan lingkungan.

Pemanfaatan hasil pengembangan bioteknologi dalam penyediaan pupuk organik dan biopestisida, masih belum memasyarakat, sehingga dalam kondisi seperti saat ini dimana kita kekurangan suplai pupuk anorganik, keberadaan dan ketersediaan pupuk organik sebagai pupuk alternatif belum dapat diandalkan.

Peranan bioteknologi dalam pengembangan argo-industri banyak dilakukan terutama yang berkaitan dengan proses fermentasi seperti berbagai produk makanan yang bergizi serta berbagai macam obat-obatan dan antibiotik. Peranan bioteknologi dalam bidang agro-industri, dapat menurunkan input produksi, biaya

dan waktu proses, sehingga sangat ekonomis.

### 8.1. Bioteknologi Tanaman

Bioteknologi modern telah berkembang sangat pesat dan meluas sehingga mencakup berbagai bidang dalam kehidupan manusia. Saat ini, aplikasi bioteknologi moderen untuk pemenuhan kebutuhan manusia masih terkait erat dengan penggunaan bioteknologi konvensional yang telah berkembang sebelumnya. Dalam penyediaan pangan, selain menggunakan pendekatan bioteknologi modern, beberapa peneliti masih mengandalkan teknologi konvensional untuk menghasilkan benih tanaman berkualitas. Sebagai contoh, tanaman padi yang dibudidayakan sekarang ini sebagian besar masih berasal dari hasil persilangan konvensional, meskipun sudah ada galur-galur baru yang dikembangkan dengan teknologi DNA rekombinan, misalnya galur padi *Golden Rice*. Galur *Golden Rice* adalah galur padi yang membawa gen-gen asing dari bakteri sehingga beras yang dihasilkan oleh galur padi ini mempunyai kandungan provitamin A yang tinggi. Galur semacam ini tidak pernah ditemukan sebelumnya di alam maupun berdasarkan hasil persilangan konvensional.

Dalam bidang budidaya tanaman pangan dan tanaman industri, selain menggunakan teknik-teknik konvensional, sudah berkembang galur-galur tanaman transgenik baru yang mempunyai sifat toleran terhadap keadaan lingkungan dengan menyisipkan gen-gen asing dari jasad

lain. Sebagai contoh, para ilmuwan telah mengembangkan tanaman tembakau yang lebih toleran terhadap kadar garam tinggi, tanaman yang tahan terhadap herbisida, tahan terhadap hama dan penyakit tertentu, dan sebagainya.

Bioteknologi modern menghasilkan berbagai macam bahan industri. Berbagai macam enzim dan protein, baik untuk keperluan industri maupun untuk konsumsi dan terapeutik (pengobatan) telah dihasilkan dengan menerapkan bioteknologi modern yang berlandaskan atas teknologi DNA rekombinan.

Pengembangan Bioteknologi moderen juga mempunyai pengaruh balik yang penting terhadap perkembangan ilmu-ilmu dasar. Banyak konsep dasar dalam sistem fisiologi jasad hidup yang menjadi lebih jelas dan mudah dipahami dengan adanya perkembangan-perkembangan baru dalam teknik-teknik molekular. Oleh karena itu ilmu-ilmu dasar dan Bio-teknologi modern akhirnya saling mendukung dalam perkembangannya masing-masing.

### 8.2. Struktur Dan Organisasi Bahan Genetik Tanaman

Studi mengenai eksistensi asam nukleat pertama kali dilakukan oleh Friedrich Miescher dari Jerman yang mengisolasi inti dari sel darah putih pada tahun 1869. Miescher menemukan bahwa di dalam inti sel tersebut terdapat senyawa yang mengandung fosfat yang kemudian

dinamakan *nuclein*. Selanjutnya pada akhir abad ke-19 telah berhasil dilakukan pemisahan antara DNA (*deoxy-ribonucleic acid*) RNA (*ribonucleic acid*) dan protein-protein yang melekatkan molekul asam nukleat tersebut pada sel. Pada awal 1930-an, P. Levene, W. Jacobs dan kawan-kawan menunjukkan bahwa RNA tersusun atas satu gugus gula ribosa dan empat basa yang mengandung nitrogen, sementara DNA tersusun atas gugus gula yang berbeda yaitu deoksiribosa.

Pembuktian bahwa DNA merupakan bahan genetik pertama dilakukan oleh Frederick Griffith pada tahun 1928 yaitu dengan linen transformasi pada bakteri *Streptococcus pneumoniae*.

Bakteri *S. pneumoniae* tipe alami mempunyai bentuk sel bulat (*Spheris*) yang diselubungi oleh senyawa berlendir yang disebut *kapsul*. Sel-sel tipe alami akan membentuk koloni yang mengkilat dikenal sebagai koloni halus (*smooth*, S). Sel tipe alami semacam ini bersifat **virulen** artinya dapat menyebabkan terjadinya kematian pada mencit yang diinjeksi dengan sel yang masih hidup. Selain itu diketahui adanya strain mutan *S. pneumoniae* yang kehilangan kemampuannya untuk membentuk kapsula sehingga sel-selnya berukuran kecil dan akan membentuk koloni yang kasar (tipe R). Sel mutan semacam ini bersifat avirulen, artinya tidak dapat menyebabkan kematian pada mencit yang diinjeksi oleh sel mutan.

Eksperimen Griffith menunjukkan bahwa sel-sel yang avirulen dapat mengalami transformasi (perubahan) menjadi sel yang virulen. Hal ini dibuktikan dengan menginjeksi mencit

menggunakan sel-sel tipe alami yang masih hidup (sel tipe S). Diketahui kemudian bahwa injeksi dengan sel tipe S yang hidup menyebabkan kematian mencit. Selanjutnya eksperimen dilakukan dengan menginjeksi mencit menggunakan sel tipe R yang hidup. Injeksi semacam ini ternyata tidak menyebabkan kematian mencit. Hal yang serupa juga diperoleh yaitu bahwa injeksi mencit menggunakan sel tipe S yang sudah dimatikan ternyata juga tidak menyebabkan kematian mencit. Pada eksperimen selanjutnya Griffith mencampur sel-sel tipe S yang sudah dimatikan dengan sel-sel tipe R yang masih hidup dan diinjeksikan ke dalam mencit. Hasil eksperimen menunjukkan bahwa injeksi dengan campuran sel semacam ini menyebabkan kematian mencit. Griffith kemudian mengisolasi bakteri *S. pneumoniae* dari mencit yang sudah mati tersebut dan memperoleh sel-sel tipe S dan R yang hidup. Hal ini memberikan indikasi bahwa pencampuran sel tipe S yang mati dengan sel tipe R yang hidup telah menyebabkan perubahan (transformasi) sel tipe R yang hidup menjadi sel tipe S yang hidup.

Bukti bahwa DNA merupakan bahan yang menyebabkan terjadinya *proses transformasi pada S. pneumoniae* ditunjukkan oleh eksperimen yang dilakukan oleh Oswald Avery, Colin Macleod, dan Maclyn McCarty pada tahun 1944. Mereka melakukan eksperimen serupa dengan yang dilakukan oleh Griffith, namun

mereka melakukan pengujian lebih lanjut terhadap senyawa yang menyebabkan transformasi *S. pneumoniae*. Mereka melakukan ekstraksi terhadap sel virulen dan kemudian menghilangkan proteinnya. Hasil ekstraksi tersebut kemudian diperlakukan dengan bermacam-macam enzim yang mendegradasi protein (tripsin dan kemotripsin) maupun enzim yang menghancurkan RNA (RNA-ase).

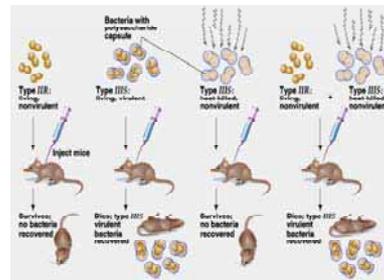
Pengujian selanjutnya menunjukkan bahwa ekstrak sel tersebut ternyata masih dapat menyebabkan proses transformasi. Hasil eksperimen membuktikan bahwa senyawa yang menyebabkan proses transformasi bukanlah RNA.

Sebaliknya, ketika ekstrak sel tersebut diperlakukan dengan enzim deoksiribonukle-ase yang menghancurkan DNA, ternyata kemampuan untuk menyebabkan proses transformasi menjadi hilang. Hasil ini memberikan indikasi bahwa senyawa yang menyebabkan transformasi adalah molekul DNA.

Bukti lebih lanjut yang memperkuat asumsi bahwa senyawa yang menyebabkan proses transformasi adalah DNA ditunjukkan oleh eksperimen yang dilakukan oleh A.D. Hershey dan Martha Chase pada tahun 1952 dengan eksperimen yang dikenal sebagai *Waring blender experiment*. Dalam eksperimen tersebut digunakan bakteriofag T2 yang diketahui hanya terdiri atas.

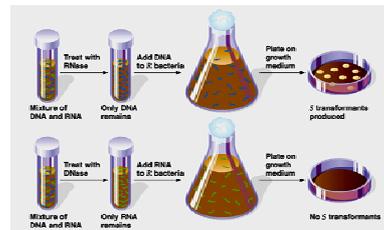
Bukti lebih lanjut yang memperkuat asumsi bahwa senyawa yang menyebabkan proses transformasi adalah DNA ditunjukkan oleh eksperimen yang dilakukan oleh A.D. Hershey dan Martha Chase pada

tahun 1952 dengan eksperimen yang dikenal sebagai *Waring blender experiment*.



Gambar 8.1

Hipotesa Griffith tentang agen transformasi



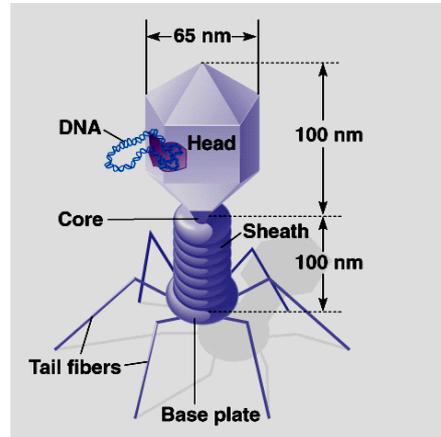
Gambar 8.2

Percobaan Avery tentang transformasi

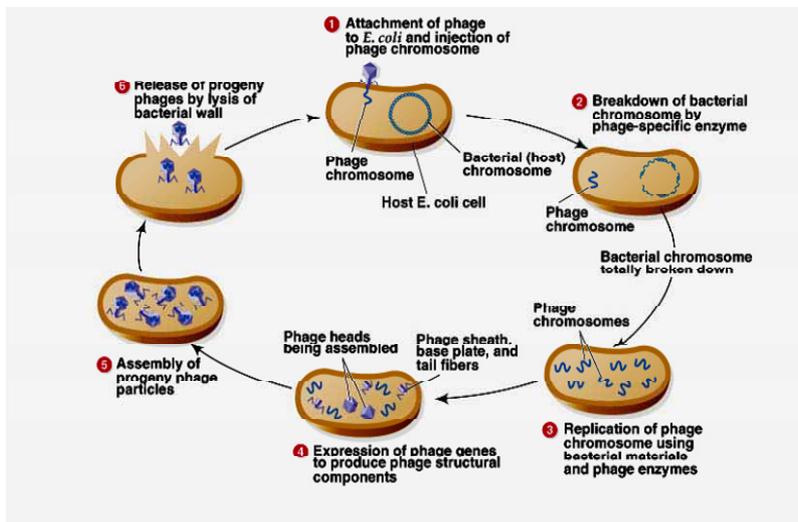
Dalam eksperimen tersebut digunakan bakteriofag T2 yang diketahui hanya terdiri atas protein dan DNA. Untuk membuktikan apakah senyawa yang bertanggung jawab terhadap perubahan sifat suatu sel berupa protein atau DNA maka Hershey dan Chase melakukan pelabelan terhadap protein bakteriofag T2 dengan  $^{35}\text{S}$ . Selain itu, pada bagian eksperimen yang lain, mereka juga melabel DNA bakteriofag dengan  $^{32}\text{P}$ . Bakteriofag yang telah dilabel tersebut kemudian digunakan untuk menginfeksi bakteri *Escherichia* Selubung partikel bakteriofag yang sudah menginjeksikan DNA ke dalam sel kemudian diambil dan dianalisis.

Hasil analisis menunjukkan bahwa sebagian besar protein berlabel tetap ada di luar sedangkan DNA berlabel ada di dalam sel. Hal ini memberikan yang jelas bahwa senyawa yang masuk ke dalam sel adalah DNA.

Hasil-hasil eksperimen seperti yang dijelaskan di atas bahwa molekul yang merupakan bahan genetik di dalam sel adalah DNA. DNA merupakan salah satu makromolekul yang mempunyai peranan sangat penting pada jasad hidup. DNA adalah polimer nukleotida yang tersusun secara sistematis dan merupakan pembawa informasi genetik yang diturunkan kepada jasad keturunannya. Informasi genetik disusun dalam bentuk kodon (*codon*) yang berupa tiga pasang basa nukleotida dan menentukan bentuk, struktur maupun fisiologi suatu jasad.



Gambar 8.3  
Bacteriophage T2 hasil dari percobaan Harshey-Chase



Gambar 8.4  
Siklus produksi virus di dalam sel inang

a. Asam nukleat

Asam nukleat adalah suatu polimer nukleotida yang berperan di

dalam penyimpanan serta pemindahan informasi genetik. Asam nukleat dapat dibedakan menjadi dua struktur dasar yaitu

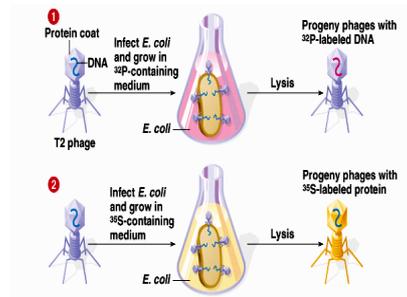
DNA dan RNA. Satu nukleotida terdiri atas tiga bagian (Gambar 3. 1.) yaitu:

1). *Cincin purine* atau *pyrimidine*

Purine atau pyrimidin adalah basa nitrogen yang terikat pada pada atom C nomor 1 suatu molekul gula (ribosa atau deoksiribosa) melalui ikatan N-glukosidik. Basa nitrogen yang menyusun asam nukleat yaitu basa purine yang terdiri atas *adenine (A)* dan *guanine (G)*, serta basa pirimidine yang terdiri atas *thymine (T)*, *cytosine (C)* dan *uracil (U)*. Baik DNA (*deoxy-ribonucleic acid*) maupun RNA (*ribonucleic acid*) tersusun atas A, G, C, tetapi T hanya terdapat pada DNA sedangkan U hanya terdapat pada RNA. Akan tetapi ada per-kecualian yaitu bahwa pada beberapa molekul tRNA terdapat basa T, sedangkan pada beberapa bakteriofag DNA-nya tersusun atas U dan bukan basa T. Struktur basa nitrogen penyusun asam nukleat dapat dilihat pada Gambar 3.2.

2) *Molekul gula dengan 5 atom C (pentosa).*

Pada RNA gulanya adalah *ribosa*, sedangkan pada DNA gulanya adalah *deoksiribosa*. Perbedaan antara kedua bentuk gula tersebut terletak pada atom C nomor 2. Pada RNA, atom C nomor 2 berikatan dengan gugus hidroksil (OH) sedangkan pada DNA atom C nomor 2 berikatan dengan atom H.

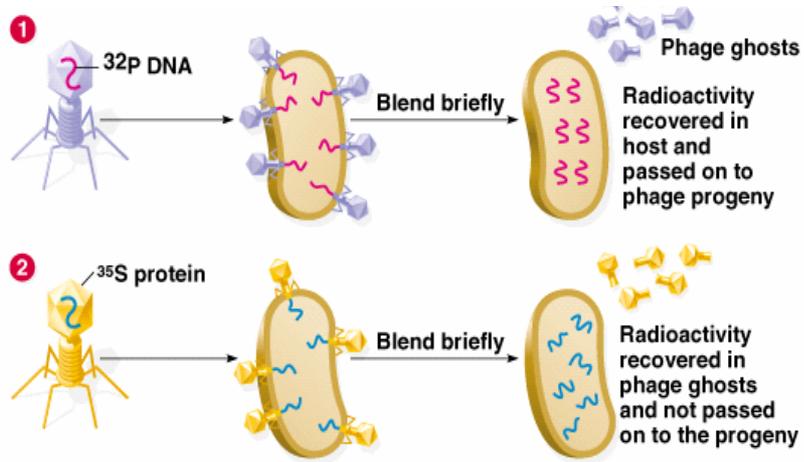


Gambar 8.5  
Preparasi bakteriofag yang diberi label T2 secara radioaktif

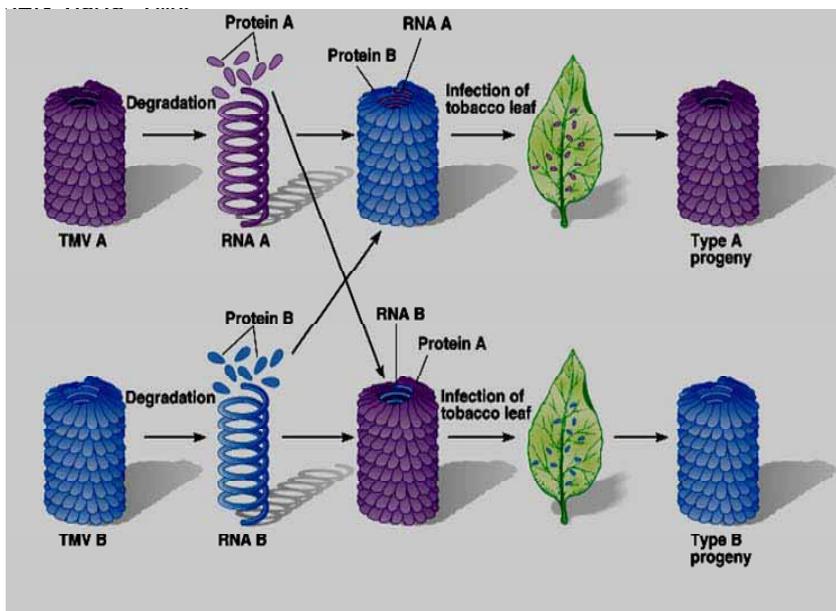
3) *Gugus fosfat*

Gugus fosfat yang terikat pada atom C nomor 5 melalui ikatan fosfoester. Gugus fosfat inilah yang menyebabkan asam nukleat bermuatan negatif kuat.

*Timidin (thymidine)* Timidin adalah bentuk deoksi. Beniuik ribo tidak ada dalam asam nukleat. Uridin adalah bentuk ribo, deoksiuridin umumnya tidak ada. Struktur molekul DNA pertama kali diungkapkan oleh James Watson dan Francis Crick pada tahun 1953 berdasarkan atas foto difraksi sinar X yang dibuat oleh Rosalind Franklin dan Maurice Wilkins. Berdasarkan atas data. kimia dan fisik, Watson dan Crick membuat model struktur DNA yang disebut *double helix* (untai ganda). Untal ganda DNA tersusun oleh dua rantai polinukleotida yang berpilin.



Gambar 8.6  
 Experimen yang menunjukkan DNA menjadi materi genetik pada T2



Gambar 8.7  
 RNA sebagai materi genetik virus TMV

Kedua rantai mempunyai orientasi yang berlawanan (antiparalel): rantai yang satu mempunyai orientasi  $5' \rightarrow 3'$ , sedangkan rantal yang lain berorientasi  $3' \rightarrow 5'$ . Kedua rantai

tersebut berikatan dengan adanya ikatan hidrogen antara basa adenine (A) dengan thymine (T), dan antara guanine (G) dengan cytosine (C). Ikatan antara A-T

berupa dua ikatan hidrogen, sedangkan antara G C berupa tiga ikatan hidrogen sehingga ikatan G -C lebih kuat. Spesifisitas pasangan basa semacam ini disebut sebagai komplementaritas (*com-plementarity*). Proporsi basa A dan T, serta G dan C selalu sama sehingga komposisi DNA dapat dinyatakan dengan kandungan G+C (*G+C content*) yang berkisar dari 26% sampai 74%. Hal ini dikenal sebagai *hukum Chargaff*. Erwin Chargaff pada tahun 1950 mempublikasikan hasil penelitiannya mengenai komposisi basa DNA pada berbagai jasad hidup.

#### 5). Ikatan Hidrogen Antar nukleotida.

Ikatan antara adenine (A) dengan thymine (T) dilakukan melalui dua ikatan hidrogen, sedangkan pada ikatan antara guanine (G) dan cytosine (C) ada tiga ikatan hidrogen sehingga ikatan G-C lebih kuat dibandingkan dengan ikatan A-T. Kerangka gula deoksi-ribosa dan fosfat penyusun DNA terletak luar molekul, sedangkan basa purine dan pyrimidine terletak di dalam untaian (helix). Basa-basa purine dan pyrimidine terletak pada bidang datar yang sama dan tegak lurus terhadap aksis untaian DNA. Diameter untaian DNA adalah 20 dan bersifat konstan karena basa purine akan selalu basa pyrimidine. Pasangan-pasangan basa yang berurutan berjarak 3,4 Å satu sama lain dan berotasi sebesar 36°.

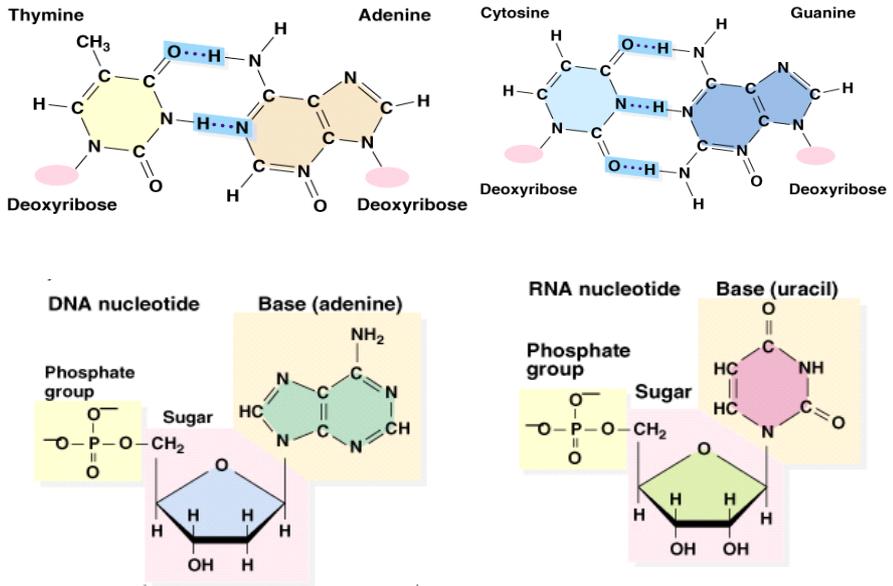
Karena kedua rantai DNA tersusun secara antiparalel maka ada konvensi dalam penulisan orientasi

DNA. Perlu diingat bahwa pada masing-masing rantai DNA terdapat ujung 5'-fosfat (5'-P) dan ujung 3'-OH. Molekul DNA yang tersusun oleh dua rantai polinukleotida (*double stranded*) biasanya hanya ditulis salah satu rantainya, misalnya ATGCAAT-CCGG. Dalam penulisan semacam ini ujung sebelah kiri (A) adalah ujung 5'-P, sedangkan ujung sebelah kanan (G) adalah ujung 3'-OH. Oleh karena itu molekul DNA tersebut dapat ditulis sebagai P-5'-ATGCAATCCGG-3'-OH, atau kadang-kadang ditulis dengan pApTpGpCpApApTpTp-CpCpGpG.

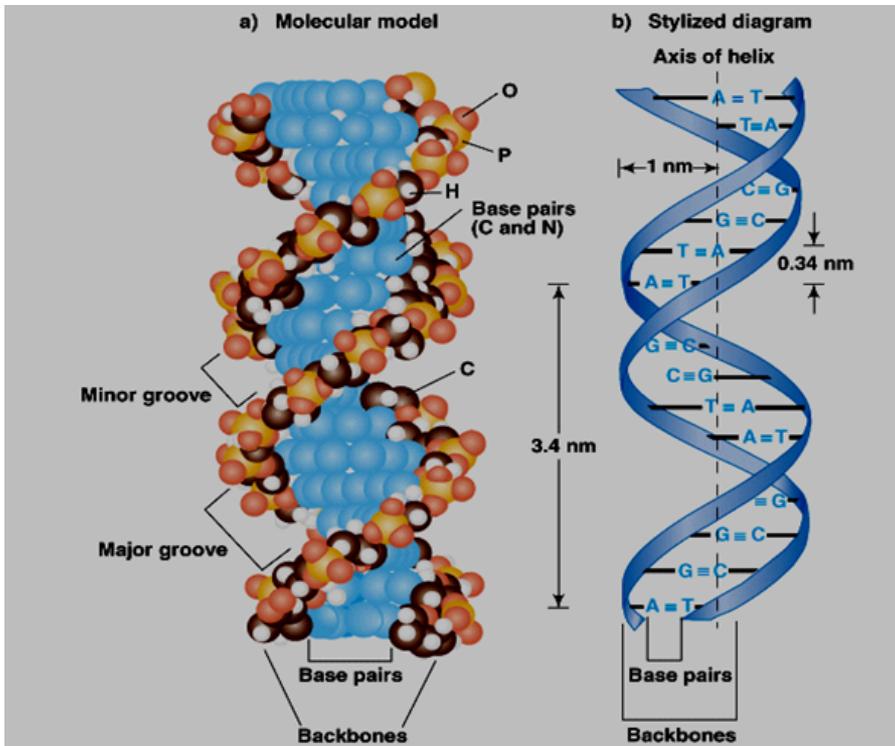
Untuk menyingkat biasanya DNA hanya ditulis urutan basa DNA-nya saja.

#### b. Ukuran Molekul DNA Pada Beberapa Jasad Hidup

Ukuran molekul DNA bervariasi antara jasad yang satu dengan yang lainnya. Pada jasad prokaryot variasinya tidak sebesar pada virus dan ofag. Bahan genetik pada prokaryot dan virus pada umumnya satu molekul tunggal DNA (kecuali virus tertentu yang bahannya RNA). Sebaliknya, bahan genetik pada eukaryot berupa molekul kromo-som yang masing-masing berupa molekul berukuran besar. Ukuran DNA pada jasad eukaryot tingkat tinggi, belum diketahui secara pasti karena kompleksnya.

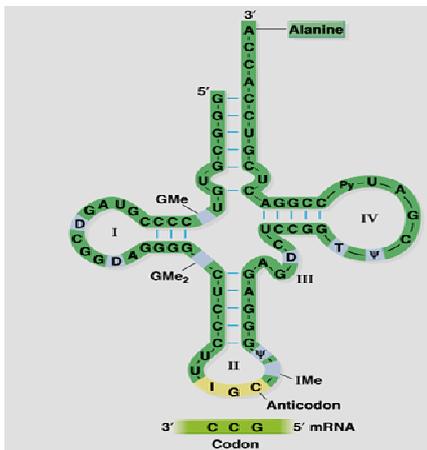


Gambar 8.8 Ikatan antar molekul dalam basa penyusun DNA



Gambar 8.8 Model DNA untai ganda yang berpilin

Ukuran molekul DNA pada beberapa bakteriofag, misalnya bakteriofag  $\lambda$ , telah diketahui secara pasti bahkan urutan basa DNA pun telah diketahui secara akurat. Ukuran DNA pada gamet (haploid)  $10^{-6}$  mm (1 pg (pico gram) =  $10^{-12}$  g; kbp = kilo base pairs = 1000 pasangan h jumlah kromosom pada keadaan haploid).



Gambar 8.9.

Struktur sekunder RNA, t-RNA pada ragi yang membawa alanin

### c. Kandungan DNA Dan Kapasitas Genetik

Seperti telah diungkapkan sebelumnya, ukuran dan kandungan molekul DNA yang dimiliki oleh suatu jasad sangat bervariasi sesuai dengan kompleksitas jasadnya. Secara logika sederhana, semestinya ada suatu korelasi positif antara kandungan DNA dengan kompleksitas jasad, yaitu bahwa semakin kompleks suatu jasad maka semakin besar pula kandungannya per sel haploid (dikenal sebagai

*C value*). Sebagai contoh, kandungan DNA pada khamir *Saccharomyces cerevisiae* lima kali lebih besar dibanding dengan kandungan DNA bakteri *Escherichia coli* karena secara struktural bakteri ini lebih sederhana.

Meskipun demikian studi menunjukkan bahwa banyaknya kandungan DNA suatu jasad tidak selalu berkorelasi positif dengan kompleksitas jasad tersebut. Sebagai contoh, kandungan DNA pada per sel katak adalah 7 kali lebih banyak dibanding dengan kandungan DNA pada sel manusia, sedangkan kandungan DNA pada sel bunga lily 100 kali lebih banyak dibanding pada sel manusia. Fenomena semacam ini disebut sebagai *C value paradox*. Paradoks semacam ini tidak hanya antar kelompok jasad yang berbeda, tetapi juga diketahui terjadi pada kelompok jasad yang sama. Sebagai contoh, beberapa species amfibi mempunyai kandungan DNA 100 kali lebih banyak dibanding dengan species amfibi yang lain.

Jasad yang mempunyai nilai-*C* yang lebih besar tidak selalu mempunyai lebih banyak gen dibanding dengan jasad yang nilainya kecil. *C value paradox* dapat terjadi karena beberapa jasad mempunyai banyak urutan basa DNA yang tidak berkode asam amino (*non-coding DNA*). Urutan basa DNA sendiri banyak terdapat pada bagian intron dan urutan berulang (*DNA*).

#### d. Struktur RNA

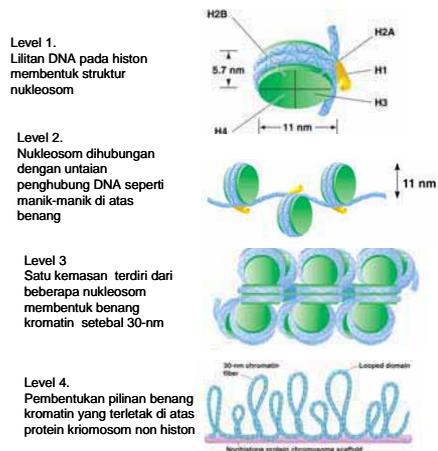
*RNA (ribonucleic acid)* adalah salah satu bentuk asam nukleat mempunyai komponen berupa gula ribosa, basa purin atau din, dan gugus fosfat. Pada jasad selular, RNA hasil penyalinan (transkripsi) kode-kode genetik yang ada genetik jasad (DNA). Pada beberapa virus, RNA merupakan genetik utama, misalnya virus TMV (*Tobacco Mosaic*). Pada jasad selular, yaitu mikrobia, tumbuhan, hewan, dan ada tiga bentuk molekul RNA, yaitu m-RNA (*messenger-RNA*) r-RNA (riboso-mal-RNA), dan t-RNA (*transfer-RNA*).

Molekul RNA adalah hasil transkripsi DNA yang membawa kode-kode gen dan rangkaian asam-asam amino yang menyusun suatu protein. Proses ekspresi genetik, m-RNA akan diterjemahkan (translasi) rangkaian asam-asam amino sehingga membentuk struktur polipeptida (protein). Proses translasi memerlukan r-RNA dan t-RNA.

Molekul r-RNA adalah RNA hasil transkripsi suatu rangkaian genetik tertentu pada DNA. Molekul r-RNA digunakan untuk menyusun ribosom yaitu tempat berlangsungnya proses translasi atau biosintesis protein. Molekul t-RNA adalah RNA yang secara khusus berperan membawa asam-asam amino spesifik yang akan dirangkai dalam proses biosintesis protein di dalam ribosom. Molekul t-RNA Juga merupakan hasil transkripsi rangkaian kode genetik tertentu Pada DNA.

#### e. Organisasi Bahan Genetik

Salah satu perbedaan fundamental antara jasad prokaryot dan eukaryot adalah pada organisasi bahan genetiknya. Pada kelompok prokaryot, umumnya hanya ada satu unit bahan genetik utama membawa semua informasi genetik yang diperlukan untuk kelangsungan Pertumbuhan jasad tersebut. Meskipun demikian, ada beberapa bukti yang menunjukkan bahwa jasad prokaryot tertentu mempunyai lebih dari satu unit bahan genetik utama. Sebaliknya, pada eukaryot bahan genetik utama terdiri atas beberapa unit independen yang terpisah namun semua unit bahan genetik merupakan kesatuan genom yang menentukan kelangsungan hidup jasad.



Gambar 8,10  
Tingkatan kemasan DNA dalam kromosom

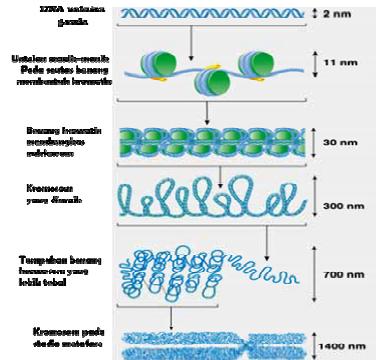
Sebelum dibahas lebih lanjut sistem organisasi genom pada jasad, perlu dipahami terlebih

dahulu perbedaan pengertian antara gen dengan genom. Gen adalah *unit molekul DNA atau RNA dengan panjang minimum tertentu yang mem-bawa informasi mengenai asam amino yang lengkap suatu protein, atau yang menentukan struktur lengkap suatu molekul r-RNA (RNA ribosom) atau t-RNA (transfer RNA)*. Sedangkan genom adalah *satu kesatuan gen yang secara alami dimiliki oleh satu sel atau virus, atau satu kesatuan kromosom jasad eukaryotik dalam fase haploid*.

Dengan batasan semacam ini maka dapat dimengerti bahwa sepotong molekul DNA yang tidak membawa informasi genetik yang lengkap tidak dapat disebut sebagai genom hanya sebagai *fragmen DNA*.

Pada beberapa jasad, terutama pada kelompok prokaryot, dijumpai bahan genetik tambahan selain bahan genetik. Bahan genetik tambahan/ekstra semacam ini secara umum sebagai plasmid. Batasan genom pada prokaryot hanya meliputi bahan genetik utamanya, kecuali kalau genetik tambahan tersebut merupakan bagian yang secara tak terpisahkan dari sel tersebut. Sebagai contoh, yang dinamakan genom bakteri *Escherichia coli* adalah semua gen yang ada satu unit bahan genetik utamanya (kromosom) yang tersusun  $4,2 \times 10^6$  bp (*base pairs/pasangan basa*) DNA. Sebaliknya, beberapa prokaryot, misalnya *Pseudomonas sp.*, dan *Rhizobium* tahu ada unit bahan genetik yang seringkali dianggap sebagai *raksasa (giant plasmid)* yang secara genetik merupakan bahan yang vital untuk jasad tersebut.

Sebagai contoh, *Pseudomonas* mempunyai plasmid metabolik (plasmid CAM) yang 230 kb (1 kb: 1 kilo base pairs, seribu pasangan basa). Oleh sifat genetisnya yang vital maka plasmid raksasa semacam itu merupakan bagian genom jasad tersebut.



Gambar 8.11 Untaian DNA membentuk kromosom

Pada jasad eukaryot, selain bahan genetik utama yang terdapat inti sel, yang disebut sebagai kromosom, juga dijumpai ada genetik lain yang terletak di dalam organel yang lain, misalnya bd DNA pada mitokondria dan kloroplas (pada tumbuhan hijau).

#### f. Organisasi Genom Pada Prokaryot

Bahan genetik utama (kromosom) jasad prokaryot pada umumnya terdiri atas satu unit molekul DNA untai ganda (*double-stranded*) dengan struktur lingkaran (*circular*). Oleh karena itu jasad prokaryot bersifat monoploid karena hanya ada satu bahan genetik utama. Pada bakteri *Escherichia coli*, bahan genetik utama-nya terdiri atas sekitar 4600 kb ( $4,6 \times 10^6$  bp). Bahan

genetik pada jasad prokaryot tidak dikemas di dalam suatu struktur yang jelas karena pada sel prokaryot *tidak terdapat inti sel* (nukleus).

Hal ini berbeda dengan bahan genetik utama jasad eukaryot yang terdapat di dalam struktur nukleus. Bahan genetik utama jasad prokaryot diketahui terikat pada membran sel sebelah dalam yang diduga berperan dalam proses pemisahan DNA pada waktu terjadi pembelahan sel. Oleh karena struktur bahan genetik utama jasad prokaryot berupa molekul lingkaran maka molekul tersebut tidak ada bagian ujungnya. Meskipun pada umumnya kromosom bakteri berupa molekul DNA dengan struktur lingkaran, namun diketahui terdapat beberapa bakteri yang struktur bahan genetik utamanya berupa molekul DNA linear, misalnya pada bakteri *Borrelia burgdorferi* dan *Streptomyces lividans*. Ujung molekul kromosom *S. lividans* diketahui berikatan secara kovalen dengan suatu protein. Protein di ujung molekul kromosom semacam ini mempunyai fungsi yang sangat penting dalam proses inisiasi replikasi DNA. Selain itu juga diketahui ada bakteri yang mempunyai 2 molekul kromosom yaitu bakteri *Rhodobacter sphaeroides*.

Selain bahan genetik utama, jasad prokaryot seringkali juga, mempunyai bahan genetik tambahan yang disebut sebagai plasmid. Plasmid pada prokaryot berupa molekul DNA untai dengan struktur lingkaran. Pada umumnya plasmid tidak dibutuhkan oleh sel untuk pertumbuhan meskipun seringkali plasmid membawa gen-gen tertentu

yang memberikan keuntungan tambahan bagi sel dalam keadaan tertentu, misalnya gen ketahanan terhadap antibiotik. Oleh karena itu dalam keadaan normal plasmid dapat dihilangkan dengan metode *curing* tanpa mengganggu pertumbuhan selnya.

### 8.3 Teknik Kultur In vitro

Dewasa ini pemerintah sedang menggalakkan komoditas non-migas, melalui pengembangan agribisnis yang dapat meningkatkan perolehan devisa negara. Upaya peningkatan ekspor komoditas pertanian memerlukan dukungan penyediaan bibit untuk memenuhi kebutuhan yang semakin meningkat. Bibit suatu varietas unggul yang dihasilkan pemulia tanaman sangat terbatas, sedangkan bibit tanaman yang dibutuhkan sangat banyak.

Dengan dipenuhi dengan perbanyakan melalui teknik konvensional. Salah satu teknologi harapan yang telah terbukti keberhasilannya adalah teknik kultur *in vitro*. Teknologi tersebut telah banyak diguna-kan untuk pengadaan bibit pada berbagai tanaman. Melalui kultur *in vitro*, tanaman dapat diperbanyak setiap waktu sesuai kebutuhan, karena kecepatan perbanyakan yang tinggi. Bibit dari varietas unggul yang mampu bersaing di pasaran internasional yang jumlahnya sangat sedikit dapat dikembangkan melalui kultur in-vitro.

Perbanyakan tanaman dengan kultur *in vitro* telah banyak diusahakan secara komersial di negara maju seperti Amerika, Jepang, dan Eropa. Pemanfaat-an

teknologi tersebut untuk pengadaan bibit pada awalnya berdasarkan hasil percobaan Morel tahun 1960 pada anggrek *Cymbidium*.

Dalam waktu yang singkat dari bahan tanaman yang sangat terbatas dapat dihasilkan bibit dalam jumlah yang banyak. Keberhasilan tersebut mendorong dimanfaatkannya *in vitro* sebagai teknologi perbanyakan yang banyak memberikan keunggulan daripada teknologi konvensional. Walaupun demikian, terdapat beberapa kendala yang sering dihadapi dalam aplikasinya yaitu:

- (1) Keberhasilan teknik ini pada tanaman tahunan berkayu masih rendah sehingga aplikasinya masih terbatas pada jenis tanaman tertentu saja.
- (2) Kapasitas regenerasi menurun bila sering dilakukan pembaharuan.
- (3) Penurunan integritas genetik pada bibit yang dihasilkan.
- (4) Persentase keberhasilan aklimatisasi (terutama pada tanaman tahunan berkayu) relatif masih rendah.
- (5) Adanya patogen internal (khususnya pada tanaman tahunan berkayu) yang sulit dihilangkan.
- (6) Diperlukan tenaga kerja yang intensif, terdidik, serta mempunyai keterampilan khusus.
- (7) Diperlukan modal awal yang cukup tinggi.

Pierik (1987) menyatakan bahwa perbanyakan melalui kultur *in vitro* dapat dikatakan berhasil bila

memenuhi beberapa kriteria sebagai berikut:

- (1) tidak merubah sifat genetik pohon induk
- (2) seleksi kuat pada bahan tanaman yang akan digunakan sebagai eksplan agar bebas penyakit,
- (3) teknik perbanyakan yang tidak terlalu rumit,
- (4) kemampuan regenerasi yang tetap tinggi, dan
- (5) ekonomis.

Pada tanaman semusim (berdinding lunak), masalah regenerasi umumnya tidak menjadi masalah. Faktor pertunasan yang tinggi dapat tercapai dengan penggunaan formulasi media tertentu. Berbeda dengan tanaman tahunan berkayu, banyak faktor yang menghambat proses regenerasi, antara lain:

- 1) daya meristematis tanaman yang rendah
- 2) tingkat oksidasi fenol yang tinggi,
- 3) jaringan sklerenkhima,
- 4) kandungan inhibitor organik yang tinggi,
- 5) kurangnya faktor perakaran,
- 6) kandungan lignin yang tinggi, dan
- 7) gugurnya tunas dan daun yang lebih dini.

Penggunaan komponen organik tertentu dan jaringan yang bersifat juvenil dapat memacu daya regenerasi jaringan, menghambat aktivitas etilen dan mengurangi terbentuknya kinon karena oksidasi fenol. Multiplikasi tunas merupakan salah satu faktor penting yang menentukan keberhasilan perbanyakan melalui kultur *in vitro*. Semakin banyak tunas yang dapat

dibentuk, semakin tinggi peluang memperoleh bibit yang banyak.

Jumlah bibit yang dihasilkan dapat dihitung berdasarkan jumlah kelipatan tunasnya. Pennel (1987) memberikan formulasi untuk menghitung potensi jumlah plantlet (bibit) yang dapat dihasilkan secara teoritis dalam satu periode (1 tahun) dengan rumus sebagai tercantum di bawah ini.

Teknik budidaya tanaman dengan menggunakan metode konvensional dalam medium tanah atau pasir seringkali menghadapi kendala teknis, lingkungan maupun waktu. Sebagai contoh, perbaikan tanaman dengan menggunakan biji memerlukan waktu lama dan seringkali hasilnya tidak seperti tanaman induknya. kendala lain yang juga sering muncul adalah gangguan alam, baik yang disebabkan oleh jasad hidup, misalnya hama dan penyakit, maupun cekaman lingkungan yang dapat mengganggu keberhasilan banyakan tanaman di lapangan. Kebutuhan akan bibit tanaman jumlah besar, berkualitas, bebas hama dan penyakit serta harus media dalam waktu singkat seringkali tidak dapat dipenuhi dengan menggunakan metode konvensional baik secara generatif maupun vegetatif.

$$Y = A^n \times B \times F1 \times F2 \times F3$$

di mana :

Y= jumlah plantlet yang dihasilkan

A= jumlah tunas yang dihasilkan pada setiap subkultur (faktor multiplikasi)

B = jumlah eksplan awal yang tumbuh

n= jumlah subkultur pada periode tertentu (per tahun)

F1= % keberhasilan kultur pada tahap Multiplikasi

F2= % keberhasilan kultur pada tahap Perakaran

F3= % keberhasilan kultur pada tahap aklimatisasi



Gambar 8.12 .  
Hasil Kultur *In-vitro*

Sejak tahun 1902 Gottlieb Haberlandt telah mengajukan gagasan mengenai kemungkinan pengembangan teknik kultivasi tanaman dari sel yang ditumbuhkan dalam larutan nutrisi. Beberapa puluh un kemudian, yaitu pada tahun 1939, Nobecurt, seorang ahli penyatanaman dari Perancis, Pierre Roger Gautheret dari Universitas rbonne, Perancis, dan R.P. White dari Amerika Serikat untuk tama kalinya berhasil melakukan kultivasi tanaman yang berasal dari jaringan.

Pada saat itu Gautheret menggunakan jaringan tanaman *V. capraea* dan *Populus alba* sebagai model untuk melakukan banyakan dan perbelahan jaringan tanaman. Selain itu, Gautheret. berhasil melakukan perbanyakan (*propagation*) kultur jaringan man wortel dengan menambahkan asam indol asetat (*Indolec Acid*) untuk menstimulasi pertumbuhan jaringan yang tidak salami diferensiasi. Jaringan hasil

perbanyakannya tersebut disebut sebagai kalus (*callus*).

Selanjutnya, pada tahun 1950, Georges Morel yang bekerja sama dengan Gautheret berhasil melakukan perbanyakan jaringan tumbuhan monokotil dengan menggunakan meristem. Bahkan pada tahun 1952 Morel dan Martin berhasil mengembangkan teknik kultur meristem *Dahlia* dan memperoleh tunas yang bebas virus dan pada tahun 1955 mereka dapat mengembangkan kultur tanaman kentang yang bebas virus. Penelitian-penelitian selanjutnya membuka kemungkinan penerapan teknik kultur sel atau jaringan untuk berbagai macam tanaman yang akhirnya memberikan pengaruh besar dalam pengembangan bioteknologi tanaman.

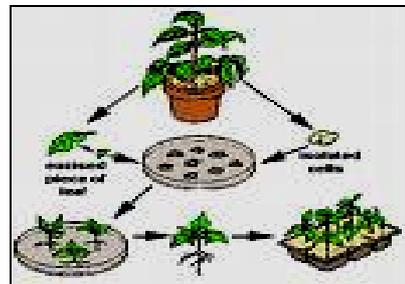
Pada tahun 1901 Morgan mengemukakan bahwa setiap sel mempunyai kemampuan untuk berkembang menjadi suatu jasad hidup yang lengkap melalui proses regenerasi. Kemampuan ini oleh Morgan disebut sebagai totipotensi (*totipotency*). Konsep totipotensi tersebut mempunyai makna sangat penting dalam bidang kultur jaringan. Istilah kultur jaringan mengacu pada teknik untuk menumbuhkan jasad multiselular dalam medium padat maupun cair menggunakan jaringan yang diambil dari jasad tersebut.

Teknik kultur jaringan tersebut dilakukan sebagai alternatif perbanyakan tanaman bukan dengan menggunakan media tanah, melainkan dalam medium buatan di dalam tabung. Teknik ini sekarang sudah berkembang luas sehingga bagian tanaman yang digunakan sebagai bahan awal perbanyakan tidak hanya berupa

jaringan melainkan juga dalam bentuk sel sehingga juga dikenal teknik kultur sel. Oleh karena itu teknik ini secara umum disebut sebagai teknik kultur *in-vitro*.

#### a. Teknik Dasar Kultur *In-Vitro* Tanaman

Kultur *in-vitro* tanaman memerlukan beberapa komponen utama, yaitu: (1) bahan awal (*starting materials*), (2) media yang sesuai, (3) tempat kultivasi. Bahan awal yang dapat digunakan kultur *in-vitro* tanaman bermacam-macam, antara lain: batang, tunas apikal dan axilari (*apical and axillary buds*), *petiole*, *pollen*, *petal*, *ovule*, akar dan lain-lain. Bagian tanaman digunakan sebagai bahan awal kultur *in-vitro* disebut sebagai eksplan (*explant*).



Gambar 8.13  
Proses kultur *in-vitro* pada tanaman

Untuk mengembangkan tanaman secara *in vitro* sampai menjadi plantlet dan akhirnya menjadi tanaman lengkap yang siap dipindah ke medium tanah, maka terdapat beberapa tahapan utama yang harus dilakukan, yaitu: (1) pemilihan sumber tanaman yang akan digunakan sebagai bahan awal Jaringan meristem, eksplan, dan lain-lain), (2) penanaman pada medium yang

sesuai sampai terjadi perbanyakan (misalnya dalam bentuk kalus), (3) pembentukan tunas dan akar sampai terbentuk plantlet, (4) aklimatisasi, yaitu proses adaptasi pada lingkungan di luar sistem *in vitro*, (5) penanaman pada medium biasa (tanah atau media bukan artifisial lainnya).

#### b. Pemilihan Dan Penyiapan Eksplan

Bahan yang akan digunakan sebagai eksplan sebaiknya berasal dari bagian tanaman yang masih muda dan sehat. Sebelum digunakan, eksplan harus dibersihkan dengan air bersih dan deterjen khusus, misalnya Tween-80, kemudian disterilkan. Bahan yang berupa biji yang keras harus diperlakukan khusus menggunakan asam sulfat 50% untuk menghilangkan dormansi biji, setelah itu dibersihkan dengan air mengalir selama 1-2 jam. Eksplan yang akan digunakan dipotong potong dengan ukuran yang sesuai dengan keperluan.

Salah satu prasyarat utama dalam teknik kultur *in-vitro* adalah kebersihan dan sterilitas alat serta tempat yang digunakan. Hal ini diperlukan untuk mencegah terjadinya kontaminasi oleh bakteri atau jamur yang pertumbuhannya jauh lebih cepat dibanding dengan pertumbuhan kultur sel atau ja-ri-ngan tanaman. Oleh karena itu pekerjaan kultur *in vitro* sebaiknya dilakukan di tempat tertutup dan tidak digunakan untuk aktivitas yang lain. Untuk menjaga sterilitas maka pebedaan sebaiknya dilaku-kan di dalam *laminar air flow*, yaitu suatu kabin yang dirancang

khusus untuk melakukan pekerjaan yang menuntut sterilitas. Alat-alat dan bahan yang tahan panas dapat disterilisasi dengan autoklaf, sedangkan peralatan atau tempat kerja yang lain dapat disterilkan dengan menggunakan alkohol atau disinfektan yang sesuai, misalnya larutan merkuri klorida ( $\text{HgCl}_2$ ) 0,01-0,1%. Jarum atau pisau skalpel yang digunakan untuk memotong atau mengambil dan menanam eksplan harus disterilkan juga dengan membakar dengan lampu bunsen sesaat sebelum digunakan. Pada prinsipnya semua pekerjaan dalam kultur *in vitro* harus dilakukan secara aseptik.

#### c. Medium Yang Digunakan

Medium yang digunakan untuk kultur *in-vitro* tanaman dapat berupa medium padat atau cair. Medium padat digunakan untuk menghasilkan kalus yang selanjutnya diinduksi membentuk tanaman yang lengkap (disebut sebagai *plantlet*), sedangkan medium cair biasanya digunakan untuk kultur sel. Medium yang digunakan mengandung lima komponen utama, yaitu: senyawa anorganik, sumber karbon, vitamin, zat pengatur tumbuh, dan suplemen organik.



Gambar 8.14.  
Media padat untuk kultur jaringan tanaman

Senyawa anorganik terdiri atas unsur-unsur makro dan mikro. Pada umumnya medium mengandung nitrat dan potasium pada konsentrasi masing-masing 25 mM. Ammonium merupakan senyawa esensial untuk hampir semua kultur tetapi konsentrasi yang diperlukan lebih rendah dibandingkan dengan nitrat. Konsentrasi kalsium, magnesium dan sulfat yang diperlukan sekitar 0-3 mM. Unsur-unsur mikro yang diperlukan antara lain iodine (I), boron (B), mangan (Mn), zinc (Zn), molybdenum (Mo), tembaga (Cu), kobalt (Co) dan besi (Fe).

Sumber karbon yang digunakan dapat berupa glukosa, fruktosa, maltosa atau sukrosa dengan konsentrasi sekitar 2-4%, tetapi sukrosa merupakan sumber karbon yang banyak digunakan dalam banyak sistem kultur.

Vitamin yang banyak digunakan antara lain adalah *thiamin*, *pyridoxine* dan asam nikotinat. Suplemen senyawa organik yang digunakan adalah asam amino (biasanya digunakan *glycine*), ekstrak khamir, peptone, ekstrak malt. Meskipun demikian, biasanya medium sintetik yang jelas komposisi kimiawinya lebih banyak digunakan sedangkan suplemen organik yang tidak jelas komposisi kimiawinya hanya digunakan jika dianggap esensial. Zat pengatur tumbuh juga diperlukan dalam kultur *in vitro* untuk mendukung pertumbuhan. Kombinasi zat pengatur tumbuh yang digunakan meliputi:

- untuk memperbanyak (*proliferation*) sel digunakan 2,4-dichlorophenoxy acetic acid (2,4-D) atau 1-naphthalene acetic acid

(NAA) dan sitokinin (kinetin, benzyl adenosine, 2-isopentenyl adenosine, zeatin),

- untuk indole acetic acid (IAA), indole butyric acid (IBA) dalam konsentrasi rendah dan sitokinin dalam konsentrasi tinggi, tetapi bukan dalam bentuk 2,4-D.

Senyawa 2,4-D diketahui menginduksi perbanyakan sel tetapi menekan diferensiasi pada tanaman dikotil, tetapi 2,4-D dan 2,4,5-T (2,4,5 trichloro-phenoxy-acetic acid) diketahui bersifat efektif untuk menginduksi embrio-genesis somatik pada tanaman sereal (monokotil).

Medium yang digunakan untuk kultur *in-vitro* sekarang dapat dibeli dalam bentuk jadi meskipun harganya lebih mahal dibanding kalau dibuat sendiri di laboratorium. Komposisi-1 medium untuk kultur *in-vitro* dapat dilihat pada buku-buku manual kultur *in-vitro*.

#### d. Tempat Kultivasi

Kultur *in-vitro* tanaman dapat dilakukan dengan menggunakan dua macam medium yaitu medium padat atau medium cair. Kultivasi sel atau jaringan secara *in vitro* secara prinsip dapat dilakukan dengan menggunakan berbagai macam wadah, mulai dari tabung reaksi, tabung erlenmeyer, bahkan botol gelas sederhana. Hal yang paling penting dalam pemilihan wadah untuk kultur *in vitro* adalah kemudahan untuk menjaga sterilitasnya selama memperbanyak sel atau jaringan. Jika menggunakan kultivasi pada medium cair dan perlu penggojokan maka sebaiknya digunakan wadah yang

memungkinkan untuk ditempatkan secara mudah dan aman pada alat penggojok. Oleh karena itu tabung erlenmeyer merupakan wadah yang ideal untuk kultur sel menggunakan medium cair.



Gambar 8.15  
Salah satu contoh tempat kultivasi berupa wadah plastik dan botol gelas

#### e. Kultur Kalus

Tanaman dapat diperbanyak secara vegetatif menggunakan teknik kultur *in vitro* dengan teknik kultur kalus atau kultur sel. Jika suatu eksplan ditanam pada medium padat atau dalam medium cair yang sesuai, dalam waktu 2 - 4 minggu, tergantung spesiesnya, akan terbentuk massa kalus yaitu suatu massa *amorfo* yang tersusun atas sel-sel parenkim berdinding sel tipis yang berkembang dari hasil proliferasi sel-sel jaringan induk. Kalus dapat disub-kultur dengan cara mengambil sebagian kalus dan memindahkannya pada medium baru. Dengan sistem induksi yang

tepat kalus dapat berkembang menjadi tanaman yang utuh (*plantlet*).

Kultur kalus dapat dikembangkan dengan menggunakan eksplan yang berasal dari berbagai sumber, misalnya tunas muda, daun, ujung akar, buah, dan bagian bunga. Kalus dihasilkan dari lapisan luar sel-sel korteks pada eksplan melalui pembelahan sel berulang-ulang. Kultur kalus tumbuh berkembang lebih lambat dibanding kultur yang berasal dari suspensi sel. Kalus, terbentuk melalui tiga tahapan, yaitu induksi, pembelahan sel dan diferensiasi. Pembentukan kalus ditentukan sumber eksplan, komposisi nutrisi pada medium dan faktor lingkungan. Eksplan yang berasal dari jaringan meristem berkembang lebih cepat dibanding jaringan dari sel-sel berdinding tipis dan mengandung lignin. Untuk memelihara kalus, maka perlu dilakukan sub-kultur secara berkala, misalnya setiap 30 hari.



Gambar 8.16  
Kultur kalus tanaman

Kultur kalus bermanfaat untuk mempelajari beberapa aspek dalam metabolisme tumbuhan dan diferensiasinya, misalnya: (1) mempelajari aspek nutrisi tanaman, (2) diferensiasi dan morfogenesis sel dan organ tanaman, (3) variasi

somaklonal, (4) trans-formasi genetik menggunakan teknik biolistik, (5) produksi metabolit sekunder dan asinya.

f. Kultur sel

Kultur sel tanaman dapat ditumbuhkan dengan menggunakan medium cair dalam erlenmeyer. Sebagai inokulum digunakan sebagian kalus yang kemudian ditumbuhkan dalam medium cair dan digojok sehingga sel dapat terpisah. Selain membuat sel menjadi terpisah (tidak mengelompok), penggojokan juga berfungsi memberikan aerasi pada kultur. Banyaknya inokulum yang digunakan seringkali mempengaruhi laju pertumbuhan sel, karena itu dikenal suatu konsep yang disebut kerapatan sel awal kritis (*critical initial cell density*) yaitu jumlah inokulum terendah per volume medium yang memungkinkan kultur sel dapat tumbuh.

Laju pembelahan sel pada sistem kultur suspensi sel lebih tinggi dibanding pada kultur kalus tetapi masih lebih rendah dibanding laju pertumbuhan sel bakteri dan biasanya berkisar antara 24-72 jam. Oleh karena itu penumbuhan ulang (sub-kultur) kultur suspensi sel perlu dilakukan dalam periode yang lebih singkat dibanding dengan periode penumbuhan ulang kultur kalus, sekitar 7-21 hari. Kultur sel mempunyai beberapa keunggulan dibanding dengan kultur kalus, yaitu:

- Suspensi sel dapat dipipet sehingga mempermudah proses sub kultur.

- Tidak seheterogen kultur kalus dan diferensiasi sel tidak terlalu besar
- Dapat dikulturkan dalam volume besar sampai 1500 liter
- Lebih mudah diatur kondisi lingkungannya
- Dapat dimanipulasi untuk produksi metabolit alami dengan cara menambahkan precursor

Kultur sel dapat dikembangkan lebih lanjut menjadi kultur tunggal karena sistem kultur suspensi sel biasanya terdiri atas campuran sel-sel tunggal dan kelompok kecil sel-sel. Kultur sel dapat dimanfaatkan untuk mengisolasi protoplas dan pengembangan galur sel dengan sifat fisiologis spesifik, misalnya toleran terhadap garam.

g. Kultur Protoplas

Protoplas adalah sel yang tidak mempunyai dinding sel. Protoplas dapat diperoleh dengan perlakuan enzimatis atau mekanis. Enzim yang digunakan untuk membuat protoplas tanaman berupa campuran beberapa enzim antara lain selulase, pektinase, protease. Protoplas dapat diregenerasi sehingga membentuk dinding sel kemudian mengalami pembelahan dan akhirnya dapat membentuk kalus. Selanjutnya kalus dapat disubkultur. Jika kalus ditanam pada medium yang tidak mengandung manitol dan auxin, maka dapat terjadi embriogenesis. Embrio yang diperoleh selanjutnya dapat berkembang menjadi kecambah yang akhirnya berkembang menjadi tanaman dewasa.

Kultur protoplas memberikan dasar yang penting untuk manipulasi sel tanaman yaitu dengan melakukan fusi protoplas antar spesies atau galur yang berbeda. Fusi protoplas dapat dimanfaatkan untuk melakukan persilangan antar spesies atau galur tanaman yang tidak memungkinkan untuk dilakukan dengan persilangan biasa karena adanya masalah inkompatibilitas fisik. Fusi protoplas membuka kemungkinan untuk :

- menghasilkan hibrid soma-tik amphidiploid yang fertil antar spesies yang secara seksual tidak kompatibel,
- menghasilkan galur hetero-zigot dalam satu spesies tanaman yang secara normal hanya dapat diperbanyak dengan cara vegetatif, misalnya pada kentang,
- memindahkan sebagian informasi genetik dari satu spesies ke spesies lain dengan memanfaatkan fenomena yang disebut penghilangan kromosom (*chromosome elimination*), dan
- memindahkan informasi genetik yang ada di sitoplasma dari satu galur atau spesies ke galur atau spesies lain.

Fusi protoplas dapat menghasilkan dua macam kemungkinan produk:

- hibrid, jika nukleus dari kedua spesies tersebut betul-betul, mengalami fusi (menyatu),
- cybrid (*cytoplasmid hybrid atau heteroplast*), jika hanya sitoplasma yang mengalami fusi sedangkan informasi genetik dari salah satu induknya hilang.

Perlu diketahui bahwa selain informasi genetik yang terdapat di

dalam nukleus, terdapat juga genetik yang tidak berada di dalam nukleus melainkan terdapat di dalam sitoplasma (*cytoplasmic inheritance*), misalnya sifat *male sterility* pada beberapa tanaman.

Teknik fusi protoplas telah berhasil digunakan misalnya pada fusi protoplas *Nicotiana glauca* dengan *N. langsdorffii*, hibrid somatik *Solanum tuberosum* dengan *S. chacoense*, tomat dengan kentang, barley dengan gandum, barley dengan padi, gandum dengan oat, dan tebu dengan sorghum. Hasil fusi (disebut sebagai fusan) yang diperoleh selanjutnya dapat ditumbuhkan pada medium untuk menghasilkan kalus hibrid. Kalus hibrid selanjutnya dapat diinduksi sehingga terbentuk tanaman hibrid.

#### h. Teknik Regenerasi *In Vitro*

Kemampuan sel tanaman untuk menjadi tanaman yang lengkap (totipotensi) dapat dimanfaatkan untuk melakukan regenerasi tanaman secara *in vitro* dari sumber yang berupa protoplas, sel, jaringan maupun organ. Teknik kultur jaringan, sel, atau protoplas telah banyak dimanfaatkan untuk memperbanyak berbagai macam tanaman. Kalus yang dikembangkan dari eksplan, misalnya, dapat disegel sehingga membentuk tanaman yang lengkap. Proses pembentukan organ-organ tanaman yang lengkap dari kultur sel atau jari disebut organogenesis. Teknik untuk menginduksi organogenesis pada umumnya dilakukan pada kultur kalus meskipun juga dapat dilakukan

secara langsung dari eksplan yang ditanam pada medium

White dan Nobecourt, yang bekerja secara independen, untuk pertama kalinya melaporkan pada tahun 1939 mengenai keberhasilan mereka dalam menginduksi pembentukan tunas (*shoot*) pada tembakau (White) dan pembentukan akar pada kalus wortel (Nobeco Penelitian selanjutnya oleh Skoog dan Miller pada tahun 1957 menunjukkan bahwa kombinasi yang tepat antara auxin dan sitokinin, menginduksi pembentukan akar dan tunas tembakau dari kultur ka Pada tahun berikutnya yaitu 1958, Reinert dan Steward berhasil melakukan embriogenesis somatik secara *in vitro* pada wortel. Eisolomatik dapat terbentuk pada kalus, kultur sel maupun protoplas bahkan terbentuk secara langsung dari sel-sel struktur yang terorganisasi, misalnya batang atau embrio zigot. Sementara itu, tumbuhan lengkap yang terbentuk dari hasil kultur *in vitro* (disebut sebagai *plantlet*) yang pertama kali dilaporkan adalah *Tropeolum* dan *Lupinus* yang dilakukan oleh Ernest Ball pada tahun 1946.

Sekarang ini tanaman hasil kultur *in vitro* telah berhasil dilakukan pada banyak jenis tanaman, misalnya tanaman hias, tanaman pangan, sayuran, tanaman bumbu, tanaman buah dan biji, tanaman obat dan tanaman hutan

Secara umum terdapat empat sumber yang digunakan dalam perbanyak mikro (*micropropagation*) untuk menghasilkan plantlet, yaitu (1) meristem, (2) apex, (3) nodus (*node*), dan (4) bermacam-macam eksplan.

Meristem, apex dan nodus dapat dikulturkan menjadi tunas. Tunas yang dihasilkan selanjutnya dapat digunakan sebagai sumber untuk menghasilkan banyak tunas baru dengan menggunakan percabangan axilari. Tunas-tunas tersebut kemudian dapat dikembangkan le-bih lanjut sehingga terbentuk perakaran dan akhirnya menjadi plantlet. Di sisi lain, bermacam-macam eksplan dapat juga dikembangkan sehingga terbentuk tunas adventif, atau embrio somatik secara langsung. Eksplan juga dapat ditumbuhkan sebagai kalus yang selanjutnya diinduksi sehingga terbentuk tunas adventif. Selain itu, kalus juga dapat digunakan sebagai sumber sel untuk membuat kultur suspensi sel yang selanjutnya dapat dikembangkan untuk menghasilkan embrio somatik secara tidak langsung. Eksplan mau-pun kalus yang membentuk tunas adventif selanjutnya dapat diinduksi sehingga membentuk akar dan akhirnya menjadi plantlet. Embrio somatik, baik yang dihasilkan secara langsung maupun tidak langsung dapat diinduksi sehingga ber-kecambah dan akhirnya juga menjadi plantlet. Proses-proses ini secara umum dapat dikelompokkan menjadi empat macam, yaitu:

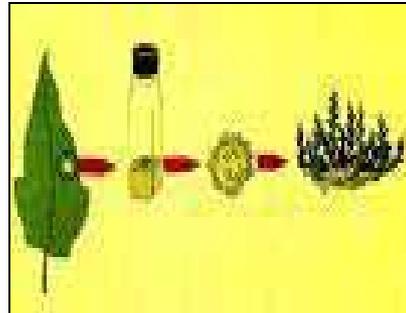
- *Embriogenesis somatik* yang mengarah ke pembentukan struktur bipolar yang mengandung axis tunas dan akar dengan sistem vaskular tertutup. Embriogenesis somatik dapat dihasilkan secara langsung, atau secara tidak langsung melalui pembentukan kalus dari eksplan.

- *Pembentukan tunas axilari* yang secara genetik stabil. Pembentukan tunas axilari merupakan metode yang paling baik karena plantlet yang dihasilkan adalah benar-benar serupa dengan tanaman induk. Metode ini juga disebut *perbanyakan klonal*.
- *Pembentukan tunas adventif* yaitu tunas yang terbentuk dari sumber selain meristem. Stabilitas genetik plantlet yang terbentuk dan tunas adventif semacam ini tidak dapat dijamin sebab jika kalus terbentuk maka kemungkinan ketidak-stabilan genetik akan meningkat.
- *Organogenesis* yaitu pembentukan organ dari jaringan yang tidak mengalami diferensiasi, yaitu dalam hal ini adalah kalus.

Proses regenerasi dari bermacam-macam sumber sampai menjadi plantlet dipengaruhi oleh dua faktor utama, yaitu: sumber eksplan, dan komponen media. Sumber eksplan dapat mempengaruhi proses regenerasi karena beberapa faktor, yaitu:

- organ yang digunakan,
- status fisiologis organ,
- musim pada waktu organ diambil,
- ukuran eksplan, dan
- kualitas keseluruhan tanaman sebagai sumber eksplan.

Di sisi lain, komponen media yang mempengaruhi proses regenerasi adalah nutrisi anorganik dan organik, sumber karbon, sumber nitrogen, zat pengatur tumbuh, dan vitamin.



Gambar 8.17  
Regenerasi tanaman dari jaringan daun

#### i. Induksi Kalus, Kultur Kalus Dan Regenerasi Organ Dan Embrio

Dalam bagian ini akan diberikan gambaran secara sederhana proses kultur *in vitro* tanaman sampai akhirnya menjadi tanaman yang lengkap dan dapat dipindahkan ke medium tanah atau medium bukan artifisial lainnya. Secara garis besar metode perbanyakan tanaman secara *in vitro* terdiri atas empat tahapan, yaitu (1) seleksi dan penyiapan kultur aseptik, (2) multiplikasi kultur, (3) regenerasi plantlet, (4) aklimatisasi dan pemindahan ke tanah. Dalam tahapan seleksi dan penyiapan kultur aseptik dilakukan pengambilan bahan awal dan penanamannya pada medium *in vitro* yang sesuai.

Setelah diperoleh tunas pada tahapan pertama, dilakukan multiplikasi kultur untuk mendapatkan tunas-tunas baru dalam jumlah lebih banyak. Tunas-tunas baru hasil perbanyakan kemudian dipindahkan ke medium yang khusus dibuat untuk menginduksi pembentukan akar sehingga akhirnya terbentuk plantlet yang lengkap. Plantlet yang terbentuk selanjutnya diadaptasi dengan lingkungan alami sebagai

persiapan untuk dipindahkan dan ditanam di tanah atau lapangan.

Secara sederhana, tahapan yang dilalui dalam proses kultivasi tanaman secara *in vitro* dapat disaiki sebagai berikut:

- Pengambilan eksplan, misalnya daun yang masih muda. Daun yang muda dipotong sesuai dengan ukuran yang akan digunakan, selanjutnya dilakukan sterilisasi.
- Eksplan yang diperoleh kemudian ditanam pada medium (padat) yang sesuai yang sudah disterilisasi. Medium yang digunakan dimasukkan dalam wadah yang akan digunakan untuk kultivasi, misalnya tabung erlenmeyer, sampai terbentuk struktur kalus.
- Sebagian kalus yang terbentuk diambil untuk disub-kultur pada medium segar pada tabung yang lain.
- Sebagian kalus yang terbentuk dari hasil subkultur kemudian dipindahkan pada medium lain yang khusus digunakan untuk induksi pembentukan organ, misalnya tunas (*shoot*).
- Jika induksi organogenesis berhasil maka pada langkah ke-4 di atas akan terbentuk tunas adventif.
- Sebagian tunas yang terbentuk kemudian dipotong dan dipindahkan ke medium lain yang digunakan untuk menginduksi pembentukan akar.
- Jika induksi pembentukan akar berhasil maka sudah didapatkan plantlet yang siap dipindahkan ke

medium bukan artifisial, misalnya medium tanah.

- Plantlet yang sudah terbentuk selanjutnya dipindah ke medium tanah untuk proses aklimatisasi.

#### j. Induksi Pembentukan Organ (Organogenesis) Pada Kultur *In Vitro*

Pembentukan organ (organogenesis) pada kultur *in vitro* tanaman dipengaruhi oleh ketersediaan senyawa-senyawa tertentu dalam medium. Pembentukan tunas dan akar ditentukan oleh konsentrasi auksin dan sitokinin yang digunakan. Senyawa IBA dan NAA adalah senyawa yang paling sering digunakan untuk menginduksi pembentukan akar. Pada umumnya sitokinin konsentrasi tinggi merangsang pembentukan tunas, kecuali pada kalus alfalfa yang memerlukan auxin (2,4-D) berkonsentrasi tinggi dan sitokinin (kinetin) berkonsentrasi rendah untuk membentuk tunas. Banyak spesies yang memerlukan kinetin dengan konsentrasi 0,05 M untuk membentuk tunas.

#### k. Induksi Pembentukan Embrio (Embriogenesis) Pada Kultur *In Vitro*

Selain menginduksi pembentukan organ, kultur *in vitro* tanaman juga dapat diarahkan untuk membentuk embrio. Hal tersebut dapat dilakukan dengan memindahkan sebagian kalus yang terbentuk dan hasil sub-kultur (langkah ke-3) ke medium cair. Perbanyak dalam medium cair

dapat dilakukan berulang-ulang, namun induksi pembentukan organ biasanya dilakukan pada medium padat.

Embrio dapat dihasilkan dari kalus yang tumbuh pada medium padat, tetapi embrio-genesis lebih sering terjadi pada medium cair. Oleh karena itu embrio yang dihasilkan pada kultur cair tersebut kemudian dapat diisolasi dan dipindahkan ke medium padat sampai terbentuk plantlet yang siap dipindahkan ke medium tanah. Proses pembentukan embrio dari sel somatik atau jaringan disebut sebagai proses embrio-genesis somatik.



Gambar 8.18

Plantlet yang sudah terbentuk dan siap untuk diaklimatisasi

Embriogenesis somatik secara umum terjadi pada famili *Ranunculaceae*, *Rutaceae*, *Solanaceae*, *Umbelliferae*, dan *Gramineae*. Ada dua macam embrio somatik yang dapat terbentuk yaitu: pertama, embrio yang terbentuk secara langsung dari sel atau jaringan tanpa melalui pembentukan kalus. Embrio semacam ini dapat terbentuk misalnya dari sel-sel epidermis hipokotil (misalnya pada *Ranunculus sceleratus*, *Linum usitatissimum*, *Brassica napus*). Sel-sel yang dapat membentuk embrio

semacam ini disebut *Pre-Embryonic Determined Cells (PEDC)*. Kedua, embrio yang terbentuk secara tidak langsung yaitu melalui tahapan pembentukan kalus. Embrio semacam ini misalnya dapat terbentuk dari eksplan daun *Coffea arabica*, *Petunia hybrida*, *Asparagus officinalis*. Induksi pembentukan embrio dari kalus atau eksplan memerlukan penambahan auxin ke dalam medium yang digunakan. Meskipun demikian untuk beberapa tanaman, misalnya wortel, pembentukan embrio dari kalus tidak memerlukan penambahan auxin. Sel-sel yang membentuk embrio setelah diinduksi semacam ini disebut sebagai *Induced Embryogenic Determined Cells (IEDC)*.

Senyawa yang biasanya digunakan untuk menginduksi pembentukan embrio adalah 2,4-dichlorophenoxy acetic acid (2,4-D), 2,4,5-trichlorophenoxy acetic acid (2,4,5-T) dan picloram. Beberapa tanaman monokotil dan dikotil dapat diinduksi untuk membentuk embrio dengan senyawa semacam ini. Beberapa senyawa auxin lain yang juga dapat digunakan untuk induksi embrio somatik. Sebaliknya, gibberelin dan etilen biasanya menghambat embrio-genesis.

#### I. Aklimatisasi Dan Pemindahan Tanaman Hasil Kultur *In Vitro* Ke Tanah

Plantlet yang terbentuk secara *in vitro* selanjutnya harus diaklimatisasi sebagai persiapan untuk pemindahannya ke medium tanah atau lapangan. Hal ini perlu dilakukan sebab tanaman yang diperbanyak secara *in vitro* mempunyai perbedaan kemampuan adaptasi fisiologis dengan

tanaman yang diperbanyak secara *in vivo*. Sebagai contoh, tanaman yang diperbanyak secara *in vitro* biasanya tidak memiliki lapisan lilin (*cuticular*) yang sempurna sehingga hal ini dapat memperbesar evaporasi air dari dalam sel tanaman. Daun tanaman *in vitro* biasanya tipis dan lembut dan secara fotosintesis tidak terlalu aktif sehingga tidak dapat beradaptasi dengan lingkungan klimatologis *in vivo*. Selain itu stomata biasanya juga tidak dapat berfungsi sempurna karena stomata yang terbuka pada tanaman *in vitro* menyebabkan cekaman air yang dialami pada beberapa jam pertama proses aklimatisasi.

Pada tanaman *in vitro* hubungan vaskular antara bagian tunas dengan akar umumnya tidak baik sehingga menurunkan konduksi air. Faktor lain yang perlu dipahami adalah bahwa kondisi *in vitro* menyebabkan tanaman tumbuh secara heterotrofik padahal dalam kondisi *in vivo* tanaman harus tumbuh secara autotrofik. Artinya,

sumber karbon yang biasanya diberikan dalam medium *in vitro* harus disediakan oleh tanaman itu sendiri melalui fotosintesis setelah tanaman *in vitro* dipindahkan ke kondisi *in vivo*.

Untuk membantu proses aklimatisasi di luar lingkungan laboratorium biasanya dilakukan terlebih dahulu aklimatisasi *in vitro*, misalnya dengan menurunkan kelembaban relatif.

Beberapa tanaman yang tumbuh dalam kondisi alami mempunyai asosiasi dengan mikrobia tertentu, misalnya tanaman legum membentuk hubungan simbiotik dengan bakteri *Rhizobium*. Oleh karena itu pada saat tanaman legum hasil kultur *in vitro* dipindahkan ke tanah maka perlu dilakukan inokulasi dengan bakteri *Rhizobium* yang berasosiasi dengan tanaman ini.



Gambar 8.19  
Aklimatisasi planlet pada media tanah (di dalam rumah kaca)

Banyak tanaman yang telah berhasil diperbanyak dengan kultur *in vitro* menggunakan berbagai eksplan sebagai bahan awal.

m. Kultur Meristem Untuk Menghasilkan Tanaman Bebas Virus

Salah satu aplikasi penting teknik kultur *in vitro* adalah dalam pengembangan tanaman bebas virus. Bebas virus yang dimaksud di sini adalah bebas virus yang sudah diuji secara eksperimental, artinya ada kemungkinan tanaman tersebut masih mengandung virus lain yang belum dapat dideteksi dengan teknik uji yang tersedia. Oleh karena itu istilah yang lebih tepat adalah *tanaman bebas virus yang sudah diuji*. Penelitian telah menunjukkan bahwa konsentrasi virus pada tanaman semakin kecil dengan semakin dekatnya ke bagian meristem. Pada meristem apikal diketahui tidak terdeteksi lagi adanya virus dalam 50% sampel yang diuji.

Perlu dipahami bahwa semua angiosperma dan gimnosperma tumbuh melalui meristem apikalnya. Meristem apikal biasanya berupa struktur serupa kubah (*dome*) yang terletak pada ujung tunas dan berukuran sekitar 0,1 mm (diameter) dan 0,2-0,3 mm (panjang). Meristem apikal pertama kali terbentuk selama perkembangan embrio dan akan tetap aktif selama fase vegetatif tanaman.

Sebelum diambil meristemnya, ujung tunas disterilisasi kemudian meristem diambil dari tanaman dengan menghilangkan daun yang menutupinya. Meristem yang diperoleh kemudian ditanam pada medium agar dan diinkubasi. Kondisi pendukung

pertumbuhan meristem biasanya medium dengan konsentrasi garam yang rendah dan kandungan vitamin yang tinggi. Kultur *in vitro* meristem melalui beberapa tahapan yaitu inisiasi kultur, pertumbuhan dan perkembangan, perbanyak tunas dan diikuti dengan pembentukan akar sehingga menghasilkan plantlet. Beberapa tanaman bebas virus yang berhasil dikembangkan dari kultur *in vitro* meristem antara lain, *Allium cepa* Virus mosaik, *Ananas sativus* Virus mosaik, *Brassica oleracea* virus mosaik turnip, *Cauliflower Mosaic Virus*, *Caladium hortulanum* Dasheen mosaic virus, *Dianthus barbatus* Ring spot virus (RSV), mottle virus *Ipomoea batata* (ketela rambat) Internal cork virus, Rugos mosaic virus, *Musa sp* Cucumber mosaic virus, *Petunia Tobacco mosaic virus* (TMV), *Saccharum officinarum* Virus mosaik, *Solanum tuberosum*, (kentang) *Potato virus-X*, *Potato virus-Y*, *Potato*

n. Kultur Anther dan Pollen Untuk Menghasilkan Tana-man Haploid

Tanaman haploid adalah tanaman yang mempunyai satu set tunggal kromosom (biasanya ditulis dengan notasi Mendelian sebagian, sedangkan tanaman diploid mempunyai dua set kromosom identik untuk setiap kromosom sehingga dituliskan sebagai 2n. Tanaman haploid mempunyai banyak kegunaan antara lain untuk menghasilkan tanaman homozigot yang sangat sulit diperoleh dengan pemuliaan tanaman konvensional. Lebih jauh lagi, kromosom tanaman haploid semacam itu dapat digandakan dengan senyawa mutagenik, misalnya *colchicine*.

Tanaman haploid dapat dikembangkan dengan menggunakan kultur *in vitro* anther dan pollen. Anther diperoleh dari tunas bunga dan dapat dikulturkan pada medium padat atau cair sehingga terjadi embriogenesis. Selain itu pollen juga dapat diambil secara aseptik dan dikulturkan pada medium cair.

Proses perbanyakan tanaman haploid dengan menggunakan gametofit jantan semacam ini disebut sebagai androgenesis. Ada dua macam androgenesis yaitu androgenesis langsung dan androgenesis tidak langsung. Androgenesis langsung adalah proses pembentukan plantlet haploid dengan melalui embriogenesis menggunakan kultur anther, sedangkan pada androgenesis tidak langsung plantlet terbentuk melalui pembentukan kalus yang kemudian mengalami regenerasi menjadi plantlet. Dari sisi pemuliaan tanaman, proses androgenesis langsung lebih disukai sebab androgenesis melalui pembentukan kalus dapat menyebabkan terjadinya variasi. Beberapa tanaman penting yang berhasil dikembangkan menjadi tanaman haploid dengan menggunakan teknik kultur anther atau pollen.

#### o. Variasi Somaklonal

Perbanyakan tanaman secara *in vitro* secara teoritis akan menghasilkan tanaman-tanaman yang secara genetik seragam karena tanaman *in vitro* berkembang hanya melalui pembelahan sel secara mitotik. Meski-pun demikian banyak bukti menunjukkan bahwa dalam populasi tanaman yang dihasilkan secara *in vitro*, yaitu melalui kultur kalus, kultur sel, embriogenesis

dari kultur dan embriogenesis somatik tidak langsung, terjadi variasi fenotipik dan ketidakstabilan kromosom. Larkin dan Scowcroft pada tahun 1981 menamakan variasi yang muncul dalam populasi tanaman hasil regenerasi *in vitro* tersebut sebagai variasi somaklonal.

Sebaliknya, pada tanaman yang berasal dari kultur meristem tidak terjadi variasi semacam itu sehingga sistem kultur meristem banyak digunakan untuk propagasi klonal. Variasi somaklonal disebabkan oleh beberapa faktor, yaitu (1) organisasi sel yang digunakan sebagai sumber eksplan, (2) variasi pada jaringan sebagai sumber eksplan, (3) abnormalitas pembelahan sel secara *in vitro*.

Organisasi sel mempunyai peranan penting dalam hal pemunculan variasi somaklonal. Telah diketahui bahwa hanya meristem yang dapat menghasilkan plantlet yang stabil secara genetik, sedangkan perbanyakan melalui kalus meningkatkan kemungkinan terjadinya variasi somaklonal. Variasi yang terdapat pada sumber eksplan juga mempengaruhi kemunculan variasi somaklonal. Eksplan yang berasal dari sumber yang berbeda mempunyai variasi inheren sehingga dapat muncul sebagai variasi somaklonal.

Dalam kultur *in vitro* terjadi pembelahan sel berulang-ulang yang dipengaruhi oleh zat pengatur pertumbuhan. Kombinasi yang tidak tepat dalam penggunaan zat pengatur pertumbuhan dapat menyebabkan terjadinya abnormalitas dalam pembelahan sel yang dapat muncul dalam bentuk perubahan jumlah dan struktur kromosom. Selain faktor

tumbuh, suhu, cahaya, osmolaritas juga mempengaruhi siklus, sel *in vitro*.

Pengendalian yang tidak tepat terhadap siklus sel ini dapat menyebabkan munculnya variasi somaklonal. Variasi somaklonal yang terjadi pada kultur *in vitro* tanaman dapat dimanfaatkan sebagai salah satu alternatif pemuliaan tanaman karena dapat menghasilkan varietas-varietas baru.

Beberapa sifat yang dapat muncul dalam bentuk variasi somaklonal antara lain adalah waktu pembungaan, tinggi tanaman, ukuran daun, fertilitas biji, ketahanan terhadap penyakit dan lain-lain.

#### p. Beberapa Aplikasi Lain Teknik Kultur *In Vitro* Tanaman

Kultur *in vitro* tanaman mempunyai potensi sangat besar dalam program pemuliaan tanaman serta penyediaan benih dan bibit berkualitas. Dalam aplikasi yang lebih mutakhir, teknik kultur *in vitro* merupakan dasar yang sangat penting dalam pengembangan tanaman transgenik. Selain itu, teknik kultur sel tanaman dapat dimanfaatkan guna menghasilkan berbagai metabolit sekunder. Beberapa aplikasi lain yang dapat dikembangkan dari teknik kultur *in vitro* tanaman antara lain adalah (1) biji/benih sintetik, (2) *embryo rescue*.

Teknik induksi embrio-genesis somatik dapat dikembangkan lebih lanjut untuk menghasilkan biji sintetik atau biji artifisial. Biji sintetik atau artifisial (*synthetic seed*) adalah biji yang dihasilkan dari embrio somatik yang kemudian dibungkus (*encapsulated*) dengan bahan tertentu, misalnya agarose, sodium alginat, polioksietilen. Ada empat tipe biji

sintetik berdasarkan atas embrio dan proses pembungkusannya, yaitu:

- (1) Tidak dibungkus, embrio somatik yang dikeringkan, misalnya untuk *orchard grass*.
- (2) Dibungkus, embrio somatik dikeringkan, misalnya wortel.
- (3) Dibungkus, somatik embrio dihidrasi, misalnya alfalfa.
- (4) Tidak dibungkus, embrio dihidrasi, misalnya wortel.

### 8.4 Rekayasa Genetik Pada Tanaman Tingkat Tinggi

Laboratorium kultur jaringan, Balai Penelitian Bioteknologi (BALITBIO) telah melakukan penelitian perbanyakan (vegetatif dan generatif) berbagai spesies tanaman, antara lain tanaman tahunan. Penelitian pada tanaman tahunan berkayu memerlukan waktu yang relatif lebih lama dan pada spesies tanaman tertentu memerlukan formulasi media yang kompleks, tetapi ada pula yang lebih sederhana dengan kandungan total ion rendah. Di samping faktor pertunasan yang rendah, perakaran sering menjadi masalah utama yang sulit dipecahkan (Mariska, 1996). Untuk itu, sistem regenerasi melalui jalur embriogenesis somatik lebih disukai karena meristem tunas dan akar sudah terbentuk pada struktur embriosomatik. Di masa mendatang produksi benih sintetik (embriosomatik) lebih mendapat perhatian. Namun metode embrio-genesis somatik lebih sulit daripada regenerasi melalui jalur organogenesis.

Laboratorium kultur jaringan, Balai Penelitian Bioteknologi (BALITBIO) telah melakukan penelitian perbanyakan (vegetatif dan

generatif) berbagai spesies tanaman, antara lain tanaman tahunan. Penelitian pada tanaman tahunan berkayu memerlukan waktu yang relatif lebih lama dan pada spesies tanaman tertentu memerlukan formulasi media yang kompleks, tetapi ada pula yang lebih sederhana dengan kandungan total ion rendah. Di samping faktor pertunasan yang rendah, perakaran sering menjadi masalah utama yang sulit dipecahkan (Mariska, 1996). Untuk itu, sistem regenerasi melalui jalur embriogenesis somatik lebih disukai karena meristem tunas dan akar sudah terbentuk pada struktur embriosomatik. Di masa mendatang produksi benih sintetik (embriosomatik) lebih mendapat perhatian. Namun metode embriogenesis somatik lebih sulit daripada regenerasi melalui jalur organogenesis.

1) Jambu Mete (*Anacardium occidentale* L.)

Jambu mete merupakan tanaman industri yang diprioritaskan untuk dikembangkan di daerah Kawasan Timur Indonesia (KTI). Dalam program pengembangan diperlukan bahan tanaman bermutu dalam jumlah memadai dari pohon induk yang sangat terbatas. Bibit yang berasal dari biji menghasilkan tanaman yang beragam. Untuk itu, telah dicoba perbanyak vegetatif secara *in vitro* dengan eksplan yang berasal dari pohon induk yang unggul. Hasil penelitian awal menunjukkan adanya masalah penguningan daun yang terjadi sangat cepat. Menurut Mariska *et al.*

(1997) masalah tersebut umum dijumpai pada tanaman tahunan berkayu.

Dengan penambahan asam amino tertentu masalah tersebut dapat ditekan. Penambahan *phloroglucinol* ke dalam media yang sudah mengandung BA dan tidiazuron dapat meningkatkan persentase eksplan yang bertunas dan jumlah tunas yang terbentuk dari setiap eksplan (Mariska *et al.*, 1998). Tunas *in vitro* yang berasal dari pertunasan kemudian dicoba diakarkan. Lebih dari 200 formulasi media (kombinasi MS dengan berbagai jenis auksin, senyawa fenol dan asam amino) telah dicoba, tetapi tidak dapat memacu pembentukan akar. Kemudian dicoba media "Woody Plant Medium" (WPM) dan Jordan yang dilengkapi NAA. Akar dapat terbentuk dari media dasar Jordan + NAA 7 mg/l. Dengan formulasi tersebut, akar lebih cepat terbentuk, jumlahnya lebih banyak dan pertumbuhannya lebih cepat. Bila dalam media dasar tersebut, konsentrasi NAA berbeda, akar tidak dapat terbentuk. disebabkan sempitnya selang konsentrasi optimal dari NAA.

2) Pulai (*Alstonia scholaris* L.)

Pulai termasuk salah satu tumbuhan obat langka dengan kategori jarang. Populasi tanaman ini termasuk besar, namun tersebar secara lokal atau daerah, penyebarannya tidak banyak dijumpai serta mengalami erosi berat. Tanaman pulai merupakan tanaman berkayu dan tingginya dapat mencapai 25 m.

Perbanyakan tanaman secara konvensional belum banyak dilakukan dan keberhasilannya masih rendah. Untuk mendukung upaya pengembangannya dilakukan perbanyakan vegetatif melalui kultur jaringan. Tanaman pulai mempunyai daya meristematis yang sangat rendah. Setelah biakan mengalami periode kultur *in vitro* yang relatif lama, daya meristematis tanaman meningkat.

3) Cengkeh (*Eugenia caryophyllus*)

Cengkeh merupakan salah satu tanaman industri dan umumnya diperbanyak dengan biji. Namun perbanyakan secara generatif dapat menyebabkan terjadinya segregasi genetik. Untuk mempercepat pengembangan pohon induk unggul yang jumlahnya terbatas, digunakan teknologi kultur jaringan. Masalah utama yang dihadapi pada cengkeh adalah tingkat oksidasi fenol yang sangat tinggi dan sistem regenerasi pembentukan tunas yang lambat.

Masalah pencoklatan dicoba diatasi dengan cara perendaman eksplan dalam DIECA 6 g/l selama 1 jam. Setelah perendaman eksplan ditanam pada media MS (1,1/2) dan WPM (1,1/2) yang dilengkapi BA (0, 3, 5, dan 10 mg/l). Masalah oksidasi fenol akan semakin meningkat dengan kandungan potasium yang tinggi seperti pada media dasar MS. Dinyatakan pula bahwa asam fenol teroksidasi tergantung pada potensi reduksi oksidasi dari media. Pada media WPM terutama dengan kandungan makronya yang diencerkan sampai setengahnya

tidak ditemukan adanya masalah oksidasi fenol. Media dasar WPM konsentrasi total ionnya lebih rendah daripada MS, kecuali untuk ion sulfat. Walaupun pada media WPM ½ tidak ada masalah pencoklatan, namun inisiasi tunasnya lebih lama dibandingkan WPM. Untuk mengurangi masalah pencoklatan, maka pada penelitian selanjutnya digunakan media cair dengan media dasar WPM (Tabel 4).

Tunas paling banyak diperoleh dari media WPM + BA 10 mg/l + NAA 1 mg/l. Namun setelah 7 minggu, tunas yang terbentuk tidak memanjang. Untuk itu, tambahan paling banyak (0,31 cm) diperoleh dari media awal WPM + BA 5 mg/l + NAA 0,50 mg/l. Perakaran dapat dilakukan secara *in vitro* dengan menumbuhkan tunas *in vitro* di rumah kaca dengan kelembapan yang tinggi dan pemberian intermitten mist system setiap 3 jam pada siang hari.

4) Pepaya (*Carica papaya* L.)

Pepaya merupakan salah satu tanaman yang mempunyai nilai ekonomis tinggi dan merupakan komoditas ekspor nonmigas. Komoditas tersebut diekspor ke pasar yang cukup terbuka, yaitu Singapura, Australia, Jerman, dan Perancis (Biro Pusat Statistik, 1992). Di samping buahnya kaya akan vitamin dan mineral, pepaya mempunyai banyak kegunaan lain. Untuk meningkatkan kualitas buah pepaya telah dilakukan persilangan antara pepaya Bangkok dengan pepaya Hawaii. Dari hasil persilangan diperoleh buah pepaya yang berbentuk bulat, agak kecil, buah daging tebal, warna kuning

kemerahan, wangi, dan manis. Perbanyakkan melalui biji hanya menghasilkan buah yang baik kurang dari 2%. Perbanyakkan vegetatif dilakukan melalui kultur jaringan untuk mempertahankan kualitas buah yang baik. Secara konvensional, perbanyakkan vegetatif sulit dilakukan terutama bila diarahkan untuk mempercepat pengembangan varietas unggul baru dalam skala luas. Hasil penelitian awal, dari mata tunas terminal yang ditumbuhkan pada berbagai formulasi media (lebih dari 150 formulasi), umumnya tunas tumbuh rosette (menggerombol) dan daun pendek-pendek, mengkalus pada pangkal tunasnya, tunas tidak dapat memanjang serta daunnya cepat menguning kemudian gugur dengan cepat. Gejala tersebut terjadi secara cepat (2-3 minggu setelah tanam) terutama pada biakan yang dikulturkan pada media Anderson dan WPM. Pada media MS gejala penguningan daun dan tunas terjadi lebih lama yaitu 6-8 minggu setelah tanam. Kalus lebih banyak terbentuk terutama pada media DKW yang diberi 2-IP kemudian BA. Setelah dicoba formulasi media baru yang mengandung selain zat pengatur tumbuh konsentrasi rendah diberikan pula asam amino, komponen organik lainnya dan modifikasi garam mineral tertentu, maka tunas dapat tumbuh memanjang dan daun tetap hijau. Untuk perakaran, tunas *in vitro* yang panjangnya mencapai 3-5 cm dapat diakarkan secara *in vivo* di rumah kaca.

5) Pulasari (*Alyxia stellata*)

Pulasari termasuk salah satu tanaman obat yang dikategorikan

langka. Untuk menyelamatkannya telah dilakukan antara lain melalui kultur *in vitro*. Pelestarian secara *in vitro* potensial bila dilakukan pada tanaman yang selalu diperbanyak secara vegetatif atau tanaman yang viabilitas benihnya sangat singkat. Sebelum dilakukan pelestarian secara *in vitro* maka perlu dikuasai terlebih da-hulu sistem regenerasinya.

Bila metode regenerasi sudah dikuasai maka tanaman dalam botol dapat cepat diperbanyak apabila dibutuhkan. Dari penelitian Gati dan Mariska (1992) menunjukkan bahwa perlakuan kombinasi BA 3 mg/l dengan NAA 0,10 mg/l memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan dengan perlakuan tunggal. Antara kedua zat pengatur tumbuh tersebut terjadi aktivitas sinergisme dalam memacu pertumbuhan jaringan. Zat pengatur tumbuh BA lebih efektif dibandingkan kinetin. Namun demikian pada media dengan kinetin 1 mg/l + NAA 0,10 mg/l dapat terbentuk akar. Persentase perakaran paling banyak berasal dari media MS + kinetin 1 mg/l + NAA 0 mg/l. Berbeda dengan tanaman jambu mete (Mariska *et al.*, 1998) dan cengkeh (Mariska *et al.*, 1991), pada tanaman pulasari, daya regenerasinya lebih mudah baik pada tahap pertunasan maupun perakaran.

6) Rami (*Boehmeria nivea* Gaud.)

Pada saat ini banyak kalangan swasta yang akan mengembangkan usaha di bidang pertanian dalam skala luas, antara lain tanaman serat rami. Untuk memenuhi kebutuhan bibit rami dalam jumlah yang sangat

banyak dapat dimanfaatkan teknologi kultur jaringan. Gati *et al.* (1991) telah mendapatkan metode perbanyak cepat tanaman rami. Penggunaan BA 0,50 mg/l menghasilkan tunas yang lebih banyak daripada perlakuan lainnya. Namun tunas menunjukkan gejala vitrifikasi, yang dapat menurunkan keberhasilan dalam tahap aklimatisasi.

Untuk itu dicoba formulasi lain yaitu kombinasi BA dengan 2-IP, dengan formulasi tersebut biakan tumbuh lebih tegar, daun lebih hijau dan lebih lebar. Hartman dan Kester (1983) menyatakan bahwa penggunaan zat pengatur tumbuh dari golongan yang sama pada waktu yang bersamaan pada sebagian tanaman nyata lebih baik dibandingkan perlakuan tunggal.

#### 7) Jati (*Tectona grandis*)

Jati merupakan salah satu komoditas kayu yang berharga di daerah tropis. Kebutuhan kayu jati semakin meningkat setiap tahunnya, sehingga berbagai negara produsen, di antaranya Indonesia berusaha mengembangkan tanaman jati dalam skala luas. Untuk mendukung program tersebut dicoba perbanyak secara *in vitro* melalui jalur embriogenesis somatik. Melalui cara tersebut, biji unggul hasil persilangan terkendali dapat diperbanyak secara cepat dari sel somatik, sehingga bibit dapat diproduksi dengan jumlah yang tidak terbatas. Di masa mendatang embriosomatik pada tanaman tahunan berkayu, banyak menarik perhatian untuk produksi benih

sintetis (artificial seed). Pada program perbaikan tanaman, melalui DNA rekombinan, penggunaan struktur embriosomatik lebih disukai karena dapat berasal dari satu sel. Demikian pula untuk penyimpanan benih dalam jangka pendek dan panjang, embrio somatik dianggap sebagai bahan tanaman yang ideal untuk disimpan mengingat strukturnya yang bipolar, sehingga selalu siap diregenerasi membentuk langsung benih somatik (Mariska, 1996).

Dari berbagai formulasi media yang diuji, persentase keberhasilan pembentukan embriosomatik paling tinggi berasal dari media MS + 2,40-D 2 mg/l + BA 0,20 mg/l + ABA 2 mg/l + KCl 22,36 mg/l. Penambahan KCl ke dalam media dapat meningkatkan keberhasilan, di samping itu pada media yang sama struktur embriosomatik globular dapat berkembang membentuk struktur torpedo. Struktur tersebut siap untuk dikecambahkan pada media baru. Tanpa KCl, struktur globular tidak mampu membentuk struktur yang bipolar. Pada formulasi media lain eksplan, jaringan daun muda dari biakan *in vitro* di samping membentuk struktur globular, juga membentuk kalus yang tumbuh dengan cepat. Di samping itu embriosomatik yang terbentuk cenderung mengkalus kembali bila tidak di subkultur pada media lain. Percobaan ini masih memerlukan waktu lama untuk mengetahui metode yang diperoleh dapat diulang serta mendapatkan struktur embriosomatik yang dapat dikecambahkan membentuk benih somatik. Faktor pertunasan pada tanaman tahunan (terutama tahunan berkayu) relatif masih rendah. Tunas

harus selalu di subkultur untuk memacu jaringan bersifat juvenil. Pada beberapa tanaman tahunan berkayu, media dasar WPM atau Jordan memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan MS. Untuk perakaran dapat dilakukan secara *in vivo* di rumah kaca dengan mempertahankan kelembaban yang relatif tinggi atau dengan pemberian intermittent mist system.

## Ringkasan

Setelah mempelajari BAB 8. siswa telah mampu menguasai kompetensi-kompetensi berikut:

1. Bioteknologi tanaman
2. Struktur dan organisasi bahan genetic tanaman
3. Teknik kultur in-vitro
4. Rekayasa genetika pada tanaman tingkat tinggi

Bioteknologi tanaman	Struktur dan organisasi bahan genetic tanaman
Bioteknologi tanaman yang telah berhasil dilakukan adalah tanaman transgenic yang toleran terhadap stress lingkungan seperti tembakau yang toleran terhadap kadar garam yang tinggi. Herbisida dan tahan OPT.	DNA RNA DNA sebagai bahan genetik
Teknik kultur in-vitro	Rekayasa genetika pada tanaman tingkat tinggi
Teknik kultur in vitro banyak digunakan untuk pengadaan bibit berbagai tanaman.  Komponen utama kultur in vitro adalah bahan awal, media yang sesuai , pembentukan tunas dan akar. Aklimatisasi dan penanaman pada media tanah .	Keberhasilan rekayasa genetika pada tanaman tingkat tinggi: Kultur jaringan tanaman kopi, hias, jambu mete, pulai, cengkeh, papaya, pulasari Rami dan jati.

SOAL:

1. Jelaskan tentang materi genetic yang kamu ketahui.
2. Mengapa bidang bioteknologi penting untuk dikembangkan pada sector pertanian.

TUGAS:

1. Lakukan identifikasi pada bahan pangan yang sering saudara temui yang berasal dari hasil bioteknologi.
2. Lakukan diskusi kelompok, apakah sekolah saudara memungkinkan untuk mengembangkan bidang bioteknologi, mengapa demikian.



## BAB 9. KULTUR JARINGAN

Sebelum tahun 1980-an, mungkin terasa aneh mendengar berita bibit tanaman yang dihasilkan dari potongan daun. Waktu itu, berita tersebut telah menggemparkan khalayak ramai dan dianggap tidak masuk akal. Bahkan orang menganggap berita itu sangat bertentangan dengan kebiasaan yang dilihat orang pada umumnya. Namun, seiring dengan perkembangan zaman serta ilmu pengetahuan dan teknologi, khususnya bioteknologi, kejadian di atas tidak menjadi aneh dan dapat diterima oleh akal. Secara ringkas, cara tersebut dapat dilakukan dengan menanam bagian tanaman di tempat yang cocok dan diberi perlakuan-perlakuan khusus, selanjutnya dalam waktu tertentu dapat tumbuh menjadi tanaman normal seperti tanaman di kebun. Cara ini lebih dikenal sebagai kultur jaringan.

Kultur jaringan merupakan salah satu cara memperbanyak tanaman secara vegetatif. Kultur jaringan

merupakan teknik memperbanyak tanaman dengan cara mengisolasi bagian tanaman se-perti daun, mata tunas, serta menumbuhkan bagian-bagian tersebut dalam media buatan secara aseptik yang kaya nutrisi dan zat pengatur tumbuh dalam wadah tertutup yang tembus cahaya sehingga bagian tanaman dapat memperbanyak diri dan bergenerasi menjadi tanaman lengkap. Prinsip utama dari teknik kultur jaringan adalah memperbanyak tanaman dengan menggunakan bagian vegetatif tanaman menggunakan media buatan yang dilakukan di tempat steril.

Metode kultur jaringan dikembangkan untuk membantu memperbanyak tanaman, khususnya untuk tanaman yang sulit dikembangbiakkan secara generatif. Bibit yang dihasilkan dari kultur jaringan mempunyai beberapa keunggulan, antara lain: mempunyai sifat yang identik dengan induknya, dapat diperbanyak dalam jumlah yang besar sehingga tidak terlalu membutuhkan tempat yang luas, mampu menghasilkan bibit dengan jumlah besar dalam waktu yang

singkat, kesehatan dan mutu bibit lebih terjamin, kecepatan tumbuh bibit lebih cepat dibandingkan dengan perbanyakan konvensional.

Tahapan yang dilakukan dalam perbanyakan tanaman dengan teknik kultur jaringan adalah:

- Penyiapan fasilitas laboratorium
- Penyiapan alat dan bahan
- Pembuatan media
- Inisiasi
- Sterilisasi
- Multiplikasi
- Pengakaran
- Aklimatisasi

Dalam pengembangan usaha kultur jaringan, fasilitas laboratorium mutlak diperlukan. Laboratorium dapat disediakan mulai dari laboratorium yang sederhana sesuai dengan kriteria yang ditentukan, yaitu dapat digunakan sebagai tempat kegiatan yang bersifat aseptik (bebas mikroba/ steril), terdapat sumber air dan mempunyai ruangan-ruangan yang diperlukan.

Sama dengan pengembangan bidang pertanian yang lainnya, kegiatan kultur jaringan memerlukan alat dan bahan. Alat-alat kultur jaringan yang minimal harus disediakan adalah *laminar air flow cabinet*, autoclave, *dissecting set*, dan *glass ware* (alat-alat gelas). Bahan-bahan yang diperlukan adalah bahan kimia untuk nutrisi tanaman, hormon-hormon pertumbuhan dan bahan-bahan untuk kegiatan sterilisasi.

Media merupakan faktor penentu dalam perbanyakan dengan kultur jaringan. Komposisi media yang digunakan tergantung dengan jenis tanaman yang akan diperbanyak. Media yang digunakan biasanya terdiri dari garam mineral, vitamin, dan hormon. Selain itu, diperlukan juga bahan tambahan seperti agar, gula, dan lain-lain. Zat pengatur tumbuh (hormon) yang ditambahkan juga bervariasi, baik jenisnya maupun jumlahnya, tergantung dengan tujuan dari kultur jaringan yang dilakukan. Media yang sudah jadi ditempatkan pada tabung reaksi atau botol-botol kaca. Media yang digunakan juga harus disterilkan dengan cara memanaskannya dengan autoklaf.

Inisiasi adalah pengambilan eksplan dari bagian tanaman yang akan dikulturkan. Bagian tanaman yang sering digunakan untuk kegiatan kultur jaringan adalah tunas.

Sterilisasi adalah bahwa segala kegiatan dalam kultur jaringan harus dilakukan di tempat yang steril, yaitu di *laminar flow* dan menggunakan alat-alat yang juga steril. Sterilisasi juga dilakukan terhadap peralatan, yaitu menggunakan etanol yang disemprotkan secara merata pada peralatan yang digunakan. Teknisi yang melakukan kultur jaringan juga harus steril.

Multiplikasi adalah kegiatan memperbanyak calon tanaman dengan menanam eksplan pada

media. Kegiatan ini dilakukan di *laminar flow* untuk menghindari adanya kontaminasi yang menyebabkan gagalnya pertumbuhan eksplan. Tabung reaksi yang telah ditanami eksplan diletakkan pada rak-rak dan ditempatkan di tempat yang steril dengan suhu kamar.

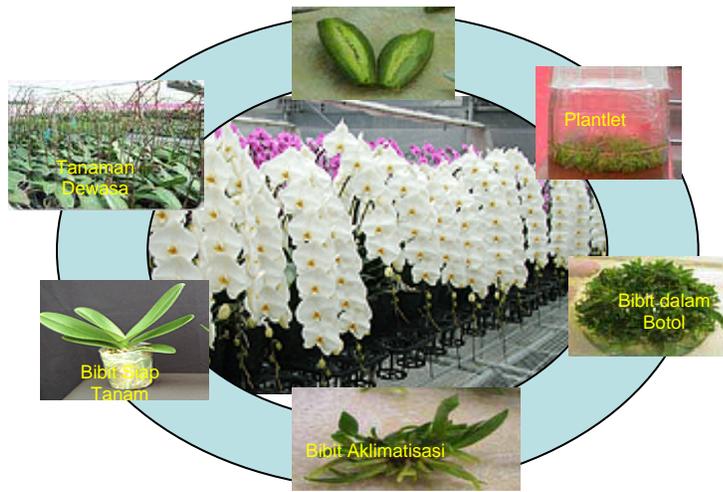
Pengakaran adalah fase di mana eksplan akan menunjukkan adanya pertumbuhan akar yang menandai bahwa proses kultur jaringan yang dilakukan mulai berjalan dengan baik. Pengamatan dilakukan setiap hari untuk melihat pertumbuhan dan perkembangan akar serta untuk melihat adanya kontaminasi oleh bakteri ataupun jamur. Eksplan yang terkontaminasi akan menunjukkan gejala seperti berwarna putih atau biru (disebabkan jamur) atau busuk (disebabkan bakteri).

Aklimatisasi adalah kegiatan memindahkan eksplan keluar dari ruangan aseptik ke bedeng. Pemindehan dilakukan secara hati-hati dan bertahap, yaitu dengan memberikan sungkup. Sungkup digunakan untuk melindungi bibit dari udara luar dan serangan hama penyakit karena bibit hasil kultur jaringan sangat rentan terhadap

serangan hama penyakit dan udara luar. Setelah bibit mampu beradaptasi dengan lingkungan barunya maka secara bertahap sungkup dilepaskan dan pemeliharaan bibit dilakukan dengan cara yang sama dengan pemeliharaan bibit generatif.

Keunggulan inilah yang menarik bagi produsen bibit untuk mulai mengembangkan usaha kultur jaringan ini. Saat ini sudah terdapat beberapa tanaman kehutanan yang dikembangkan dengan teknik kultur jaringan, antara lain adalah: jati, sengon, akasia, dll.

Bibit hasil kultur jaringan yang ditanam di beberapa areal menunjukkan pertumbuhan yang baik, bahkan jati hasil kultur jaringan yang sering disebut dengan jati emas dapat dipanen dalam jangka waktu yang relatif lebih pendek dibandingkan dengan tanaman jati yang berasal dari benih generatif, terlepas dari kualitas kayunya yang belum teruji di Indonesia.



Gambar 9.1.

Proses produksi benih dan tanaman anggrek dengan cara kultur jaringan

Hal ini sangat menguntungkan pengusaha karena akan memperoleh hasil yang lebih cepat. Selain itu, dengan adanya pertumbuhan tanaman yang lebih cepat maka lahan-lahan yang kosong dapat dipercepat dihijaukan kembali.

### **Keuntungan pemanfaatan kultur jaringan**

- Pengadaan bibit tidak tergantung musim
- Bibit dapat diproduksi dalam jumlah banyak dengan waktu yang relatif lebih cepat (dari satu mata tunas yang sudah respon dalam 1 tahun dapat dihasilkan minimal 10.000 planlet/bibit)
- Bibit yang dihasilkan seragam
- Bibit yang dihasilkan bebas penyakit (menggunakan organ tertentu)
- Biaya pengangkutan bibit relatif lebih murah dan mudah
- Dalam proses pembibitan bebas dari gangguan hama, penyakit, dan deraan lingkungan lainnya.

Kultur jaringan adalah serangkaian kegiatan yang dilakukan untuk membuat bagian tanaman (akar, tunas, jaringan tumbuh tanaman) tumbuh menjadi tanaman utuh (sempurna) dikondisi invitro (didalam gelas). Keuntungan dari kultur jaringan lebih hemat tempat, hemat waktu, dan tanaman yang diperbanyak dengan kultur jaringan mempunyai sifat sama atau seragam dengan induknya. Contoh tanaman yang sudah lazim diperbanyak secara kultur jaringan adalah tanaman anggrek.

Perkembangan kultur jaringan di Indonesia terasa sangat lambat, bahkan hampir dikatakan jalan di tempat jika dibandingkan dengan negara-negara lainnya, tidaklah heran jika impor bibit anggrek dalam bentuk 'flask' sempat membanjiri nursery-nursery anggrek di negara kita. Selain kesenjangan teknologi di lini akademisi, lembaga penelitian, publik dan pecinta anggrek, salah satu penyebab teknologi ini menjadi sangat lambat perkembangannya adalah karena adanya persepsi bahwa diperlukan investasi yang 'sangat mahal' untuk membangun sebuah lab kultur jaringan, dan hanya cocok atau 'feasible' untuk perusahaan.

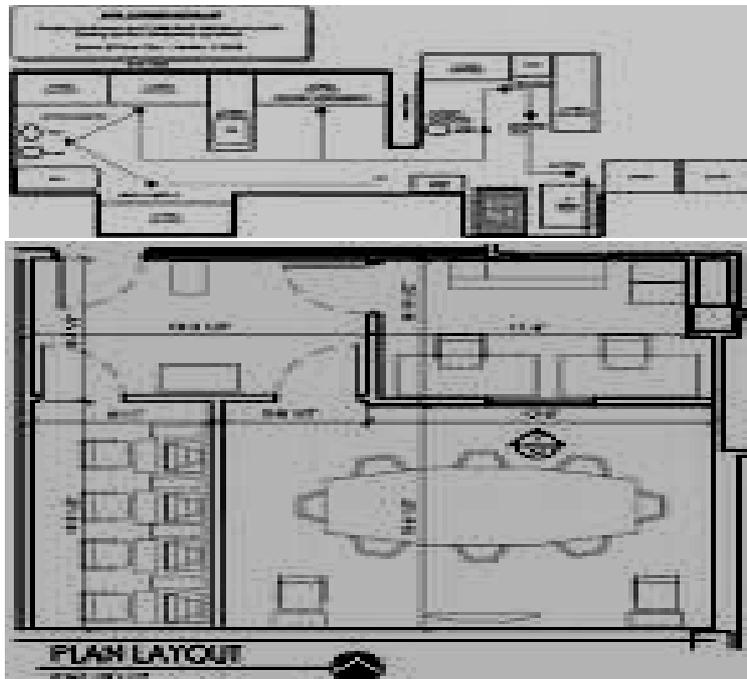
Indonesia memiliki keanekaragaman hayati yang luar biasa, salah satunya adalah anggrek, diperkirakan sekitar 5000 jenis anggrek spesies tersebar di hutan wilayah Indonesia. Potensi ini sangat berharga bagi pengembang dan pecinta anggrek di Indonesia, khususnya potensi genetik untuk menghasilkan anggrek silangan yang memiliki nilai komersial tinggi. Potensi tersebut akan menjadi tidak berarti manakala penebangan hutan dan eksploitasi besar-besaran terjadi hutan kita, belum lagi pencurian terangan ataupun "terselubung" dengan dalih kerjasama dan sumbangan penelitian baik oleh masyarakat kita maupun orang asing.

Sementara itu hanya sebagian kecil pihak yang mampu melakukan pengembangan dan pemanfaatan anggrek spesies, khususnya yang berkaitan dengan

teknologi kultur jaringan. Tidak dipungkiri bahwa metode terbaik hingga saat ini dalam pelestarian dan perbanyakan anggrek adalah dengan kultur jaringan, karena melalui kuljar banyak hal yang bisa dilakukan dibandingkan dengan metode konvensional.

Secara prinsip, lab kultur jaringan dapat disederhanakan dengan melakukan modifikasi peralatan dan bahan yang digunakan, sehingga sangat dimungkinkan kultur jaringan seperti 'home industri'. Hal ini dapat dilihat pada kelompok petani 'pengkultur biji anggrek' di Malang yang telah sedemikian banyak. Beberapa gambaran dan potensi yang bisa dimunculkan dalam kultur jaringan diantaranya adalah :

- **Kultur meristem**, dapat menghasilkan anggrek yang bebas virus, sehingga sangat tepat digunakan pada tanaman anggrek spesies langka yang telah terinfeksi oleh hama penyakit, termasuk virus.
- **Kultur anther**, bisa menghasilkan anggrek dengan genetik haploid ( $1n$ ), sehingga bentuknya lebih kecil jika dibandingkan dengan anggrek diploid ( $2n$ ). Dengan demikian sangat dimungkinkan untuk menghasilkan tanaman anggrek mini, selain itu dengan kultur anther berpeluang memunculkan sifat resesif unggul yang pada kondisi normal tidak akan muncul karena tertutup oleh yang dominan
- Dengan **teknik poliploid** dimungkinkan untuk mendapatkan tanaman anggrek 'giant' atau besar. Teknik ini salah satunya dengan memberikan induksi bahan kimia yang bersifat menghambat (cholchicine)
- **Kloning**, teknik ini memungkinkan untuk dihasilkan anggrek dengan jumlah banyak dan seragam, khususnya untuk jenis anggrek bunga potong. Sebagian penganggrek telah mampu melakukan teknik ini.
- **Mutasi**, secara alami mutasi sangat sulit terjadi. Beberapa literatur peluangnya 1:100 000 000. Dengan memberikan induksi tertentu melalui kultur jaringan hal tersebut lebih mudah untuk diatur. Tanaman yang mengalami mutasi permanen biasanya memiliki nilai ekonomis yang sangat tinggi
- **Bank plasma**, dengan meminimalkan pertumbuhan secara 'in-vitro' kita bisa mengoleksi tanaman anggrek langka tanpa harus memiliki lahan yang luas dan perawatan intensif. Baik untuk spesies langka Indonesia maupun dari luar negeri untuk menjaga keaslian genetik yang sangat penting dalam proses pemuliaan anggrek.



Gambar 9.2  
Contoh skema laboratorium kultur jaringan



Gambar 9.3  
Situasi bagian dalam laboratorium kultur jaringan dan rumah kaca sebagai fasilitas pendukung laboratorium kultur jaringan

## 9.1 Fasilitas Laboratorium Kultur Jaringan

### a. Persyaratan Lokasi

Laboratorium kultur jaringan hendaknya jauh dari sumber polusi, dekat dengan sumber tenaga listrik

dan air. Untuk menghemat tenaga listrik, ada baiknya bila laboratorium kultur jaringan ditempatkan di daerah tinggi, agar suhu ruangan tetap rendah.

### b. Kapasitas Labotarium

Ukuran laboratorium tergantung pada jumlah bibit yang akan diproduksi. Untuk ukuran laboratorium sekitar 250 m<sup>2</sup>, bibit yang dapat diproduksi tiap tahun sekitar 400–500.000 planlet/bibit, yang dapat memenuhi pertanaman seluas 500–800 ha. Dalam suatu laboratorium minimal terdapat 5 ruangan terpisah, yaitu gudang (ruang) untuk penyimpanan bahan, ruang pembuatan media, ruang tanam, ruang inkubasi (untuk pertunasan dan pembentukan plantlet/bibit tanaman) dan rumah kaca.

## 9.2 Peralatan dan Bahan Kimia

### a. Peralatan, bahan serta pemeliharaan alat.

Untuk memproduksi bibit melalui kultur jaringan peralatan minimal yang perlu disediakan adalah: laminar air flow, pinset, pisau, rak kultur, AC, hot plate + stirer, pH meter, oven, dan kulkas.

Pada gambar 9.4. terlihat adanya *air flow cabinet* yang berfungsi sebagai tempat inokulasi ekspan pada media tanam. Langkah kerja penggunaan air flow cabinet adalah sebagai berikut:

- Satu malam sebelum lat digunakan, nyalakan lampu UV untuk mensterilkan bagian dalam air flow cabinet, dan menimalkan kontaminasi yang disebabkan oleh mikroba.
- Pagi hari, lampu UV dimatikan (jangan lupa mematikan lampu UV,

apabila lampu UV menyala pada saat bekerja maka operator dalam kondisi berbahaya karena dapat terkontaminasi radiasi UV yang dapat mengakibatkan iritasi kulit dan selaput mata serta gangguan reproduksi.

- Setelah lampu UV dimatikan, bagian dalam laminar didesinfeksi dengan alkohol 70% dan laminar siap digunakan.

Bahan- bahan kimia yang dibutuhkan untuk kegiatan kultur jaringan adalah garam hara makrodan mikro, vitamin, zat pengatur tumbuh, asam amino, alkohol, clorox.



Gambar 9.4

Berbagai peralatan kultur jaringan: *Air flow cabinet*, saringan, autoclave, *Dissecting set* dan nutrisi tanaman dan Mikroskop (search jarum jam)



Gambar 9.5

Salah satu contoh pohon induk bunga krisan dengan keunggulan bunga lebih tahan dan warna bunga lebih beragam

Semua peralatan dan mesin-mesin yang digunakan dalam kultur jaringan harus selalu dipelihara secara rutin. Pemeliharaan alat dan mesin kultur jaringan pada prinsipnya sama dengan pemeliharaan tanaman yang terdapat pada BAB 3. Pada umumnya pemeliharaan alat terdiri dari perencanaan pemeliharaan, pelaksanaan pemeliharaan, monitoring pemeliharaan peralatan dan tindak lanjut pemeliharaan peralatan.

Contoh perencanaan pemeliharaan pada perabot gelas (*glassware*) selalu langsung dibersihkan sesegera mungkin setelah pemakaian. Pemeliharaan mesin-mesin besar seperti genset pada umumnya direncanakan setiap tiga –enem bulan sekali. Monitoring pemeliharaan harus dilakukan secara melekat sehingga semua operator alat mempunyai instruksi kerja alat yang bersangkutan dan umumnya sudah ada pada setiap pembelian alat. Monitoring pemeliharaan umumnya dilakukan secara periodik misalnya setiap bulan. Tindak lanjut dari pemeliharaan selalu dilakukan apabila terdapat alat dan

mesin pembenihan yang rusak dan harus diperbaiki. Untuk melaksanakan proses pemeliharaan alat dan mesin pembenihan biasanya diupayakan budget pemeliharaan 5-10% dari aset perusahaan.

#### b. Sumber eksplan.

Eksplan berupa mata tunas, diambil dari pohon induk yang fisiknya sehat. Tunas tersebut selanjutnya disterilkan dengan alkohol 70%, HgCl<sub>2</sub>, 0,2%, dan Clorox 30%.

### 9.3 Media Tanaman

Keberhasilan dalam penggunaan metode kultur jaringan, sangat bergantung pada media yang digunakan. Media kultur jaringan tanaman menyediakan tidak hanya unsur hara-unsur hara makro dan mikro, tetapi juga karbohidrat yang pada umumnya berupa gula untuk menggantikan karbon yang biasanya didapat dari atmosphere melalui fotosintesis. Hasil yang lebih baik akan dapat kita jangkau/peroleh, bila ke dalam media tersebut ditambahkan vitamin-vitamin, amino acid, dan zat pengatur tumbuh. Walaupun sudah diusahakan untuk menghindarkan penggunaan komponen-komponen yang tidak jelas (komponennya) seperti juice, yeast extracts dan casein hydrolysate, tetapi kadang-kadang kita bisa memperoleh hasil yang lebih tinggi dengan penambahan tersebut. Sebagai contoh, air kelapa masih sering digunakan di laboratorium-laboratorium

penelitian, sedangkan pisang masih merupakan komponen tambahan

yang sangat populer pada media anggrek.



Gambar 9.6 Siklus kultur jaringan

Media kultur tersusun dari beberapa atau seluruh komponen berikut:

- Hara makro yang digunakan pada semua media.
- Hara mikro hampir selalu digunakan. Ada beberapa komposisi media yang hanya menggunakan besi atau besi-kelat.
- Vitamin-vitamin, umumnya ditambahkan dalam jumlah yang bervariasi.
- Gula, merupakan keharusan, kecuali untuk tujuan yang sangat khusus.
- Asam amino dan N organik.
- Persenyawaan-persenyawaan kompleks alamiah seperti: air kelapa, ekstrak ragi (yeast extract), juice tomat, ekstrak kentang, dan sebagainya.
- Buffer, terutama buffer organik.
- Arang aktif. Sering dipergunakan untuk menstimulir pertumbuhan akar.
- Zat pengatur tumbuh: terutama auksin dan sitokinin. Zat pengatur tumbuh merupakan komponen yang sangat penting

dalam media kultur jaringan. Tetapi jenis dan konsentrasinya sangat tergantung pada jenis tanaman dan tujuan kulturnya.

- Bahan pematat. Untuk membuat media padat, biasanya digunakan agar.

#### a. Unsur Hara dalam Media

##### 1) Unsur makro dalam media kultur

Pada awalnya, unsur-unsur makro pada media kultur jaringan tanaman dibuat berdasarkan larutan untuk hidroponik. Unsur-unsur hara yang dibutuhkan tanaman di lapangan merupakan kebutuhan pokok yang disediakan dalam media. Unsur-unsur hara diberikan dalam bentuk garam-garam anorganik. Komposisi media dan perkembangannya didasarkan pada pendekatan masing-masing peneliti. Dalam periode tahun 1930-1940, formulasi media terutama ditujukan untuk menumbuhkan akar. Pada masa itu, diperoleh suatu hasil yang menyatakan bahwa larutan garam-garam makro

dengan konsentrasi rendah, lebih baik daripada media dengan konsentrasi tinggi. Penemuan ini banyak diterapkan untuk tujuan menginduksi pembentukan akar pada pucuk-pucuk yang diperoleh melalui kultur in vitro. Media yang paling sering digunakan untuk induksi adalah media White. Kultur kalus berhasil dikembangkan pada tahun 1937. Kultur kalus tersebut, juga ditumbuhkan pada media dengan konsentrasi garam-garam yang rendah seperti dalam kultur akar. Nobecourt misalnya, pada tahun 1937, menggunakan setengah konsentrasi dari larutan Knop yang biasa digunakan untuk hidroponik, untuk menumbuhkan kalus wortelnya (George & Sherrington, 1984). Percobaan yang sangat penting yang dilakukan oleh Hildebrant dan grupnya pada tahun 1946, telah membawa perbaikan media untuk kultur jaringan tumor tembakau dan bunga matahari. Media Hildebrant dikembangkan dari media White.

Dalam kultur jaringan tumor bunga matahari, ditemukan bahwa unsur makro yang dibutuhkan kultur tersebut, lebih tinggi dari pada yang dibutuhkan oleh kultur tembakau.



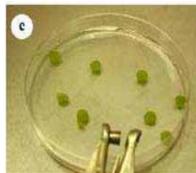
Tanaman sumber eksplan untuk kultur jaringan

Pemotongan daun dari tanaman yang ditumbuhkan secara in-vitro, dilakukan dalam laminar flow cabinet



Menyediakan potongan daun bahan transfeksi plasmid-bakteri dilakukan dalam laminar flow cabinet

Simpan satu malam (fase stasioner) kultur Agrobacterium tumefaciens



Serpihan daun dimasukkan dalam suspensi Agrobacterium tumefaciens



Lempengan daun bersatu dengan media callus (CIM= callus induction media) dalam kultur sel, dicirikan dengan adanya bakteri (berwarna putih) yang tumbuh pada sisi daun



Produksi kalus pada lempeng daun eksplan. Bagian berwarna hijau menunjukkan sel yang berhasil hidup dari agen penyeleksi



Terjadi rangsangan tumbuhnya batang pada daun eksplan, terjadi dalam kondisi adanya agen penyeleksi



Bagian batang yang terbentuk mulai memasuki media akar (RIM= root induction media



Akar mulai tumbuh pada media akar karena adanya agen seleksi



Terjadi pertumbuhan akar dan batang secara ekstensif pada individu tanaman baru



Tanaman sempurna hasil proses transgenik baru telah berkembang dalam tabung

Gambar 9.7.

Proses produksi tanaman transgenik

Level dari unsur P, Ca, Mg dan S pada media untuk tumor matahari ini, ternyata sama dengan media untuk jaringan normal yang dikembangkan kemudian. Konsentrasi  $\text{NO}_3$  dan  $\text{K}^+$  yang digunakan memang lebih tinggi dari media White, tetapi masih lebih rendah daripada media-media

lain yang umum digunakan sekarang.

Perbaikan yang paling penting adalah pengembangan komposisi unsur makro yang universal, yang mendukung pertumbuhan semua jaringan. Dalam media ini ditambahkan amonium, dan konsentrasi  $\text{NO}_3$  dan  $\text{K}^+$  ditingkatkan. Media ini tidak saja menunjang pertumbuhan kalus, tetapi juga mendukung pembentukan pucuk dan embriogenesis pada banyak jenis tanaman yang dikultur secara in vitro.

Tanaman lengkap di lapangan dapat tumbuh dengan baik dalam larutan yang hanya mengandung N dari Nitrat. Tapi pada tahun 1922, Knudson yang bekerja dengan anggrek menemukan bahwa penambahan 7.6 mM  $\text{NH}_4$  disamping 8.5 mM  $\text{NO}_3$  sangat baik untuk perkecambahan dan pertumbuhan biji anggrek. Banyak ahli kultur aringan berpendapat bahwa Morel mungkin tidak akan berhasil mengorbitkan metode kultur jaringan untuk tujuan komersial, bila  $\text{NH}_4^+$  tidak ditambahkan dalam mediana.  $\text{NH}_4$  ternyata dibutuhkan untuk perkembangan protocorm.

Nitsch dapat dikatakan sebagai orang pertama yang menggunakan  $\text{NO}_3$  dan  $\text{K}^+$  dengan kadar yang cukup tinggi didalam percobaannya pada kultur jaringan tanaman artichoke Jerusalem. Penambahan amonium khlorida sebanyak 0.1 nM menghasilkan pertumbuhan jaringan yang menurun. Hereka mengambil kesimpulan, bahwa  $\text{NH}_4^+$  tidak diperlukan dalam kultur jaringan.

Tetapi pada waktu yang bersamaan, Prof. Skoog dan grupnya menunjukkan bahwa  $\text{NH}_4$  sangat menunjang pertumbuhan kalus tembakau (Miller et al, 1956).

Wood & Braun (1961) yang meneliti pertumbuhan sel dari jaringan normal dibandingkan dengan jaringan tumor pada tanaman *Venca rosea* (*Catharanthus roseus*), mendapatkan bukti-bukti tentang keuntungan penambahan amonium kedalam media White yang sudah dimodifikasi. Konsentrasi  $\text{NO}_3$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{NH}_4^+$ , dan  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  yang diperoleh, hampir sama dengan yang dikembangkan oleh Miller.



Gambar 9.8

Sumber explant dari daun, potongan explant dicuci klorox, explant steril ditanam dalam wadah kultur, hasil kultur jaringan

## 1. Media MS.

Penelitian perbaikan komposisi media di laboratorium Skoog, dikulminasikan dalam publikasinya tentang kebutuhan garam anorganik yang mendukung pertumbuhan optimum pada kultur jaringan tembakau. Media baru yang sudah diperbaiki itu disebut media Murashige & Skoog yang biasa dituliskan sebagai media MS. Media MS mengandung 40 mM N dalam bentuk  $\text{NO}_3$  dan 29 mM dalam bentuk  $\text{NH}_4$ . Kandungan N ini,

lima kali lebih tinggi dari N total yang terdapat pada media Miller, 15 kali lebih tinggi dari media Hildebrandt, dan 19 kali lebih tinggi dari media White. Kalium juga ditingkatkan sampai 20 mM, sedangkan 1.25 mM unsur makro lainnya, juga dinaikkan sedikit.

Walaupun unsur-unsur makro dalam media MS dibuat untuk kultur kalus tembakau, tetapi komposisi MS ini pada umumnya juga mendukung kultur jaringan tanaman lain. Dibandingkan dengan media-media lain, media MS paling banyak digunakan untuk berbagai tujuan kultur. Pada tahun-tahun sesudah penemuan media MS, banyak dikembangkan media-media lain. Berdasarkan media MS tersebut, antara lain media:

- Lin & Staba, menggunakan setengah dan komposisi unsur makro MS, dengan modifikasi 9 mM amonium nitrat yang seharusnya 10 mM bila setengah dari komposisi MS. Sedangkan  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  yang digunakan 0.5 mM, tidak 0.625 mM sebagai setengah, dari MS. Larutan garam makro Lin & Staba, kemudian digunakan oleh Halperin dalam penelitian embrio-genesis dari kultur jaringan wortel. Media ini, juga digunakan oleh Bourgin & Nitsch (1967) serta Nitsch & Nitsch (1969) dalam penelitian kultur anther.
- Durzan et al (1973) membuat modifikasi media MS untuk kultur suspensi sel White spruce dengan cara mengurangi konsentrasi  $\text{K}^+$  dan  $\text{NO}_3^-$ , tetapi

konsentrasi  $\text{Ca}^{+2}$  nya ditingkatkan.

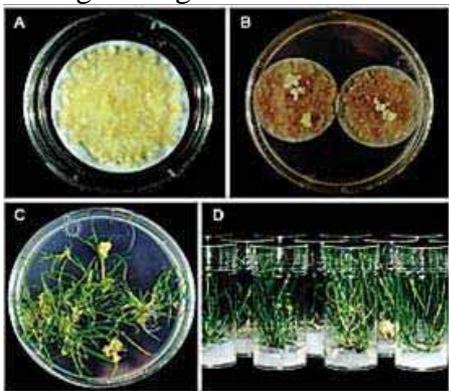
- Chaturvedi et al (1978) mengubah media MS untuk kultur pucuk *Bougainvillea glabra* dengan menurunkan konsentrasi  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{+2}$ ,  $\text{Mg}^{+2}$  dan  $\text{SO}_4^{-3}$

Meskipun unsur-unsur makro MS merupakan titik tolak pengembangan media-media lain, tetapi dalam kasus-kasus tertentu, pemakaian konsentrasi unsur-unsur makro yang lebih rendah dari pada konsentrasi yang terdapat pada media MS terbukti lebih baik. Telah ditunjukkan bahwa dalam media MS dapat terjadi pengendapan persenyawaan. Pengendapan ini tidak terlihat dalam media padat, tetapi terlihat jelas pada media cair. Kebanyakan dari persenyawaan yang mengendap adalah fosfat dan besi, kemudian dalam jumlah yang lebih sedikit adalah Ca, K, N, Zn dan Mn. Yang paling sedikit adalah C, Mg, K, Si, H, S, Ca dan Co. Setelah tujuh hari dibiarkan, maka kira-kira 50 % dari Fe dan 13% dari  $\text{PO}_4^+$  mengendap (Dalton et al, 1983). Pengendapan unsur-unsur tersebut mungkin tidak penting, karena unsur-unsur tersebut masih tersedia bagi jaringan tanaman dan pengaruh pengendapannya belum diketahui. Untuk mengatasi pengendapan Fe, Dalton dan grupnya menganjurkan supaya konsentrasi Fe dikurangi sampai 1/3 dengan EDTA yang tetap.

#### b) Media B5

Media B5 dikembangkan oleh Gamborg dan grupnya pada tahun

1968 untuk kultur suspensi kedelai. Pada masa ini media B5 juga digunakan untuk kultur-kultur lain. Media ini dikembangkan dari komposisi PRL-4, yang juga dikembangkan pada tahun 1968. Media ini menggunakan konsentrasi  $\text{HH}_4^+$  yang rendah, karena konsentrasi yang lebih dari 2mM menghambat pertumbuhan sel kedelai. Fosfat yang berikan adalah 1 mM,  $\text{Ca}^{+2}$  antara 1-4 mM, sedangkan  $\text{Mg}^{+2}$  antara 0.5-3.



Gambar 9.9  
Produksi benih vegetatif bawang (*Allium* sp.) secara kultur jaringan

## 2. Media SH

Media Schenk & Hildebrandt merupakan media yang juga cukup terkenal, diintroduksi untuk kultur kalus tanaman monokotil dan dikotil. Konsentrasi ion-ion dalam komposisi media SH sangat mirip dengan komposisi yang dibuat oleh Gamborg et al, dengan perbedaan kecil yaitu level  $\text{Ca}^{+2}$ ,  $\text{Mg}^{+2}$ , dan  $\text{PO}_4^{-3}$  yang lebih tinggi. Schenk & Hildebrandt mempelajari pertumbuhan jaringan dari 37 jenis tanaman dalam media mereka dan mendapatkan bahwa: 32% dari species yang dicobakan, tumbuh dengan sangat baik, 19% baik, 30% sedang, 14% kurang baik, dan 5% buruk

pertumbuhannya. Tetapi karena zat tumbuh yang diberikan pada tiap jenis tanaman tersebut berbeda, maka hasil yang dipublikasi pada tahun 1972 ini sebenarnya sukar dipahami. Namun demikian, media SH ini; cukup luas penggunaannya, terutama untuk legume.

## 3. Media WPM

Media ini yang mempunyai kepanjangan Woody Plant Medium dikembangkan oleh Lloyd & Mc Cown pada tahun 1981, merupakan media dengan konsentrasi ion yang rendah pada jaman sesudah penemuan media MS. Media ini konsisten dengan media untuk tanaman berkayu yang dikembangkan oleh ahli lain, tetapi sulfat yang digunakan lebih tinggi dari sulfat pada media tanaman berkayu lain. Saat ini WPM banyak digunakan untuk memperbanyak tanaman hias berbentuk perdu dan pohon-pohon.

### 2) Unsur mikro dalam kultur jaringan

Hara mikro: Fe, Mn, Zn, B, Cu, Co, dan Mo adalah komponen protein sel tanaman yang penting dalam proses metabolisme dan proses fisiologi lain. Pentingnya Fe untuk tanaman telah diketahui sejak akhir abad yang lalu, sedangkan unsur-unsur lainnya baru diketahui pada tahun antara 1914-1939. Dalam kultur jaringanpun demikian pula. Pada mulanya, unsur mikro juga diragukan. Pada tahun 1922, Knudson yang menambahkan Fe dan Mn dalam media untuk

perkecambahan anggrek, mendapatkan hasil yang sangat baik. Pada tahun antara 1934-1939, Barthelot, Gautheret, dan Nobecourt menganjurkan pemakaian Cu, Co, Ni, Ti dan Be dalam media kultur. Pada tahun 1946, Hildebrant dan kawan kawannya menentukan kebutuhan B, Mn, Zn dan Fe yang optimum, untuk pertumbuhan kalus tanaman tembakau dan bunga matahari. Mo diperkenalkan oleh Buerk Holder dan Nicks pada tahun 1949.

Percobaan Heller pada tahun 1953 merupakan percobaan yang jelas membuktikan pentingnya unsur Fe, B, Mn, Zn, dan Cu Dalam kultur wortel yang ditumbuhkan pada media Gautheret, Heller menemukan bahwa tanpa unsur-unsur Fe dan sebagainya, kultur akan mati setelah 3-5 kali disubkultur. Bila salah satu dari unsur makro N, P, K, Ca, Mg, dan S dihilangkan dari media, maka kultur akan mati setelah disubkultur sebanyak 1-2 kali. Hasil ini menunjukkan kepentingan relatif unsur makro dan unsur mikro.

Kultur akar juga dipergunakan untuk mempelajari keperluan hara mikro. Zn sangat diperlukan untuk pertumbuhan akar tomat yang normal (Eltinge & Reed, 1940 dalam George & Sherrington, 1984). Sedangkan tanpa Cu, pertumbuhan berhenti sama sekali seperti yang diulas Glasstone, 1947 (George & Sherrington, 1984).

Dalam kultur kotiledon selada tanpa Mn, maka jumlah pucuk yang dihasilkan berkurang. Mn dalam level yang tinggi dapat merupakan kompensasi untuk Mo

dalam kultur akar tomat. Mn dapat menggantikan fungsi Mg dalam beberapa sistim enzime tertentu seperti yang dibuktikan oleh Hewith pada tahun 1948.

Kekurangan Boron mengurangi laju pertumbuhan kultur sel tebu, bunga matahari, dan wortel. Sebaliknya konsentrasi lebih tinggi dari 2 mg/l, bersifat meracun terhadap kultur. Dalam beberapa species ternyata terdapat interaksi antara B dan auksin dalam pengaturan pengakaran pada percobaan stek.

Unsur Seng, Aluminium, dan Nikel, tidak banyak dipeajari efeknya terhadap pertumbuhan kultur. Untuk Seng, diketahui bahwa unsur ini dibutuhkan dalam sintesa tryptophan; sedangkan untuk Al dan Ni belum ada bukti-bukti yang cukup yang menyatakan bahwa unsur-unsur tersebut terlibat dalam metabolisme penting dalam sel.

Unsur Al dan Ni jarang ditambahkan dalam formulasi media, hanya Heller dan beberapa peneliti lain yang menambahkan. Tetapi penambahan Al dan Ni tidak mempunyai pengaruh apa-apa. Iodine juga merupakan unsur yang tidak diketahui kontribusinya dalam kultur jaringan tanaman, tetapi 65% dari komposisi media yang dikembangkan, menambahkan unsur ini.

Penambahan ini dilakukan setelah White menyatakan bahwa iodine dapat memperbaiki pertumbuhan akar tomat yang dikultur secara in vitro. Dalam media Euwens yang dikembangkan pada tahun 1976 untuk kelapa, iodine yang ditambahkan 0.05

mM; nilai ini 10 kali lebih tinggi dari level yang terdapat dalam komposisi MS.

## **b. Perkembangan Komposisi Vitamin**

Vitamin yang paling sering digunakan dalam media kultur jaringan tanaman, adalah thiamine (vitamin B1), nicotinic acid (niacin) dan pyridoxine (vitamin B6). Thiamine merupakan vitamin yang esensial dalam kultur tanaman. Penambahan nicotinic acid ke dalam jaringan media, banyak dilakukan setelah Bonner dan Devirian pada tahun 1939 menyatakan bahwa persenyawaan tersebut penting untuk kultur akar tomat, ercis dan lobak. Pada tahun yang sama peneliti Robbins dan Schmidt menemukan bahwa pyridoxin juga diperlukan dalam kultur akar tomat.

Myoinositol yang kadang-kadang juga disebut mesoinositol atau inositol, bukanlah vitamin dalam kebutuhan fisiologis hewan. Penambahan myoinositol kedalam media, memperbaiki pertumbuhan dan morfogenesis. Oleh karena itu sering dipandang sebagai golongan vitamin untuk tanaman. Menurut George dan Sherrington, kemungkinan, peranannya melalui keikutsertaannya dalam lintasan biosintesa asam-D-galakturonat yang menghasilkan vitamin C dan pektin. Dan juga ada kemungkinan inkorporasinya dalam fosfoinositida dan fosfatidil inositol yang berperan dalam pembelahan sel.

Keuntungan penambahan myoinositol pertama kali ditunjukkan oleh Jacoulot dalam kultur kambium tanaman elm, bila konsentrasi yang digunakan antara 20-1000 mg/ml. Myoinositol kemudian dipergunakan dalam komposisi Wood & Braun dan Hurashige & Skoog. Banyak peneliti menemukan bahwa myoinositol mempengaruhi morfogenesis kultur, misalnya dalam kultur *Haworthia* sp. Pembentukan pucuk dalam *Haworthia* sp. tergantung dari myo-inositol. Myoinositol ditemukan dalam air kelapa, dan dalam jumlah kecil didalam agar pasta. Pantothenic acid juga ditemukan mempunyai peranan penting dalam pertumbuhan beberapa jaringan tertentu, seperti *Salix* sp. Tetapi pantothenic acid tidak berdampak terhadap pertumbuhan jaringan wortel yang mungkin sudah disintesa dalam jumlah yang cukup dalam jaringannya. Vitamin E (tocopherol) merupakan anti-oksidan dalam jaringan manusia yang dapat merangsang sifat juvenil dalam fibroplast paru-paru. Penambahan dalam kultur jaringan tanaman pada konsentrasi 0.95 mM, merangsang pembentukan kalus friable dalam kultur embrio jagung. Dalam kultur suspensi sel clover dan kedelai, merangsang dispersi sel

## **c. Asam amino**

Asam amino merupakan sumber N organik. Sumber N yang berbeda ini memberikan pengaruh yang berbeda juga. Pada

kultur sel sycamore, ditemukan bahwa sel-sel menjadi panjang-panjang, tetapi sel yang ditumbuhkan dalam media dengan nitrat, tidak menunjukkan gejala yang demikian. Menurut Gamborg, dalam media dengan komposisi garam anorganik yang tepat, penambahan campuran asam amino seperti yang terdapat dalam casein hidrolisat tidak memberikan pengaruh yang nyata.

Dalam media B5 yang dikembangkan oleh Gamborg dan grdpnya untuk pertumbuhan sel akar kedelai; tidak diperlukan penambahan bahan organik lain. Beberapa asam amino memang dibuktikan mempunyai pengaruh positif terhadap pertumbuhan dan perkembangan kultur. L-cysteine misalnya, mempunyai pengaruh mengurangi browning pada kultur jaringan tebu, seperti yang dilaporkan.

L-asparagine digunakan oleh Green dan Phillips (1974) untuk merangsang regenerasi dalam kultur jaringan jagung. Penambahan asparagin dan alanin merangsang pembentukan pucuk dalam kultur *Torenia*.

Glycine merupakan asam amino yang ditambahkan sejak tahun 1939, setelah White menunjukkan bahwa dalam kultur tomat, penambahan Glycine lebih baik daripada ekstrak ragi. Glycine merupakan komposisi tetap dalam banyak formulasi media dan diberikan dengan konsentrasi 2 mg/l. Tapi Linsmaier dan Skoog pada tahun 1965 menemukan bahwa glycine tidak memperbaiki pertumbuhan kalus tembakau.

Lysine dan threonine merupakan asam amino yang harus digunakan secara hati-hati, karena dapat menghambat pertumbuhan walaupun pada konsentrasi yang rendah. Kedua asam amino tersebut mempunyai efek kooperasi dalam penghambatan. Sebaiknya tidak menambahkan keduanya bersamasama. Ada beberapa asam amino saling antagonis terhadap sesamanya, seperti phenyl-alanine dan tyrosine, L-leucine dan DL-valine, L-arginine dan L-lysine.

#### **d. Zat Pengatur Tumbuh**

Dalam kultur jaringan, dua golongan zat pengatur tumbuh yang sangat penting adalah sitokinin dan auksin. Zat pengatur tumbuh ini mempengaruhi pertumbuhan dan morfogenesis dalam kultur sel, jaringan, dan organ. Interaksi dan perimbangan antara zat pengatur tumbuh yang diberikan dalam media dan yang diproduksi oleh sel secara endogen, menentukan arah perkembangan suatu kultur. Penambahan auksin atau sitokinin eksogen, mengubah level zat pengatur tumbuh endogen sel. Level zat pengatur tumbuh endogen ini kemudian, merupakan triger factor untuk proses-proses yang tumbuh dan morfo-genesis. Selain auksin dan sitokinin, giberelin dan persenyawaan-persenyawaan lain juga ditambahkan dalam kasus-kasus tertentu.

##### 1) Auksin.

Auksin digunakan secara luas dalam kultur jaringan untuk pertumbuhan kalus, suspensi sel dan organ. Pemilihan jenis auksin dan konsentrasi, tergantung dari:

- tipe pertumbuhan yang dikehendaki
- level auksin endogen
- Kemampuan jaringan mensintesa auksin
- Golongan zat tumbuh lain yang ditambahkan.

Auksin alamiah adalah Indole Acetic Acid (IAA). Level auksin dalam eksplan tergantung dari bagian tanaman yang diambil dan jenis tanamannya. Selain itu juga dipengaruhi oleh musim dan umur tanaman. Dalam kultur in vitro ada sel-sel yang dapat tumbuh dan berkembang tanpa auksin seperti sel-sel tumor. Sel-sel ini disebut sel-sel yang habituated.

Jenis Hormon	Nama Produk	Nomor Produk	Fungsi dalam Kultur Jaringan
Auxins	Indole-3 -Acetic Acid	I 885	Pembentukan akar (konsentrasi tinggi)
	Indole-3-Butyric Acid	I538	Pembentukan batang (konsentrasi rendah)
	Indole-3-Butyric Acid, Salt	I530 N600	Induksi somatik embrio Pembelahan sel
	$\alpha$ -Naphthaleneacetic Acid	D299	Pembentukan dan pertumbuhan
	2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid	C213	Menghambat tunas tambahan (axillary)
	p-Chlorophenoxyacetic acid Picloram Dicamba	P717 D159	Menghambat perpanjangan akar
Cytokinins	6-Benzylaminopurine	B800	Meningkatkan pembentukan
	6- $\gamma,\gamma$ -Dimethylallylaminopurine (2iP)	D525 K750	Menghambat pembentukan akar Memacu pembelahan sel
	Kinetin	T888	Memacu dan pertumbuhan inisiasi
	Thidiazuron (TDZ)	C279	Merangsang pertumbuhan dan pemecahan tunas tambahan
	N-(2-chloro-4-pyridyl)-N' Phenylurea Zeatin Zeatin Riboside	Z125 Z899	Menghambat perpanjangan batang Menghambat penebaran daun
Gibberellins	Gibberellic Acid	G500	Merangsang perpanjangan batang Memecah dormansi, perkembangan benih, embrio dan tunas anikal Menghambat kecepatan pembentukan akar Paclobutrazol dan ancymidol menghambat sintesis gibberellin, dengan demikian dihasilkan batang yang
Abscisic Acid	Abscisic Acid	A102	Merangsang pembentukan tuber Merangsang pematangan embrio Memacu awal dormansi
Polyamines	Putrescine Spermidine	P733 S837	Memacu kecepatan pembentukan Memacu somatic embryogenesis Memacu pembentukan batang

Pengaruh auksin terhadap pertumbuhan jaringan tanaman diduga melalui dua cara:

- Menginduksi sekresi ion  $H^+$  keluar sel melalui dinding sel. Pengasaman dinding menyebabkan  $K^+$  diambil, dan pengambilan ini mengurangi potensial air dalam sel. Akibatnya air masuk ke dalam sel dan sel membesar
- mempengaruhi metabolisme RNA yang berarti metabolisme protein, mungkin melalui transkripsi. molekul RNA.

Auksin sintetis yang sering digunakan dalam kultur jaringan tanaman adalah:

- IAA, dengan berat molekul 175.19
- 2,4-dichlorophenoxy acetic acid (2,4-D), berat molekul 221.04
- Naphthalene acetic acid-naphthyl (NAA), berat molekul 186.21
- Indole butyric acid (IBA), berat molekul 203.24
- Naphthoxy acetic acid (NOA), berat molekul 202.21
- 4-Chlorophenoxy acetic acid (4-CPA), berat molekul 186.60
- 2,4,5-trichloro acetic acid, berat molekul 255.49
- 3,6-Dichloro anisic acid (Dicamba), berat molekul 221.04
- 4-Amino-3,5,6-trichloro picolinic acid (Picloram), berat molekul 241.46
- IAA conjugate: IAA-L-alanine  
IAA-Glycine

## 2) Sitokinin

Golongan sitokinin adalah turunan dari adenine. Golongan ini sangat penting dalam pengaturan pembelahan sel dan morfogenesis. Seperti juga auksin, sitokinin ada yang alamiah dan sintesis. Sitokinin yang pertama ditemukan, adalah kinetin yang diisolasi oleh Prof. Skoog dalam Laboratorium Botany di University of Wisconsin. Kinetin diperoleh dari DNA ikan herring yang diautoklaf dalam larutan yang asam. Persenyawaan dari DNA tersebut sewaktu ditambahkan ke dalam media untuk tembakau, ternyata merangsang pembelahan sel dan diferensiasi sel. Persenyawaan tersebut kemudian dinamakan kinetin. Sitokinin yang biasa digunakan dalam kultur jaringan :

- Kinetin, (6-furfuryl amino purine), berat molekul 215.25.
- Zeatin, (4-hydroxyl 73-methyl-trans-2-butenyl amino purine), berat molekul 219.25
- 2iP (N6-2-isopentanyl adenine, atau 6-(t,t-dimethylallyl amino purine), berat molekul 203.21.
- BAP/BA (6-benzyl amino purine/6-benzyl adenine), berat molekul 225.26
- PBA (SD 8339):
- 6(-benzylamino)-9-(2-tetrahydropyranyl)-9H-purine, berat molekul 309.37
- 2C 1-4 PU: N (2-chloro-4-pyridyl)-N-phenylurea, berat molekul 247.69
- 2,6-C1-4 PU: N (2,6-dichloro-4-pyridyl)-N- phenylurea, berat

- Thidiazurin (urea), berat molekul 220.25

### 3) Giberelin

Penggunaan giberelin dalam kultur jaringan, tanaman, kadang-kadang membantu morfogenesis. Tetapi dalam kultur kalus dimana pertumbuhan sudah cepat hanyadengan auksin dan sitokinin, maka penambahan giberelin sering menghambat. Pada umumnya giberelin terutama GA3 menghambat perakaran. Pengaruh positif giberelin ditemukan bit, gula, dimana GA3 merangsang pembentukan pucuk dari potongan inflorescence. Pertumbuhan kentang juga baik bila 0.01-0.10 mg/1 GA3 dikombinasikan dengan 0.5-5.0 mg/1 kinetin. Berat molekul GA3 346.38.

### 4) Zat Pengatur Tumbuh Yang Tidak Umum

Beberapa persenyawaan yang mempunyai sifat mengatur pertumbuhan dan perkembangan jaringan tanaman misalnya: glyphosate (N-phosphonomethyl glycine) dapat digunakan untuk merangsang pucuk dalam kalus alfalfa bila ditambahkan bersamasama auksin dan sitokinin. Dikegulac dapat digunakan untuk meningkatkan jumlah pucuk dalam kultur sweet chery.

### e. Persenyawaan Organik Kompleks

Disamping golongan persenyawaan organik yang konsti-

tusnya jelas, kadang-kadang dalam media kultur jaringan, juga ditambahkan persenyawaan yang kompleks, yang komposisinya dapat berbeda dari sumber yang satu dengan yang lainnya. persenyawaan kompleks yang dimaksud adalah: air kelapa, casein hydrolysate, ekstrak ragi, juice tomat, ekstrak kentang, dan ekstrak pisang.

Penggunaan air kelapa pertama kali dilaporkan oleh van Overbeek pada tahun 1941 dalam kultur embrio *Datura stramo-nium*. Pada tahun-tahun berikutnya. Gautheret menemukan bahwa air kelapa dapat digunakan untuk mempertahankan pertumbuhan jaringan yang diisolasi dari sumber yang berlainan. Pada tahun 1948, Caplin & Steward memperoleh pertumbuhan kalus yang lebih baik pada media dengan 5% air kelapa dan casein hydrolysate dari pada media dengan IAA. Penelitian yang lebih mendalam, menemukan bahwa efek air kelapa pada pertumbuhan menjadi lebih baik, bila dalam media juga diberikan auksin. Auksin tertentu dan air kelapa, dapat bersifat sinergis. Steward dan Caplin (1951) mendapatkan bahwa antara 2,4-D dan air kelapa terjadi reaksi sinergistik yang memacu pertumbuhan kalus *Daucus carota*. Tetapi tidak semua auksin dan air kelapa mempunyai kerja sama yang sinergis. Lin & Staba (1961) menemukan bahwa pada pertumbuhan kalus peppermint dan spearmint, penambahan air kelapa dalam media yang mengandung 2,4-D meningkatkan pertumbuhan kalus, sedangkan dengan 2-

benzothiazole-oxyacetic acid tidak.

Bahan-bahan yang terkandung dalam air kelapa, antara lain: asam amino, asam-asam organik, asam nukleat, purin, gula, gula alkohol, vitamin, mineral, dan zat pengatur tumbuh. Zat pengatur tumbuh yang ditemukan dalam air kelapa antara lain :

- 9-B-D ribofuranosyl zeatin ditemukan oleh Letham pada tahun 1968 (George & Sherrington 1984).
- Zeatin (Zwar & Bruce, 1970 dalam George & Sherrington, 1984).
- N-N-Diphenyl urea (Shantz & Steward, 1955 dalam George & Sherrington. 1984).
- (4) 2(3-methylbutyl-2-ethylamino) (Letham; 1982 dalam George & Sherrington, 1984).

#### 1) Casein hydrolysat

Dalam media yang tidak mengandung ion amonium, Penambahan asap amino dapat memperbaiki pertumbuhan can morfogenesis. Sumber asap amino campuran yang relatif murah adalah casein hydrolysat dan ekstrak ragi. Dalam kultur jagung, penambahan ekstrak ragi 800 mg/1 atau casein hydrolysat 200 mg/1 memperbaiki pertumbuhan kalus, walaupun dalam media sudah ada ion amonium seperti media Linsmaier & Skoog. Penambahan casein-hydrolysat dalam media regenerasi padi, meningkatkan jumlah pucuk yang terbentuk-dalam kalus padi. Dalam hal ini, penambahan asap amino yang

sama dengan asap amino dalam casein hydrolysat tidak menghasilkan pengaruh yang sama. Oleh karena itu mereka berpendapat bahwa ada persenyawaan lain yang penting dalam casein hydrolysat. Casein hydrolysat diberikan dalam konsentrasi 200-500 mg/1.

#### 2) Ekstrak ragi

Penggunaan bahan ini pada aural sejarah kultur jaringan dalam percobaan-percobaan pionir seperti yang dilakukan oleh Robbins dan White, telah memperbaiki pertumbuhan akar. Ekstrak ragi juga menyumbangkan asam amino, peptida, vitamin, untuk pertumbuhan kultur. Konsentrasi yang digunakan dalam kultur berkisar antara 0.5 gram/1 sampai 2 gram/1.

#### 3) Juice tomat, ekstrak pisang, dan ekstrak kentang.

Bahan-bahan ini pada umumnya merupakan sumber gula, vitamin, zat pengatur tumbuh, dan asam amino. Juice tomat dan ekstrak pisang, banyak digunakan untuk kultur embrio anggrek. Dalam perkembangan komposisi media, penambahan bahan-bahan yang undefined ini dihindarkan, karena bahan-bahan organik ini dapat berbeda bila varietas tanaman berbeda. Lingkungan tumbuh, nutrisi tanaman, dan sebagainya, mempengaruhi kandungan pesenyawaan tersebut. Hasil yang diperoleh di suatu saat; kadang-kadang tidak dapat diulangi lagi. Ekstrak kentang digunakan dalam

kultur anther padi. Penambahan ekstrak kentang kedalam media, dengan nyata meningkatkan pertumbuhan kalus dan regenerasi anther beberapa jenis padi. Ekstrak kentang biasanya digunakan antara 10-30% dengan hasil terbaik 20%. Tetapi tidak dijelaskan tentang jenis kentang yang dipergunakan.

#### f. Sumber Energi : Karbohidrat

Didalam kultur jaringan, bahan tanaman yang digunakan merupakan bagian kecil dari tanaman dan tidak merupakan suatu sistem yang lengkap. Dengan demikian, banyak bahan-bahan organik harus ditambahkan kedalam media untuk mendukung pertumbuhan yang optimal. Karbohidrat terutama gula, merupakan komponen yang selalu ada dalam media tumbuh, kecuali dalam media untuk tujuan yang sangat spesifik. Gula putih yang biasa digunakan untuk keperluan sehari-hari cukup memenuhi syarat untuk mendukung pertumbuhan kultur. Perkembangan pemilihan jenis karbohidrat dimulai tahun 1945 oleh Gautheret, ia membandingkan pengaruh berbagai jenis gula pada kultur jaringan wortel. Gautheret mendapatkan bahwa sukrosa adalah yang paling baik, lalu glukosa, maltosa dan rafinosa. Fruktosa dan galaktosa kurang efektif, sedangkan manosa dan laktosa merupakan karbohidrat yang paling tidak efektif. Pada umumnya urutan yang demikian berlaku untuk hampir semua tanaman. Namun ada saja pengecualian dalam semua kasus. Kultur pucuk mulberry yang tidak

dorman, tumbuh baik pada media dengan maltosa, glukosa, dan fruktosa. Sedangkan penambahan sukrosa, tidak merangsang pertumbuhan pucuk. Sukrosa dalam media dihidrolisa menjadi monosakarida selama masa kultur. Hidrolisa terjadi karena aktifitas enzim invertase yang terdapat pada dinding sel.

Hidrolisa sukrosa paling efektif dalam media dengan pH rendah. Konsentrasi optimum sukrosa tergantung dari jenis kultur. Dalam kultur kalus dan pucuk, konsentrasi antara 2-4% merupakan konsentrasi yang optimum. Namun dalam kultur embrio, konsentrasi gula dapat mencapai 12%. Pembelahan sel protonema *Ceratodon purpureus* dipengaruhi oleh

Selain sebagai sumber energi, gula juga berfungsi sebagai tekanan osmotik media. Sebahagian besar potensi osmotik dalam media White disebabkan oleh gula, sedangkan dalam media MS hanya seten ah dari potensial osmotiknya disebabkan oleh adanya gula. Pertumbuhan kalus *Nicotiana glutinosa* yang terbaik adalah bila potensial osmotik yang disebabkan adanya sukrosa dalam larutan: 2.2 atm. dengan garam-garam lain memberikan 2.7 atm. Kombinasi yang lain adalah: sukrosa: 0.9 atm, garam-garam 3.6 atm.

#### g. Bahan Pekat

Bahan pekat yang paling banyak digunakan agar. Keuntungan dari pemakaian agar adalah:

- agar membeku pada suhu  $< 45^{\circ}\text{C}$  dan mencair pada temperatur  $100^{\circ}\text{C}$ , sehingga dalam kisaran temperatur kultur agar akan berada dalam keadaan beku yang stabil
- tidak dicerna oleh enzim tanaman
- tidak bereaksi dengan persenyawaan penyusun media.

Agar adalah campuran polisakarida yang diperoleh dari beberapa species algae. Kekerasan media pada umumnya meningkat secara linier pada penambahan konsentrasi agar. Kekerasan media juga dipengaruhi oleh :

- Jenis agar yang dipakai.
- pH media

#### **h. Penambahan arang aktif**

Dalam kebanyakan komersil dan percobaan-percobaan yang tidak dimaksudkan untuk mempelajari metabolisme sel, penggunaan agar murni bukan suatu keharusan mengingat harga agar murni sangat tinggi. Bahan-bahan yang tidak diinginkan dari agar, dapat dimurnikan dengan jalan merendam agar, selama 24 jam dalam aquadest. Agar kemudian dibilas dengan ethanol dan dikeringkan dalam oven pada  $60^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam.

Konsentrasi agar yang diberikan berkisar antara 0.6- 1.0%. Konsentrasi agar yang terlalu tinggi dapat mengurangi difusi persenyawaan dari dan ke arah eksplan sehingga pengambilan hara dan zat tumbuh berkurang, sedangkan zat penghambat dari

eksplan tetap berkumpul di sekitar eksplan.

Selain agar, akhir-akhir ini dikembangkan suatu zat pematid lain yang juga merupakan polisakarida, tetapi yang diisolasi dari organisme mikro lain. Gelrite yang diproduksi oleh Kelco, merupakan polisakarida dari bakteri *Pseudomonas* sp.. Beberapa sifat gelrite yang berlainan dengan agar adalah bahwa :

- Gelrite membentuk gel yang lebih bening dari agar.
- Untuk mencapai kekerasan gel tertentu, pemakaian gelrite lebih rendah dari agar, pada umumnya hanya 2 gram per liter media.
- Namun kekerasan gel dari gelrite sangat dipengaruhi oleh kehadiran garam seperti NaCl, KCl,  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  dan  $\text{CaCl}_2$ . Garam NaCl dan KCl menurunkan kekerasan tetapi  $\text{MgCl}_2$  dan  $\text{CaCl}_2$  meningkatkan kekerasan gel.

Arang aktif adalah arang yang sudah dipanaskan beberapa jam dengan menggunakan uap atau udara panas. Bahan ini mempunyai adsorpsi yang sangat kuat. Arang aktif dapat ditambahkan kedalam media pada berbagai tahap perkembangan. Bahan ini dapat ditambahkan pada media inisiasi, media regenerasi, atau media perakaran.

Penambahan arang aktif dapat membantu pertumbuhan dan perkembangan kultur, tergantung dari jenis kulturnya. Secara umum, pengaruh arang aktif adalah sebagai berikut:

1) Menyerap senyawa toxin yang terdapat dalam media yang dapat menghambat pertumbuhan kultur terutama:

- Senyawa fenolik dari jaringan yang terluka waktu inisiasi.
- Persenyawaan 5-hidroksimetil furfural yang diduga terbentuk dari gula yang berada dalam larutan asam lemah dan mengalami pemanasan dengan tekanan tinggi (Kitsch et al, 1968).
- Menyerap zat pengatur-tumbuh sehingga:
- Mencegah pertumbuhan kalus yang tidak diinginkan, seperti dalam androgenesis dan pucuk yang ingin diakarkan.
- Membantu embrio-genesis kultur dalam media regenerasi, tanpa auksin, mungkin dengan bertindak sebagai sink yang menarik auksin dari dalam sel sehingga embriogenesis dapat terjadi
- Merangsang perakaran dengan mengurangi tingkat cahaya

Arang aktif ditambahkan dengan konsentrasi yang variasi dari 0.5–0.6 X, tergantung dari tujuan. Dalam media yang ditambahkan arang aktif, harus diusahakan agar arang aktif terbagi rata dalam media. Sesudah sterilisasi dalam autoclave, botol media harus sering dikocok agar mulai membeku.

#### **i. Derajat keasaman media**

Faktor penting lain yang juga perlu mendapat perhatian, adalah pH yang harus diatur sedemikian rupa sehingga tidak mengganggu fungsi membran sel dan pH dari sitoplasma. Pengaturan pH selain memperhatikan kepentingan fisiologi sel, juga harus mempertimbangkan faktor-faktor:

- Kelarutan dari garam-garam penyusun media
- Pengambilan (uptake) dari zat pengatur tumbuh dan garam-garam lain
- Efisiensi pembekuan agar.

Sel-sel tanaman membutuhkan pH yang sedikit asam berkisar antara 5.5–5.8. Tanaman Ericaceae seperti Rhododendron ditemukan tumbuh lebih baik dalam media 4.5. Pengaturan pH, biasa dilakukan dengan menggunakan NaOH (atau kadang-kadang KOH) atau HCl pada waktu semua komponen sudah dicampur, beberapa saat sebelum disterilkan dengan autoclave. Sekalipun media sudah ditepatkan, seringkali setelah sterilisasi pH-nya berubah. Pada umumnya terdapat penurunan pH setelah disterilkan dalam autoclave.

Untuk mencapai pH sekitar 5.7–5.9, Mann dan grupnya (dalam George dan Sherrington, 1984) membuat pH 7.0 dalam media yang belum disterilkan. Untuk menghindari perubahan pH yang cukup besar, Murashige dan Skoog menyarankan agar dilakukan pemanasan untuk melarutkan agar-agar dan memanaskan media didalam autoclave selama beberapa menit, baru diadakan menetapar, pH. Cara

lain yang dilakukan adalah penetapan pH setelah media disterilkan dalam autoclave. Dalam wadah yang besar, media disterilkan dan kemudian dititrasi dengan NaOH/HCl steril sampai pH yang diinginkan. Setelah itu media di-tuang ke dalam wadah kultur steril yang telah dipersiapkan di dalam laminar air flow cabinet; Cara ini juga digunakan pada penelitian yang menggunakan media dengan pH rendah untuk tujuan seleksi. Penambahan asam amino seringkali juga bersifat sebagai buffer organik. Penambahan  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  sendiri tidak efektif sebagai buffer. Banyak peneliti menyarankan untuk menambahkan  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  dan  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  dalam media, untuk tindak sebagai buffer.

#### 9.4 Beberapa Komposisi Media

Pada umumnya media kultur jaringan dibedakan menjadi media dasar dan media perlakuan. Resep media dasar adalah resep kombinasi zat yang mengandung hara esensial (makro dan mikro), sumber energi dan vitamin. Dalam teknik kultur jaringan dikenal puluhan macam media dasar. Penamaan resep media dasar umumnya diambil dari nama penemunya atau peneliti yang menggunakan pertama kali dalam kultur khusus dan memperoleh suatu hasil yang penting artinya.

Beberapa media dasar yang banyak digunakan antara lain:

- Media dasar Murashige dan Skoog (1962) yang digunakan untuk hampir semua

jenis kultur, terutama pada tanaman herbaceous.

- Media dasar B5 untuk kultur sel kedelai, alfafa, dan legume lain.
- Media dasar White (1934) yang sangat cocok kultur akar tanaman tomat
- Media dasar Vacin dan Went yang biasa digunakan untuk kultur jaringan anggrek.
- Media dasar Nitsch dan Nitsch yang biasa digunakan dalam kultur tepung sari (pollen) kultur sel.
- Media dasar Schenk dan Hildebrandt (1972) yang cocok untuk kultur jaringan tanaman-tanaman monokotil.
- Medium khusus tanaman berkayu atau Woody Plant Medium (WPM).
- Media N6 untuk serealia terutama padi

Dari sekian banyak media dasar yang paling sering dan banyak digunakan adalah komposisi media dari Murashige dan Skoog. Kadang-kadang untuk kultur tertentu, kombinasi zat kimia dari Murashige dan Skoog masih tetap digunakan tetapi konsentrasi yang diubah. sebagai contoh media 1/2 MS, berarti konsentrasi persenyawaan yang digunakan adalah setengah konsentrasi Media HS.

Larutan dibuat dalam bentuk larutan stok campuran. Biasanya larutan stok hara dibuat dalam beberapa macam dan diberi nama sebagai berikut :

- Larutan stok A untuk persenyawaan  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ .
- Larutan stok B untuk

- persenyawaan  $\text{KNO}_3$ .
- Larutan stok C untuk persenyawaan  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ .
- Larutan stok D untuk persenyawaan  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  dan  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ .
- Larutan stok E untuk persenyawaan  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  dan  $\text{Na}_2\text{EDTA}$
- Larutan Stok A, 1 liter (50 kali konsentrasi)

Menimbang persenyawaan  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  sebanyak 83.50 gram. Bahan yang telah ditimbang, dimasukkan ke dalam gelas piala bersih yang sudah berisi aquadest atau air bebas ion kira-kira 700 ml. Kemudian diaduk hingga larut merata. Larutan, kemudian dipindahkan ke dalam labu takar 1 liter yang telah dibilas dengan aquadest. Gelas piala dibilas dengan aquadest dan air bilasan dituang ke dalam labu takar (sebaiknya bilaslah dengan 50 ml aquadest 2-3 kali). Kemudian ditambahkan aquadest hingga volume' larutan tepat pada 1 liter. Larutan telah jadi, lalu dipindahkan ke dalam erlenmeyer/botol reagent ukuran 1 liter yang bersih, diberi label A dan ditutup rapat. Larutan stok A dapat disimpan pada suhu kamar. Untuk membuat 1 liter media, dibutuhkan 20 ml larutan stok A.

#### a. Pembuatan Media

Dewasa ini beberapa media kultur jaringan dapat dibeli dalam bentuk bubuk yang telah dipersiapkan. Tergantung dari jenisnya, ada yang hanya mengandung garam makro dan mikro serta vitamin, ada juga

yang lengkap sampai hormon dan gula. Formula ini memang memudahkan pekerjaan, tapi untuk suatu penelitian yang memerlukan perubahan komposisi dalam satu atau beberapa komponen, maka pemisahan komponen-komponen penyusun media perlu dilakukan.

Dalam pembuatan media, langkah pertama adalah membuat stok dari media terpilih. Penggunaan larutan stok menghemat pekerjaan menimbang bahan yang berulang-ulang setiap kali membuat media. Selain itu, juga kadang-kadang timbangan yang dibutuhkan untuk menimbang jumlah kecil tidak tersedia dalam laboratorium. Setiap larutan stok dapat dipergunakan untuk kira-kira 50 liter-media, bahkan larutan stok mikro dapat dipergunakan sampai 200 liter media. Larutan stok,, bila dapat disimpan ditempat yang bertemperatur rendah dan gelap.

Pembuatan larutan stok berdasarkan pengelompokan dalam stok makro, stok mikro, stok Fe, stok vitamin dan stok hormon terutama bila larutan stok tidak disimpan ter-lalu lama (segera digunakan habis). Stok hormon dapat disimpan antara 2-4 minggu, sedangkan stok hara dapat disimpan 4-8 minggu. Dengan adanya larutan stok, pembuatan media selanjutnya hanya dengan teknik pengenceran dan pencampuran saja.

Hal yang perlu diperhatikan dalam pembuatan larutan stok adalah penyimpanan (daya simpan) larutan. Larutan yang sudah mengalami pengendapan, tidak dapat digunakan lagi.

Pengendapan larutan stok umumnya terjadi bila kepekatan larutan terlalu tinggi. Oleh karena itu pengendapan larutan dapat dihindari dengan membuat larutan yang tidak terlalu pekat atau tidak menggunakan larutan campuran, yaitu dengan membuat satu larutan stok hanya untuk satu jenis bahan (terutama untuk unsur hara makro).

Kondisi simpan juga perlu diperhatikan, karena ada beberapa bahan yang tidak tahan dalam suhu tinggi atau cahaya. Larutan stok kadang-kadang ditumbuhi mikroba. Larutan stok yang terkontaminasi mikroorganisme ini, juga tidak dapat digunakan lagi. Oleh karena itu kondisi simpan harus dijaga kebersihan dan tempat (wadah) larutan harus diusahakan serapat mungkin.

#### **b. Stok hara makro**

Senyawa-senyawa sumber unsur hara makro diperlukan dalam jumlah yang cukup besar. Oleh karena itu sebaiknya dibuat dalam larutan stok tunggal. Jenis anion senyawa sumber unsur hara makro tidak sama, kemungkinan hal tersebut akan mempercepat pengendapan larutan.

Larutan Stok B, 1 liter. Timbang persenyawaan  $\text{KNO}_3$  sebanyak 95 gram, kemudian, dilarutkan dalam gelas piala 1 liter yang telah berisi 700 ml aquadest. Larutan diaduk hingga larut merata. Larutan dituang ke dalam labu takar 1 liter seperti pada proses pembuatan larutan stok A. Setelah volume larutan diterakan 1 liter, larutan dipindahkan ke dalam gelas erlenmeyer 1 liter,

diberi label "B", ditutup rapat dan disimpan dalam kondisi suhu kamar. Untuk membuat 1 liter media diperlukan 20 ml larutan stok B.

Stok C, 1 liter (100 kali konsentrasi): Timbang persenyawaan  $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  sebanyak 44 gram, kemudian dilarutkan dalam 700 ml aquadest dalam gelas piala 1 liter. Persenyawaan kalsium-klorida akan membebaskan kalor bila dilarutkan dalam air. Oleh karena itu sebelum ditempatkan volumenya, larutan dibiarkan mendingin dahulu hingga suhu kembali ke suhu kamar. Setelah suhu kembali ke suhu kamar, ulangilah proses seperti pembuatan larutan stok A dan B. Dalam 1 liter media MS, diperlukan 10 ml larutan stok C. Larutan stok C dapat disimpan dalam kondisi seperti larutan stok A dan B.

Stok D, 1 liter (100 kali konsentrasi): Timbang 37 gram persenyawaan  $\text{MgSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  dan 17 gram  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ . Larutkan secara terpisah easing-easing persenyawaan dalam 350 ml aquadest. Setelah larut, kedua persenyawaan dituangkan dalam satu labu takar 1 liter. Proses selanjutnya sama seperti pada pembuatan stok sebelumnya. Larutan stok D dapat disimpan dalam kondisi suhu kamar. Untuk membuat media MS 1 liter, dibutuhkan 10 ml larutan stok D

Larutan stok E, 1 liter (200 kali konsentrasi): Timbang 5.57 gram  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  dan 7.45 gram  $\text{Na}_2\text{EDTA}$ . Kedua bahan tersebut dilarutkan secara terpisah dalam kira-kira 350 ml aquadest, gunakan

gelas piala 1 liter. Larutan Na<sub>2</sub>EDTA dipanaskan hingga 40-60°C selama beberapa menit, kemudian tambahkan larutan FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O dan diaduk hingga tercampur merata. Biarkan hingga suhu kembali ke suhu kamar. Setelah mendingin, masukkan larutan campuran itu ke dalam labu takar, ulangi proses pembuatan stok terdahulu. Setelah volume tepat 1 liter, pindahkan ke dalam erlenmeyer/botol 1 liter yang bersih dan seluruh sisinya sudah tertutup aluminium foil. Larutan stok E dapat disimpan dalam kondisi suhu kamar, tetapi lebih baik disimpan dalam lemari es. Karena larutan Fe ini peka terhadap cahaya, maka perlu diselubungi aluminium foil pada erlenmeyer/botol penyimpanannya. Untuk membuat 1 liter media MS, diperlukan 5 ml larutan stok E.

### c. Stok hara mikro.

Unsur hara mikro sangat sedikit diperlukan dalam pembuatan media. Biasanya larutan hara makro dibuat dengan kepekatan 200 kali konsentrasi akhir media dan bahan yang diperiukan masih cukup kecil jumlahnya. Oleh karena itu larutan stok unsur hara mikro dapat dibuat sebagai stok campuran. Cara membuat larutan stok hara mikro dapat dirinci sebagai berikut:

Timbang bahan-bahan sumber hara mikro dengan menggunakan timbangan analitik dalam jumlah sebagai berikut:

Senyawa	
MnSO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O	3380.0 mg
ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	1720.0 mg
H <sub>3</sub> B <sub>3</sub>	1240.0 mg
KI	166.0 mg
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	50.0 mg
CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	5.0 mg
CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	5.0 mg

Masukkan bahan satu per satu kedalam gelas piala 1 liter yang telah berisi 700 ml aquadest. Setiap memasukkan bahan diikuti dengan pengadukan agar larut, baru disusul oleh bahan berikutnya. Setelah semua bahan larut, baru dimasukkan ke dalam labu takar 1 liter dan volume ditempatkan 1 liter dengan menambah aquadest.

Larutan yang telah jadi selanjutnya dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan diberi label F, ditutup rapat dan disimpan pada suhu kamar. Satu liter media MS hanya memerlukan 5 ml larutan stok F. Vitamin dan zat pengatur tumbuh, merupakan bahan-bahan kimia organik. Bahan-bahan organik, umumnya peka terhadap suhu tinggi dan cahaya. Selain itu zat organik dalam bentuk larutan mudah mengalami perubahan, sehingga:tidak awet. Oleh karena itu larutan stok vitamin dan zat pengatur tumbuh, harus disimpan di dalam lemari es dan sebaiknya dalam membuatnya tidak usah banyak-banyak agar cepat habis terpakai.

### d. Larutan stok vitamin.

Bila vitamin bukan merupakan vitamin yang sama, maka larutan stok vitamin dapat dibuat' sebagai stok campuran. Sebagai contoh

Nama	Berat
------	-------

akan dibuat media dasar yang memerlukan thiamine HCl 0.1 mg, nicotinic acid 0.5 mg, pyridoxine HCl 0.5 mg dan glycine 2.0 mg per liter media. Untuk membuat larutan stok, umumnya dibuat 1000 kali konsentrasi akhir, sebanyak 100 ml. Usahakan volume tidak melebihi 50 ml, hati-hati dalam membilas bahan yang dimasukkan ke labu. Labu takar kemudian dikocok hingga semua bahan larut merata. Setelah larut merata, kemudian volume labu ditepatkan sampai 100 ml dengan menambahkan aquadest. Larutan yang telah jadi, kemudian dipindahkan ke botol 100 ml, ditutup rapat, diberi label, lalu disimpan dalam lemari es. Satu liter media yang dibuat, hanya membutuhkan 1 ml larutan stok vitamin. Khusus myo-inositol, dibuat larutan stok tunggal dengan kepekatan 100 kali konsentrasi akhir media.

**e. Larutan stok zat pengatur tumbuh**

Zat pengatur tumbuh, umumnya hanya dibutuhkan dalam jumlah yang sedikit. Proses penimbangan zat pengatur tumbuh untuk larutan stok, sulit digeneralisasikan, karena biasanya zat pengatur tumbuh merupakan perlakuan dalam media kultur jaringan. Biasanya larutan stok zat pengatur tumbuh dibuat dengan kepekatan 1-10 mg/ml. Sebagai contoh, berikut ini diuraikan pembuatan larutan stok zat pengatur tumbuh dengan kepekatan 1 mg/ml sebanyak 100 ml.

**1) Larutan stok auksin**

Timbang bahan sebanyak 100 mg, kemudian dituangkan ke dalam gelas piala 100 ml yang berisi 70 ml aquadest, sambil diaduk-aduk teteskan sedikit larutan NaOH 1 N dengan hati-hati hingga bahan larut benar-benar. Setelah larut merata, kemudian dipindahkan ke dalam labu takar 100 ml, dan volume ditepatkan 100 ml dengan menambahkan aquadest. Larutan yang telah ditepatkan volumenya itu dipindahkan ke dalam erlenmeyer 100 ml, ditutup rapat dan diberi label untuk seterusnya disimpan dalam lemari es. Untuk membuat 1 liter media, kebutuhan larutan stok zat pengatur tumbuh bergantung kepada konsentrasi yang digunakan (perlakuan zat pengatur tumbuh). Bila perlakuan zat pengatur tumbuh (auksin) yang digunakan 1 ppm maka dibutuhkan 1 ml, bila 2 ppm diperlukan 2 dan seterusnya. Sebagai pengganti larutan NaOH, dapat digunakan bahan pelarut alkohol 40%, atau dengan pemanasan larutan awal (larutan sebelum diterakan dalam labu takar) selama beberapa menit hingga bahan benar-benar larut (menjadi jernih).

**2) Larutan stok sitokinin**

Seperti auksin, sitokinin sebaiknya dibuat stok. dalam jumlah sedikit (100 ml). Umumnya kepekatan yang digunakan hampir sama dengan auksin, yaitu 1-10 mg/ml. Berikut ini diuraikan pembuatan larutan stok kinetin 1 mg/ml sebanyak 100 ml.

Timbang kinetin 100 mg dan tuang ke dalam gelas piala 100 ml yang berisi 70 ml aquadest. Sambil diaduk-aduk, ditetesi dengan larutan HCl 1 N dan dipanaskan sebentar hingga bahan benar-benar larut (menjadi jernih). Setelah larut dan dingin, larutan dipindahkan ke dalam labu takar 100 ml untuk ditepatkan volumenya pada 100 ml, dengan menambahkan aquadest. Larutan yang telah jadi dipindahkan ke dalam botol simpan 100 ml, ditutup rapat, diberi label dan disimpan dalam lemari es. Bila 1 ml larutan stok ini ditambahkan dalam pembuatan 1 liter media akan memberi perlakuan kinetin 1 ppm.

Ketentuan pembuatan larutan stok auksin dan sitonin ini dapat berlaku umum untuk golongan zat pengatur tumbuh yang lain. Zat pengatur tumbuh yang bereaksi asam seperti auksin dan giberelin, dapat dilarutkan dengan bantuan menambahkan larutan NaOH (basa), atau menggunakan bahan pelarut alkohol 40%, atau dengan pemanasan. Sedangkan zat pengatur tumbuh yang bereaksi basa seperti golongan sitokinin, dapat dibantu pelarutannya dengan menambahkan rupa tetes larutan HCl 1 N, atau dengan pemanasan.

Hal-hal yang perlu diperhatikan pada larutan stok:

- Larutan stok unsur hara, sebaiknya tidak disimpan lebih dari dua bulan sebelum dipergunakan. Stok vitamin dan zat pengatur tumbuh, sebaiknya digunakan segar (kurang dari 2 minggu). Oleh karena itu sebelum membuat

larutan stok, harus ditentukan dahulu kebutuhan media, jadwal pembuatan media, dan semua sarana pembuatan media harus benar-benar sudah siap.

- Larutan stok yang telah mengalami pengendapan dan yang sudah ditumbuhi mikroorganisme, tidak boleh digunakan lagi (dibuang).
- Semua alat-alat gelas (alat ukur, takar, wadah) sebelum dipergunakan untuk membuat larutan, harus dibilas dulu dengan aquadest.
- Setelah selesai digunakan atau sebelum digunakan lagi, harus pula segera dibilas dengan aquadest. Bila tidak digunakan lagi, tempatkanlah pada rak penyimpanan secara terbalik supaya kering dan bagian dalamnya tidak berdebu.

Cara membuat media dengan larutan stok, dilakukan dengan metode pengenceran. Untuk itu perlu diketahui benar-benar volume kebutuhan larutan stok masing-masing. sebagai contoh, akan dibuat 1 liter media MS dengan perlakuan 1 ppm NAA dan 2 ppm kinetin. Media yang dibuat adalah media padat dengan 0.8% agar dan mengandung 3% gula sukrosa).

## 9.5 Inisiasi tunas

Inisiasi adalah proses memulai suatu kegiatan kultur jaringan. Inisiasi dapat dilakukan melalui akar, daun, dan jaringan meristemlainnya. Kalus dapat diinisiasi dari hampir semua bagian tanaman, tetapi organ yang berbeda

menunjukkan kecepatan pembelahan sel yang berbeda pula. Jenis tanaman yang menghasilkan kalus, meliputi dikotil berdaun lebar, monokotil gymnospermae, pakis, dan juga moss. Bagian tanaman seperti embrio muda, hipokotil, kotiledon, dan batang muda, merupakan bagian yang mudah untuk dediferensiasi dan menghasilkan kalus.

Eksplan yang telah disterilkan dikulturkan dalam media kultur (MS+BAP). Setelah terbentuk tunas, tunas tersebut disubkultur dalam media multiplikasi (MS+BAP) dan beberapa komponen organik lainnya. Suatu contoh prosedur dalam inisiasi kultur kalus, dapat diperoleh dengan menumbuhkan potongan wortel dekat lingkaran kambium, di dalam media MS. Tahapannya adalah sebagai berikut.

Tahap awal adalah proses persiapan eksplan. Wortel yang segar dan yang kotor cuci wortel dengan detergent, kupas kulit luarnya, lalu iris dalam potongan kecil. Sterilkan dalam alkohol 70% selama 1 menit. Bilas dengan aquadest steril. Rendam dalam larutan clorox 20X, selama 10 menit. Bilas lagi 3 kali dalam aquadest. Bagian ujung eksplan yang keluar dari larutan sterilisasi, dipotong ambil bagian kambium dan tanam di dalam larutan 77:2 media ES dengan hormon 2,4-D.

Mempersiapkan media dan lingkungan kultur, gunakan media MS yang diberi tambahan 2,4-D 1 mg/l; sukrosa 30 gr/l, agar 8 gr/l. Setelah dipanaskan untuk melarutkan agar, media dimasukkan ke dalam botol 75 ml masing-masing 15 ml, lalu ditutup dengan aluminium foil. Setelah

diautoclave, media disimpan dulu selama 3 hari dalam keadaan gelap. Untuk media yang tidak terkontaminasi dipergunakan untuk inisiasi kultur.

Tiga eksplan ditanam dalam satu botol media. Ketiga eksplan ini dianggap sebagai satu unit percobaan. Kultur diberi label yang berisi keterangan tentang jenis tanaman, bagian yang diambil, kode media, dan tanggal tanam.

Kultur diletakkan pada rak terbuka di dalam ruang kultur dengan temperatur rata-rata 25°C dalam diffuse light. Periksa kultur setelah satu minggu, untuk melihat perkembangan kultur.

Setelah 4 minggu, kalus yang friable dapat disubkultur pada media baru. Untuk melihat sel, dapat dipergunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 1000 kali, setelah sel itu diberi larutan toluidine blue (0.05% w/v). Lakukan pengamatan pertumbuhan kalus. Untuk itu parameter pertumbuhan yang digunakan untuk pengaruh media, eksplan, dan faktor-faktor lain, adalah berat basah kalus, berat kering kalus, dan diameter kalus

## 9.6 Kultur Suspensi Sel

Kalus yang diperoleh dari kultur kalus, dapat dipindahkan ke media cair untuk inisiasi kultur suspensi sel, atau dipindahkan ke media lain untuk diregenerasi menjadi tanaman. Regenerasi tanaman dapat melalui organogenesis atau embriogenesis. Dalam organogenesis, kalus dapat membentuk akar atau tunas, atau keduanya. Dalam kultur kalus yang hanya membentuk akar, seringkali dijumpai

kesulitan untuk memperoleh pucuk dari akar tersebut.



Gambar 9.10  
Pengamatan pertumbuhan kalus

Tetapi bila regenerasi terjadi melalui pembentukan tunas terlebih dahulu, maka kemungkinan induksi akar lebih mudah. Sedangkan dalam embriogenesis, pembentukan pucuk dan akar sudah terintegrasi dalam satu sumber, dan merupakan suatu sistem tertutup (closed system) yang tidak berhubungan dengari jaringan asalnya. Kultur suspensi sel merupakan suatu sistem yang sesuai untuk mempelajari metabolisme sel, pengaruh berbagai persenyawaan pada sel, serta diferensiasi sel.

Sedangkan dalam segi praktisnya, kultur suspensi sel dipergunakan sebagai sumber:

- Sel-sel untuk protoplasma
- Sel-sel yang akan diberi perlakuan mutagen kimia
- Sel untuk studi hubungan host-patogen adalah fitopatologi
- Massa untuk produksi bahan-bahan sekunder
- Sel-sel untuk media seleksi.

Inisiasi kultur dari kalus, merupakan cara yang paling sederhana dan banyak dilakukan. Kalus yang segar kira-kira 200 - 250 mg dapat dipindahkan ke 40 ml media cair dalam botol erlenmeyer 125 ml. Kultur kemudian diletakkan pada shaker dan dikocok dengan kecepatan 90-100 rpm secara terus menerus. Penambahan auksin dalam suspensi menghasilkan kultur sel yang terpisah

(dispersed). Kultur suspensi dikocok supaya:

- Pemecahan gumpalan se1 menjadi agregat kecil dan sel tunggal,
- Distribusi sel yang merata dalam media,
- Pertukaran gas antara media dan udara.

Dalam suspensi sel dikenal dua kelompok kultur, yaitu: kultur batch dan, continuous. Kultur sel batch adalah kultur dalam media hara dengan volume tetap, tetapi dengan konsentrasi hara yang berubah sesuai dengan tingkat pertumbuhan sel. Sebagai contoh: misalnya kultur berisi 20-75 ml media. Selama masa inkubasi, terjadi penambahan biomass yang mengikuti pola sigmoid. Setelah mencapai suatu masa tertentu, sel berhenti membelah karena kehabisan hara dan akumulasi metabolik yang toxic. Setelah mencapai fase ini, kultur batch harus diperbarui/diperbanyak.

Perbanyakan dilakukan dengan memindahkan sejumlah kecil sel dan disubkultur pada media baru. Kultur continuous merupakan kultur sel jangka panjang dengan suplai hara yang konstan dalam wadah yang besar. Dalam kultur ini terdapat sistem untuk sirkulasi mengeluarkan media lama dan ditambah dengan media yang baru. Dalam kultur sel continuous terdapat dua tipe, yaitu tipe tertutup (closed type) dan tipe terbuka (open type)

Dalam tipe tertutup, sel bertambah terus tanpa dipanen, hanya media yang disirkulasi. Sedangkan pada tipe terbuka, penambahan media baru disertai juga dengan panen sel. Tipe kultur continuous yang terbuka dapat menggunakan chemostat atau turbidostat. Chemostat menggunakan standard konsentrasi bahan-bahan kimia tertentu yang mengatur laju pertumbuhan, misalnya kadar N, P, atau glukosa. Persenyawaan N, P, atau glukosa, diatur sedemikian rupa pada suatu level yang tetap untuk mengatur populasi sel yang tertentu.

Pada tipe kultur continuous dengan turbidostat, diatur jumlah tertentu, yang diukur dengan turbiditas. Kerapatan biomass yang melebihi turbiditas yang sudah ditentukan, akan dikeluarkan. Kultur suspensi sel dapat diinisiasi dari kalus.



Gambar 9.11  
Multiplikasi tanaman

### 9.7 Multiplikasi.

Multiplikasi dilakukan secara berulang sampai diperoleh jumlah tanaman yang dikehendaki, sesuai dengan kapasitas laboratorium. Setiap siklus multiplikasi berlangsung selama 2–3 bulan. Untuk biakan (tunas) yang telah responsif stater cultur, dalam periode tersebut dari 1 tunas dapat dihasilkan 10-20 tunas baru. Setelah tunas mencapai jumlah yang diinginkan, biakan dipindahkan (dikulturkan) pada media perakaran.

Kalus adalah suatu kumpulan sel amorphous yang terjadi dari sel-sel jaringan yang membelah diri secara terus menerus. Dalam keadaan *in vivo*, kalus pada umumnya terbentuk pada bekas-bekas luka akibat serangan infeksi mikro organisme: *Agrobacterium tumefaciens*, gigitan atau tusukan serangga dan nematoda. Kalus juga dapat terbentuk sebagai akibat stress.

Dalam hal kalus sebagai akibat serangan bakteri *Agrobacterium tumefaciens*, sering disebut sebagai tumor. Kultur kalus bertujuan untuk memperoleh kalus dari eksplan yang diisolasi dan ditumbuhkan dalam lingkungan terkendali.



Gambar 9. 12  
Produksi tanaman kultur jaringan secara komersial

Kalus diharapkan memperbanyak dirinya secara terus menerus. Sel-sel penyusun kalus adalah sel-sel parenkhima

yang mempunyai ikatan yang renggang dengan sel-sel lain. Dalam kuitur *in vitro*, kalus dapat dihasilkan dari potongan organ yang telah didalam media yang mengandung auksin dan kadang-kadang juga sitokinin. Bila eksplan yang digunakan mengandung kambium, maka kalus dapat terbentuk tanpa perlakuan zat pengatur tumbuh. Pembentukan kalus pada eksplan yang ada nkambium ini, serupa dengan kejadian pencangkakan dan penyetakan.

Berdasarkan kebutuhan akan zat pengatur tumbuh untuk membentuk kalus, jaringan tanaman digolongkan dalam 4 grup:

- Jaringan tanaman yang membutuhkan hanya auksin selain gula dan garam-garam mineral untuk dapat membentuk kalus seperti: umbi artichoke.
- Jaringan yang memerlukan auksin dan sitokinin selain gula dan garam-garam mineral seperti: empulur tembakau.
- Jaringan yang tidak perlu auksin dan sitokinin, hanya gula dan garam-garam mineral seperti: jaringan kambium.
- Jaringan yang memerlukan hanya sitokinin, gula, dan garam-garam mineral seperti parenkhima xylem dari akar turnip.

Pada umumnya, kemampuan pembentukan, kalus dari jaringan tergantung juga dari:

- Umur fisiologi dari jaringan waktu diisolasi.
- Musim pada waktu bahan tanaman diisolasi.

- Bagian tanaman yang dipakai.
- Jenis tanaman.

Kalus dapat diinisiasi dari hampir semua bagian tanaman, tetapi organ yang berbeda menunjukkan kecepatan pembelahan sel yang berbeda pula. Jenis tanaman yang menghasilkan kalus, meliputi dikotil berdaun lebar, monokotil gymnospermae, pakis, dan juga moss. Bagian tanaman seperti embrio muda, hipokotil, kotiledon, dan batang muda, merupakan bagian yang mudah untuk dediferensiasi dan menghasilkan kalus.

Suatu sifat yang diamati dalam jaringan yang membentuk kalus, adalah bahwa pembelahan sel tidak terjadi pada semua sel dalam jaringan asal, tetapi hanya sel di lapisan periphery yang membelan terus menerus, sedangkan sel-sel di tengah tetap quiescent. Inisiasi pembelahan sel yang hanya terbatas di lapisan luar dari jaringan, kemungkinan disebabkan oleh faktor-faktor: ketersediaan oksigen yang lebih tinggi, keluarnya gas CO<sub>2</sub>. Ketersediaan hara yang lebih banyak, penghambat yang bersifat folatik lebih cepat menguap, dan cahaya.

Dalam mempelajari proses pembentukan kalus sebagai akibat perlukaan, Fosket & Roberts (1965 dalam Yeoman, 1970), mengamati empat lapisan sel yang berbeda dalam wortel yang dikultur pada berbagai media. Lapisan-lapisan sel yang berbeda terlihat jelas tiga hari setelah kuitur terdiri dari Lapisan luar dengan sel-sel yang pecah. Lapisan kedua terdiri dari

dua lapisan dorman. Lapisan dengan sel yang aktif membelah, terdiri dari 1-6 lapis. Lapisan tengah (core) yang selnya tidak membelah. Inisiasi kalus dalam jaringan wortel ini, dilakukan dengan aktifitas enzim-enzim NAD-diaphorase dehydrogenase dan cytochrome oxidase. Kenaikan aktifitas enzim terutama dalam lapisan sel yang sedang membelah. Fenomena yang sama dalam jaringan umbi artichoke yang ditumbuhkan dalam media dengan air. Keempat lapisan yang ditemukan Forket dan Roberts, juga ditemukan dalam kultur artichoke.

Beberapa jaringan yang telah dicoba dan menghasilkan sel yang cukup seragam antara lain: sel parenkhima phloem dari wortel dan parenkhima sel penyimpan (storage cell) dari umbi artichoke jerusalem. Eksplan batang, akar, dan daun, menghasilkan kalus yang heterogenous dengan berbagai macam sel. Kadang-kadang jaringan yang kelihatan seragam histologinya seperti pembuluh tembakau, ternyata menghasilkan kalus dengan sel yang mempunyai DNA yang berbeda yang mencerminkan level ploidi yang berbeda. Kalus yang robek mau akan campuran sel dengan tingkat ploidi yang berbeda. Sel-sel yang heterogen dari jaringan yang kompleks menunjukkan pertumbuhan yang berbeda. Dengan mengubah komposisi media, terjadi seleksi sel-sel yang mempunyai sifat khusus. Hal ini berarti bahwa media tumbuh menentukan komposisi kalus. Sel yang jumlahnya paling banyak

merupakan sel yang paling cepat membelah, paling sedikit adalah sel yang paling lambat membelahnya. Media seleksi dapat berdasarkan unsur-unsur hara, atau zat pengatur tumbuh yang ditambahkan ke dalam media.

Sel-sel yang heterogen selain berasal dari asalnya, dapat juga terjadi akibat masa kultur jaringan melalui subkultur yang berkali-kali. Perubahan terjadi, dapat merupakan:

- berasi khromosom;
- mutasi gen;
- endoreduplikasi yang menghasilkan polipicidi;
- transposisi urutan DNA (DNA sequences transposition);
- amplifikasi gen: jumlah gen untuk suatu sifat tertentu per genome haploid bertambah;
- hilangnya suatu gen (deletion).

Kecepatan perubahan dalam khromosom tergantung juga dari macam media yang digunakan, serta jenis tanamannya. Ketidak-stabilan khromosom ini menyulitkan aplikasi kultur kalus untuk parbanyakan, maupun untuk produksi bahan-bahan/persenyawaan sekunder. Sebaliknya, ketidak-stabilan tersebut dapat dipergunakan dalam seleksi dan pemuliaan in vitro, untuk memperoleh sifat-sifat baru yang menguntungkan seperti: resistensi terhadap penyakit, hilangnya suatu morfologi yang memang tidak diinginkan seperti duri, atau warner pada bunga. Ciri dari tumor adalah:

- terjadinya penyakit ini (Crown gall disease) melalui luka,
- jaringan tumor yang terjadi dapat tumbuh terus, walaupun

penyebabnya bakteri *Agrobacterium tumefaciens* telah dihilangkan. Hal ini dibuktikan pada percobaan penyambungan bagian yang terserang, pada tanaman sehat,

- tumor ini bila tumbuh pada media buatan, tidak memerlukan auksin maupun sitokinin, Ketidak-tergantungan jaringan tanaman untuk tumbuh dan terus membelah, disebut habituation.

Kalus yang ditumbuhkan pada suatu media, perlu dipindahkan secara teratur dalam jangka waktu tertentu. Masa kultur yang panjang dalam media yang tetap, akan menyebabkan terjadinya kehabisan hara dan air. Kehabisan air dapat terjadi karena selain terhisap untuk pertumbuhan, juga karena media menguapkan air dari masa ke masa. Selain kehabisan hara, dalam kalus, juga mengeluarkan senyawa hasil metabolisme yang menghambat pertumbuhan kalus itu sendiri. Oleh karena itu, untuk menjaga kehidupan dan perbanyak yang sinambung kalus yang dihasilkan perlu disubkultur.

Pada subkultur, massa sel yang dipindahkan harus cukup banyak, agar ada pertumbuhan yang cepat dalam media baru menggunakan inokulum yang mempunyai diameter 5-10 mm atau sekitar 20-100 mg. Subkultur sebaiknya dilakukan 28 hari sekali. Namun waktu yang tepat untuk memindahkan kultur, tergantung dari kecepatan pertumbuhan kalus.

Untuk perakaran digunakan media MS+NAA. Proses perakaran pada umumnya berlangsung selama

1 bulan. Planlet (tunas yang telah berakar) diaklimatisasikan sampai bibit cukup kuat untuk ditanam di lapang.



Gambar 9.13.

Perakaran tanaman hasil kultur jaringan

## 9.8 Aklimatisasi

Dapat dilakukan di rumah kaca, rumah kasa atau persemaian, yang kondisinya (terutama kelembaban) dapat dikendalikan. Planlet ditanam dalam polibag diameter  $\pm 10$  cm yang berisi media (tanah+pupuk kandang) yang telah disterilkan. Planlet (dalam polibag) dipelihara di rumah kaca atau rumah kasa. Kedua, bibit ditanam di atas bedengan yang dinaungi dengan plastik. Lebar persemaian 1-1,2 m, panjangnya tergantung keadaan tempat. Dua sampai tiga minggu sebelum tanam, bedengan dipupuk dengan pupuk kandang ( $\pm 4$  kg/m<sup>2</sup>) dan disterilkan dengan formalin 4%. Planlet ditanam dengan jarak 20 cm x 20 cm. Aklimatisasi berlangsung selama 2-3 bulan. Aklimatisasi cara pertama dapat dilakukan bila lokasi pertanian letaknya jauh dari persemaian dan cara kedua dilakukan bila

pesemaian berada di sekitar areal pertanaman.



Gambar 9.14.

Aklimatisasi tanaman di dalam screen house dan, tanaman hasil aklimatisasi

Proses aklimatisasi harus dilakukan dengan hati-hati, karena tahapan ini merupakan tahapan akhir sebelum plantlet dipindahkan ke lapangan budidaya. Pada umumnya parameter aklimatisasi adalah persentase tanaman hidup, jumlah daun, tinggi tanaman, serta panjang dan lebar daun. Waktu aklimatisasi sangat bervariasi tergantung jenis tanaman yang dikulturkan. Pada umumnya aklimatisasi dilakukan selama 4 minggu sampai tanaman tanaman berumur 30 minggu.

Proses aklimatisasi dengan perendaman plantlet dalam benomil 1% dan penutupan plantlet dengan plastik transparan pada 30 hari pertama sangat berpengaruh terhadap kemampuan plantlet untuk beradaptasi. Pengamatan persentase tanaman hidup dilaku-

kan setelah tanaman berumur 30 hari sampai 30 minggu. Rata-rata persentase tanaman hidup semua perlakuan maksimum 10%. Persentase tanaman hidup pada perlakuan sekam mentah + humus bambu dan arang sekam + humus bambu menurun seiring dengan bertambahnya umur tanaman Hasil pengamatan menunjukkan bahwa perlakuan media arang sekam memperlihatkan pertambahan tinggi tanaman terbesar dan kombinasi arang sekam dan sekam mentah memperlihatkan pertambahan tinggi tanaman terkecil. Jumlah daun terbanyak diperoleh pada media arang sekam, sedangkan jumlah daun terendah pada kombinasi sekam mentah dan arang sekam. Hasil ini kemungkinan disebabkan arang sekam mempunyai sifat ringan (berat jenis 0,2 kg/l), banyak pori-porinya, kapasitas menahan air tinggi, dan berwarna hitam sehingga dapat menyerap sinar matahari dengan efektif. Data pada menunjukkan bahwa panjang daun dan lebar daun anthurium yang ditanam pada media sekam mentah dan arang sekam lebih besar dibandingkan pada media humus bambu atau kombinasi beberapa media. Hal ini menunjukkan bahwa tanpa dikombinasikan dengan media yang lain, sekam mentah dan arang sekam dapat digunakan sebagai media aklimatisasi anthurium. Hal ini dikarenakan sekam padi, baik mentah maupun bakar, mempunyai aerasi yang cukup tinggi sehingga mampu menyerap air dan unsur hara yang diperlukan untuk pertumbuhan tanaman. Hasil

percobaan dengan jelas memperlihatkan bahwa sekam mentah dan sekam bakar merupakan media yang paling tinggi untuk tinggi tanaman, jumlah daun, panjang daun, dan lebar daun.

Keberhasilan aklimatisasi planlet anthurium dipengaruhi oleh penyiapan planlet yang baik dan proses aklimatisasi secara bertahap. Media arang sekam dan sekam mentah menghasilkan pertumbuhan tanaman (tinggi tanaman, jumlah daun, panjang daun, dan lebar daun) paling baik. Media arang sekam dapat digunakan sebagai media alternatif untuk aklimatisasi anthurium.

### 9.9 Kultur jaringan pada berbagai tanaman

Berikut ini adalah beberapa contoh keberhasilan produksi benih vegetatif menggunakan metode kultur jaringan.

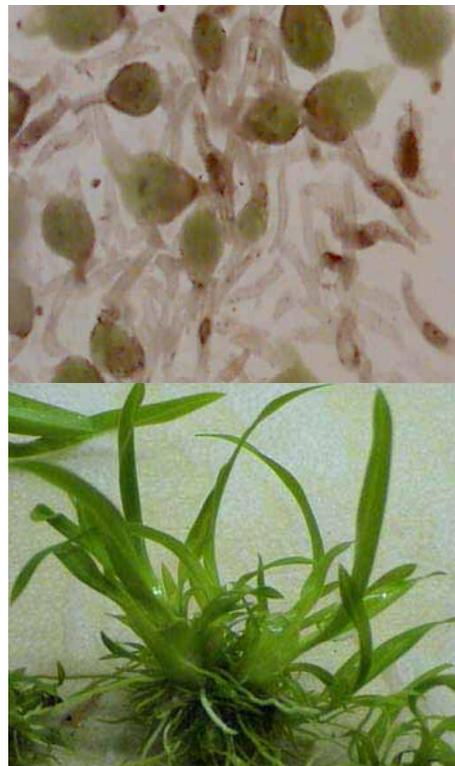
#### 1) Kultur Jaringan Anggrek

Anggrek merupakan bunga yang indah dan tanaman yang mistrius yang dapat dengan mudah dibudidayakan di laboratorium sederhana dengan menggunakan bahan-bahan berikut ini.

(a) Bahan-bahan: Media Knudson C atau media MS, gula, PPM, agar, bibit bunga. Media Knudson C atau media MS diperlukan bagi bibit anggrek dan dapat diperoleh di toko. PPM (Plant Preservative Mixture) umumnya tidak digunakan dalam kultur bibit anggrek, tetapi dapat

digunakan untuk membantu mengendalikan kontaminasi.

(b) Persiapkan media dan persiapkan kotak yang bersih. Persiapkan media sesuai dengan petunjuk. Sebanyak 1 paket media, 1 ml PPM, 5 sendok teh gula. Jika media belum mengandung sukrosa ditambahkan ke dalam 1 liter air suling, campurkan bahan dengan baik. Sesuaikan pH media hingga mencapai 5.5. Tuangkan 3 sendok teh media ke dalam wadah berupa botol. Tambahkan agar ke setiap boto sebelum disterilisasi. Lakukan streilisasi sesuai petunjuk.



Gambar 9.16

Benih tanaman dalam proses kultur agar dan individu baru tanaman anggrek siap transplantasi



Gambar 9.15

Bibit tanaman anggrek, dari hasil kultur jaringan hingga bunga

- (c) Melakukan desinfeksi benih: gunakan unit filter yang dirancang sendiri, atau menggunakan sucrosa dan peroksida.
- (d) Bungkus wadah untuk mencegah kontaminasi dan simpan pada suhu kamar. Beberapa species menyukai inkubasi gelap sedangkan beberap jenis lainnya dapat diinkubasi dalam kondisi bercahaya.
- (e) Tunggu beberapa minggu sampai beberapa bulan agar bibit dapat berkecambah.
- (f) Lakukan subkultur pada media baru,

## 2) Desinfeksi atau desinfestasi benih anggrek

- a) Menggunakan unit penyaringan buatan sendiri

Alat dan bahan yang diperlukan meliputi 70% isopropyl alcohol, 10% larutan pemutih dan air steril plus piring steril serta pinset. Taburkan benih anggrek pada unit penyariang yang sudah disiapkan

Celupkan unit penyaringan ke dalam larutan 70% alkohol hingga semua benih basah. Semprotkan alkohol ke bagian dalam hingga semua bagian saringan menjadi steril

Lakukan desinfeksi terhadap pinset. Gunakan pinset yang sudah steril untuk mengangkat alat-alat yang direndam dalam alkohol dan pinbdahkan ke larutan 10% pemutih+deterjen. Celupkan berulang-ulang semua benih ke dalam larutan pemutih dan lanjutkan selama 10 menit

Dengan menggunakan pinset, angkat semua benda yang direndam dalam larutan pemutih dan biarkan kering. Tempatkan benih pada piring steril, dengan spatula steril, sendok kecil atau pisau mentega tumpul pindahkan beberapa benih ke dlaam botol media yang steril.

Sebarkan benih di atas permukaan media, tambahkan air steril dengan sendok ke permukaan media agar benih menebar. Tutup dan balut dengan selotip

### b) Menggunakan saringan kopi

Perlengkapan meliputi kertas saring yang biasa digunakan menyaringkopi, corong, 110% arutan pemutih, air steril plus piring steril atau anduk kertas dan pinset atau spatula/pisau. Benih ditempatkan dalam tabung reaksi atau botol kecil. Tambahkan larutan 10% cairan pemutih + beberapa tetes deterjen. Benih dan larutan diaduk selama 10 menit.



Campuran ditaburkan ke dalam corong yang sudah dilapisi kertas

saring yang sebelumnya sudah dibasahi dengan larutan pemutih. Air steril dibubuhkan ke atas benih beberapa kali untuk membebaskan dari cairan pemutih.



Dengan menggunakan spatula steril, sendok kecil atau pisau roti yang tumpul pindahkan benih ke dalam botol medium yang steril pula. Media cair dapat digunakan jika memiliki unit pengguncang (shaker). Sebarkan benih di atas permukaan media, tambahkan sedikit air steril dengan sendok ke atas media agar benih menyebar. Tutup dan balut penutup botol.

c) Menggunakan sukrosa dan peroksida:

Perlengkapan untuk ini terdiri dari larutan 5% gula, tabung rekasi kecil atau botol kecil, hidrogen peroksida (3%), dan pipet transfer. Benih ditempatkan dalam tabung reaksi dan tambahkan larutan 5% sukrosa (dengan beberapa tetes deterjen). Campuran ini dibiarkan (diinkubasikan) selama 12 jam.

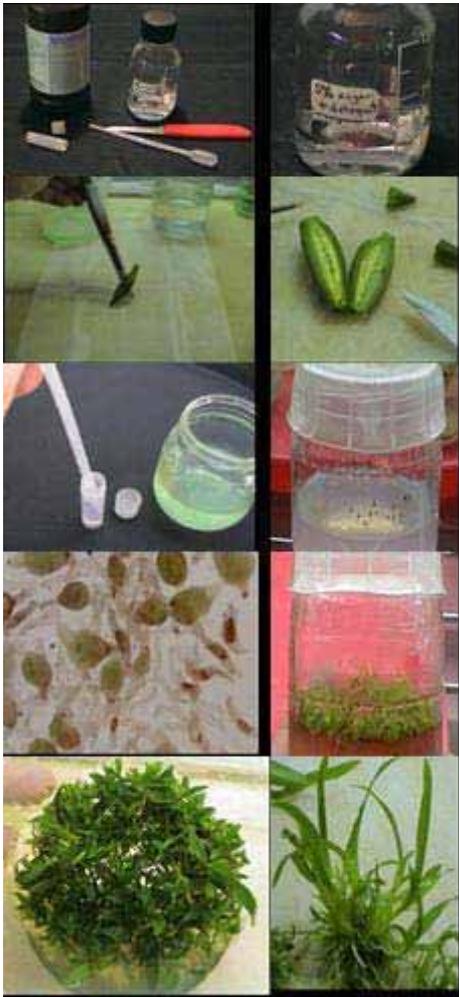
Tambahan sukrosa akan membantu germinasi spora jamur. Sukrosa kemudian diambil dengan menggunakan pipet transfer. Tambahkan hydrogen peroksida (3%) dan biarkan benih

terdesinfeksi selama 30 menit. Hal ini akan membunuh bakteri dan perkecambahan spora jamur. Campurkan larutan dengan pipet dan tambahkan beberapa tetes kepada botol media. Miringkan dasar botol untuk menyebarkan benih ke atas media agar. Tutup botol dan balut penutup botol.

d) Menggunakan buah anggrek hijau

Perlengkapan terdiri dari larutan 70% isopropyl alcohol, larutan 10% pemutih dan air steril plus piring steril serta pinset. Buah anggrek yang hijau dibersihkan dengan sikat gigi kemudian rendam dengan larutan 70% isopropyl alkohol selama beberapa detik, diikuti dengan prendaman dengan larutan 10% pemutih selama 20 menit.

Tempatkan buah anggrek pada permukaan piring steril kemudian belah menjadi dua dan pindahkan biji yang terdapat di dalam buah dengan hati-hati dengan menggunakan pinset atau ujung pisau roti yang tumpul. Lanjutkan dengan memasukkan benih ke dalam media yang sudah disiapkan



Gambar 9.17

Rangkaian proses produksi bibit angrek dengan media agar

Berikut ini adalah contoh dari hasil perkembang biakan tanaman angrek melalui proses kultur jaringan secara komersial.



Gambar 9.18

Pemisahan rumpun anakan bibit tanaman angrek hasil kultur jaringan

## 2. Kultur jaringan tanaman kopi

Bahan yang digunakan adalah potongan daun kopi muda yang masih berwarna hijau-kemerahan atau hijau segar. Daun tersebut dipotong kecil-kecil berukuran kurang lebih 5 mm berbentuk segi empat atau Potongan daun tadi

ditanam di dalam cawan kecil yang berisi campuran bahan-bahan khusus yang untuk memenuhi kebutuhan makanan bagi potongan daun kopi tersebut.



Gambar 9.19

Tanaman anggrek di dalam rumah kaca: dari bibit hingga produksi bunga



Gambar 9.20.

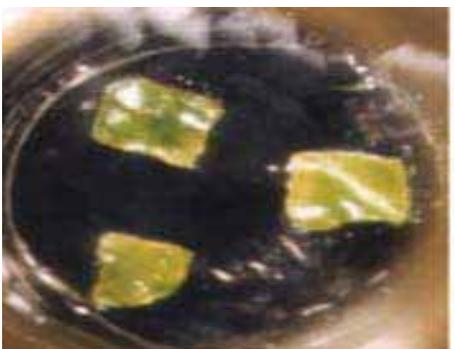
Bunga anggrek dalam pot, tanaman hias yang indah

Campuran bahan-bahan ini dinamakan “media.” Untuk membuat potongan daun mampu tumbuh dan berkembang, tentunya perlu beberapa perlakuan khusus agar dapat berhasil membentuk bibit yang sempurna. Perlakuan ini

dilakukan di laboratorium, rumah kaca, dan tempat persemaian di kebun. Perlakuan yang diberikan di laboratorium meliputi jenis media, macam dan kadar zat pengatur tumbuh, kondisi penanaman yang paling sesuai, dan sebagainya. Sebelum menjadi tanaman, potongan daun tersebut akan membentuk gumpalan-gumpalan yang berwarna putih-kekuningan dan krem, berbentuk bulat atau lonjong yang disebut sebagai “kalus”. Selanjutnya kalus ini akan tumbuh dan berkembang menjadi calon atau bakal bibit yang disebut “embrio”. Dalam beberapa percobaan, ada juga dari potongan daun langsung membentuk embrio. Embrio inilah yang akan tumbuh dan berkembang menjadi bibit yang ukurannya kecilkecil. Selanjutnya, bibit dipindah ke dalam botol yang sesuai dengan ukuran bibit agar tumbuh dan berkembang lebih jauh menjadi tanaman yang lebih besar. Pada tahap ini bibit diberi beberapa perlakuan seiring dengan pertambahan umur. Di rumah kaca, perlakuan yang diberikan meliputi umur dan kondisi bibit, macam bahan untuk tempat pertumbuhan bibit, cahaya, kelembapan, suhu, dan sebagainya. Adapun perlakuan yang diberikan di tempat persemaian, yang paling penting adalah tingkat cahaya dan penanaman untuk mengatur kelembapan. Apabila perlakuan terakhir ini sudah berhasil, maka bibit kopi siap ditanam secara luas di kebun. Berdasarkan hasil penelitian, bibit kopi asal kultur jaringan dapat tumbuh dan

berkembang normal seperti tanaman kopi dari benih ataupun cangkok.

Bibit tanaman kopi biasanya disiapkan dari benih, cangkok ataupun sambung. Namun sejak berkembangnya bioteknologi, bibit tanaman dapat disiapkan dari potongan daun yang hanya berukuran 5 mm. Cara ini telah menghasilkan tanaman kopi yang mampu berbuah di kebun. Bahkan per buhan dan perkembangannya lebih pesat dan waktu berbuahnya lebih cepat dibanding tanaman dari benih maupun cangkok. Bibit tanaman kopi biasanya disiapkan dari benih, cangkok ataupun sambung. Namun sejak berkembangnya bioteknologi, bibit tanaman dapat disiapkan dari potongan daun yang hanya berukuran 5 mm. Cara ini telah menghasilkan tanaman kopi yang mampu berbuah di kebun. Bahkan per buhan dan perkembangannya lebih pesat dan waktu berbuahnya lebih cepat dibanding tanaman dari benih maupun cangkok.



Gambar 9.21

Potongan daun kopi yang ditanam pada media, gumpalan kalus dan embrio yang tumbuh dari potongan daun kopi, dan bibit tanaman kopi dalam botol yang berasal dari perkembangan embrio.

Keunggulan Tanaman Kopi Asal Kultur Jaringan Dibanding tanaman kopi asal benih maupun cangkok, tanaman kopi asal kultur jaringan mempunyai beberapa keunggulan, yaitu:

- Proses pembuatannya lebih praktis, karena hanya dilakukan dalam ruangan yang relatif kecil.
- Bibit yang dihasilkan lebih seragam, baik umur, tinggi maupun kondisi fisik lainnya.
- Proses pembuatannya berlangsung cepat, karena tidak menunggu tanaman induk sampai besar/dewasa.
- Dapat dihasilkan dalam jumlah besar sesuai pesanan dalam waktu relatif singkat (*Imron Riyadi, 2007*).



Gambar 9. 22.

Bibit kopi yang sudah dijarangkan dalam botol dan bibit kopi yang sudah siap ditanam di kebun

### 3. Kultur jaringan pada tanaman hias

Anthurium merupakan tanaman hias tropik dari famili Araceae. Dalam dunia florikultura, anthurium terbagi menjadi dua kelompok, yaitu anthurium daun dan anthurium bunga (Wahyuni 1999). Anthurium daun memiliki bentuk daun yang indah, tetapi bunganya kurang menarik. Sementara itu, anthurium bunga memiliki bunga yang menarik, yang terdiri atas seludang bunga (*spate*), tongkol bunga (*spadik*),

dan tangkai bunga (*peduncle*). Secara konvensional, anthurium dapat diperbanyak melalui biji dan pemotongan rimpang. Namun, cara perbanyakan tersebut membutuhkan waktu cukup lama dan menghasilkan tanaman yang pertumbuhannya tidak seragam. Anthurium dari biji baru dapat berbunga setelah berumur 1,5-3 tahun (Higaki dan Watson 1967). Perbanyakan melalui pemotongan rimpang memerlukan waktu 6 bulan sampai 1 tahun untuk pemisahan rimpang, dan 6-8 bulan untuk pende-wasaan. Oleh karena itu, perlu dikembangkan teknik perbanyakan alternatif yang lebih potensial.

Kultur jaringan tanaman merupakan teknik menumbuhkan-kembangkan bagian tanaman, baik berupa sel, jaringan maupun organ dalam kondisi aseptik secara *in vitro*. Teknik ini mampu memperbanyak tanaman dalam jumlah besar dan dalam waktu relatif singkat. Oleh karena itu, perbanyakan anthurium dengan teknik kultur jaringan memiliki potensi untuk dikembangkan.

Tahapan akhir dari perbanyakan tanaman dengan teknik kultur jaringan adalah aklimatisasi planlet. Aklimatisasi dilakukan dengan memindahkan planlet ke media aklimatisasi dengan intensitas cahaya rendah dan kelembapan nisbi tinggi, kemudian secara berangsur-angsur kelembabannya diturunkan dan intensitas cahayanya dinaikkan (Yusnita 2003). Tahap ini merupakan tahap yang kritis karena kondisi iklim di rumah kaca atau rumah plastik dan di lapangan

sangat berbeda dengan kondisi di dalam botol kultur.

Media merupakan salah satu faktor lingkungan yang berfungsi menyediakan unsur hara dan air bagi pertumbuhan tanaman. Campuran dua macam media dapat memperbaiki kekurangan masing-masing media tersebut, antara lain dalam kecepatan pelapukan dan penyediaan hara tanaman, serta kemampuan mempertahankan kelembapan media (Satsijati 1991). Salah satu media tanam yang baik adalah sekam padi karena ringan, memiliki drainase dan aerasi yang baik, tidak mempengaruhi pH, mengandung hara atau larutan garam, mempunyai kapasitas menyerap air, serta harganya murah. Sekam padi mengandung unsur N 1% dan K 2%. Sekam padi yang dibakar menjadi arang sekam telah banyak digunakan untuk media hidroponik secara komersial (Rahardi 1991). Percobaan ini bertujuan untuk mengetahui media yang sesuai untuk aklimatisasi planlet anthurium.

Percobaan dilaksanakan di laboratorium kultur jaringan dan rumah kaca Balai Penelitian Tanaman Hias (Balithi), Segunung, Cipanas, Jawa Barat pada bulan Februari-Oktober 2005. Planlet yang digunakan diperoleh dari perbanyakan *in vitro* hasil kultur antera anthurium kultivar Tropical. Sebagai media tanam digunakan sekam mentah, arang sekam (sekam bakar), dan humus bambu yang dikombinasikan dalam perlakuan sebagai berikut: M1 = sekam mentah, M2 = arang sekam, M3 = humus bambu, M4 = sekam mentah + arang sekam = 1:1, M5 =

sekam mentah + humus bambu = 1:1, M6 = arang sekam + humus bambu = 1:1. Planlet anthurium yang sudah berakar dikeluarkan dari botol kultur dengan menggunakan pinset, kemudian dicuci dengan air yang mengalir untuk menghilangkan agar-agar media yang masih menempel pada akar. Planlet yang sudah bersih kemudian direndam dalam larutan fungisida berbahan aktif benomil 50% dengan dosis 1% selama 5 menit lalu dikeringanginkan. Planlet kemudian ditanam pada bak plastik yang sudah diisi media tanam sesuai perlakuan. Bak ditutup dengan plastik transparan dan disimpan di tempat teduh selama 30 hari, namun secara bertahap plastik penutup dibuka. Setelah berada di bak semai selama 30 hari, planlet dipindahkan ke media tanam individu berupa pot berdiameter 10 cm. Tanaman dalam pot kemudian dipindahkan ke rumah kaca untuk diamati.

## Ringkasan

Setelah mempelajari BAB 9 siswa telah mampu menguasai kompetensi membiakan tanaman secara kultur jaringan.

Fasiitas laboratorium kultur jaringan	Peralatan dan bahan kimia	Media tanam
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Persyaratan lokasi</li> <li>• Kapasitas laboratorium</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Peralatan</li> <li>• Bahan kimia untuk kultur jaringan</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Unsur hara pada media tanam</li> <li>• Komposisi vitamin</li> <li>• Asam amino</li> <li>• ZPT</li> <li>• Persenyawaan organik</li> <li>• Sumber energi</li> <li>• Bahan pematid</li> <li>• Penambahan arang aktif</li> <li>• Derajat keasaman media</li> </ul>
Beberapa komposisi media	Inokulasi dan Inisiasi tunas	Kultur suspensi sel
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pembuatan media</li> <li>• Stok hara makro</li> <li>• Stok hara mikro</li> <li>• Larutan stok vitamin</li> <li>• Larutan stok ZPT</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Langkah kerja inokulasi</li> <li>• inisiasi</li> </ul>	Fungsi kultur suspensi sel adalah untuk sel protoplasma, sel mutagen, fitopatologi, memproduksi senyawa metabolit sekunder dan media seleksi sel.
Multiplikasi	aklimatisai	Kultur jaringan pada berbagai tanaman
Untuk memperoleh bibit tanaman sesuai dengan jumlah yang	Mengadaptasikan planlet dari botol kultur ke media	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Kultur jaringan anggrek</li> <li>• Kultur jaringan</li> </ul>

diinginkan	tumbuh yang umum digunakan di lapangan.	kopi <ul style="list-style-type: none"> <li>• Kultur jaringan kopi.</li> </ul>
------------	---	--

**SOAL:**

1. Terangkan secara ringkas dan jelas proses kultur jaringan yang saudara ketahui.
2. tanaman apa yang memungkinkan dapat diperbantak secara kultur jaringan.

**TUGAS:**

1. Identifikasi alat-alat yang dibutuhkan untuk laboratorium kultur jaringan.
2. gambarkan skema laboratorium kultur jaringan
3. kunjungilah satu perusahaan yang bergerak di bidang kultur jaringan.



## BAB 10. KEWIRAUSAHAAN

### 10.1. Pengertian Kewirausahaan

Kewirausahaan berasal dari kata awalan "ke" dan akhiran "an" dengan akar kata "wira usaha". *Wira* berarti berani atau pejuang, wirausaha berarti berani untuk berusaha. *Wirausaha* juga berasal dari bahasa Perancis: *entrepreneur* yang berarti ambil resiko.

Kewirausahaan adalah orang yang berani melakukan suatu usaha untuk menciptakan suatu hasil yang bermanfaat bagi orang lain dan bagi dirinya sendiri dengan cara mencari dan menciptakan peluang untuk berinovasi dalam usaha meningkatkan penghasilan. Ada yang mendefinisikan "*wirausaha*" adalah ***orang yang mempunyai kemampuan melihat dan menilai kesempatan-***

***kesempatan bisnis, menggunakan sumberdaya secara optimal, guna meraih keuntungan yang tinggi dan sukses yang berkesinambungan.***

Seorang wirausahawan merupakan seorang pemimpin yang mampu mempengaruhi dan meyakinkan kelompoknya dalam mengembangkan gagasannya dengan cara kerjasama saling mempercayai satu sama lain.

### 10.2. Ciri dan Karakteristik Wirausahawan

Ada beberapa ciri, karakteristik, dan sifat yang harus dimiliki dan dikembangkan oleh seseorang untuk menjadi seorang wirausahawan, yaitu :

No	Ciri Dan Karakteristik	Watak
1	<i>Percaya diri</i>	Keyakinan, ketidaktergantungan, individu yang optimis, senang terhadap tantangan dan mampu mengambil resiko.
2	<i>Berorientasi pada tugas, hasil, dan ambisi untuk maju</i>	Berorientasi terhadap laba, tekun dan tabah, mempunyai tekad dan bekerja keras, mempunyai dorongan yang kuat, serta berinisiatif dan berdaya kemampuan yang kuat
3	<i>Pengambil resiko</i>	Kemampuan mengambil resiko dan suka pada tantangan, pintar dan cerdas serta ulet
4	<i>Kepemimpinan</i>	Bertingkah laku sebagai pemimpin, dapat bergaul dengan orang lain, tanggap terhadap saran dan kritik, serta percaya diri

5	<i>Keorisinilan</i>	Inovatif dan kreatif, fleksibel, punya banyak sumber, serba bisa dan mengetahui segala hal
6	<i>Berorientasi ke masa depan</i>	Pandangan ke depan, dan perspektif
7	<i>Profesional</i>	Selalu ingin mendapatkan yang terbaik, mengoreksi apa yang telah diperbuat.
8	<i>Naluri dan intuisi yang tajam</i>	Selalu mendengar dan memperhatikan apa yang ada di lingkungannya, memanfaatkan peluang bisnis yang ada
9	<i>Disiplin</i>	Selalu tepat waktu, dan punya komitmen tinggi terhadap ketercapaian perencanaan
10	<i>Mempunyai kemampuan menjual</i>	Bisa menyakinkan orang lain, dalam berkomunikasi selalu berpedoman pada mutu, harga, pengiriman yang tepat
11	<i>Memiliki tanggungjawab moral</i>	Adanya kepentingan bersama.

Secara umum kewirausahaan adalah kesatuan terpadu dari semangat, nilai-nilai dan prinsip serta sikap, kuat, seni, dan tindakan nyata yang sangat perlu, tepat dan unggul dalam menangani dan mengembangkan perusahaan atau kegiatan lain yang mengarah pada pelayanan terbaik kepada pelanggan dan pihak-pihak lain yang berkepentingan termasuk masyarakat, bangsa dan negara.

Berbagai usaha dalam bidang pembenihan dan kultur jaringan merupakan jenis usaha yang relatif berisiko tinggi, hal ini disebabkan oleh beberapa hal antara lain:

- Sifat benih dan bibit kultur yang sangat sensitif terhadap kondisi lingkungan dan mudah rusak.
- Harga jual produk yang belum menentu. Dimana kelebihan produksi segera akan diikuti oleh penurunan harga. Demikian pula sebaliknya, produksi yang rendah

dengan tingkat kebutuhan yang tinggi akan memicu kenaikan harga.

Beberapa hal yang dapat ditanyakan sebelum mengambil keputusan yang mengandung risiko:

- Bagaimana anda mengetahui bahwa pekerjaan tersebut mengandung risiko
- Bagaimana anda mempersiapkan sesuatu untuk mengurangi risiko
- Apa dan siapa yang bisa membantu untuk mengurangi risiko
- Mengapa risiko ini penting
- Rasa takut apa yang ada pada diri anda untuk menghadapi risiko
- Apakah anda bersedia sekuat tenaga untuk mencapai tujuan yang telah ditetapkan

- Apakah yang akan dicapai dengan keputusan yang mengandung resiko
- Bagaimana anda mengetahui secara kuantitatif bahwa tujuan anda telah tercapai

Teknik-teknik pemecahan masalah :

- Pilih alternatif yang terbaik
- Ambil keputusan
- Evaluasi hasil keputusan tersebut.

Dalam mengembangkan suatu usaha terdapat beberapa faktor yang harus dipertimbangkan. *“Terjaminnya pasar, sumberdaya manusia yang memadai, teknologi dan aspek pengelolaan yang terkuasai merupakan kunci pengembangan Usaha Produksi Benih Tanaman”*

Pertanyaan sekarang, apa langkah-langkah yang perlu dilakukan oleh seorang wirausahawan agar mendapatkan nilai tambah yang optimal. Berikut beberapa saran yang perlu dilakukan oleh seorang wirausahawan dalam mengembangkan usaha pembenihan dan kultur jaringan.

**Langkah Pertama;** Yang harus dilakukan oleh pelaku usaha pembenihan dan kultur jaringan tanaman untuk berperilaku sebagai wirausahawan adalah melihat peluang pasar, wirausahawan akan memproduksi produk pertanian yang akan memberikan keuntungan (nilai tambah) yang tinggi dan berkesinambungan. Hal-hal yang harus diperhatikan dalam usaha pengelolaan dapat dilihat dengan berbagai aspek :

- Jaminan pasar hasil usaha pembenihan dan kultur jaringan akan diterima oleh pasar dengan harga yang layak.
- Sumber daya lahan, yang mendukung dan cocok dengan komoditi yang diusahakan.

- Kumpulkan data dan masalah yang berkaitan dengan masalah yang terjadi
- Kelompokkan masalah per masalah
- Pilihlah secara sekala prioritas
- Buatlah berbagai alternatif pemecahan masalah

- 3. Teknologi untuk memproduksi/ mengelola usaha pertanian tersebut tersedia dan dapat dikuasai oleh seorang wirausaha
  - Sarana produksi dan permodalan dapat mendukung pengembangan usaha mina
  - Kondisi keuangan yang dimiliki
  - Saluran-saluran distribusi pemasaran yang berlaku untuk komoditi tersebut
  - Pesaing-pesaing yang ada, dimana yang harus dijaga jangan *over supply*
  - Peraturan dan ketentuan-ketentuan yang berlaku

**Langkah Kedua ;** Yang harus dilakukan seorang wirausahawan setelah menganalisis kekuatan dan kelemahan yang dimiliki adalah memilih komoditi yang diusahakan.

Sesuai dengan kiatnya, maka seorang wirausaha memilih komoditi yang diusahakannya harus berorientasi pasar dengan menetapkan skala prioritas bidang usaha mina yang akan dijalankannya berdasarkan kriteria :

- Terjamin pasarnya
- SDM yang tersedia cukup memadai
- Teknologi dan aspek-aspek pengelolaan terkuasai

**Langkah Ketiga ;** Kuasailah teknologi pengelolaan pembenihan dan kultur jaringan serta pasca panen dari komoditi yang akan dipilih. Bila belum paham betul, belajarliah atau maganglah ditempat orang-orang yang berhasil dalam memproduksi komoditi yang sama. Selain itu ketahuilah sebanyak mungkin

tentang seluk-beluk dari aspek-aspek penting dari komoditi yang dipelajari, baik yang menyangkut teknologi produksi, maupun pemasaran. Seorang wirausaha akan selalu berusaha meningkatkan diri karena semuanya di dunia ini selalu berubah. Terimalah perubahan tersebut dan gunakanlah perubahan tersebut untuk memotivasi diri guna mencapai tujuan atau sasaran yang lebih tinggi.

**Langkah Keempat** ; Laksanakan riset pasar untuk menentukan berapa banyak dan kualitas produk yang diminta pasar serta mana lokasi distribusinya pada waktu penyerahan produk. Disamping itu riset pasar dimaksudkan untuk mengetahui/memprediksi tingkat harga pada saat produksi siap jual atau memperoleh kepastian harga pada saat produksi siap jual atau memperoleh kepastian harga yang ditetapkan dalam kontrak pada saat penyerahan produk. Data yang diperlukan untuk menyusun prediksi harga di pasar tradisional mengacu pada data yang dikeluarkan oleh instansi terkait atau mass media. Data fluktuasi harga harian serta produk, selanjutnya diolah dengan memperhatikan kondisi alam saat harga berlaku dan perubahan-perubahan sosial yang terjadi pada waktu tersebut seperti adanya hari-hari besar keagamaan atau adanya kebijaksanaan baru dari pemerintah. Untuk bidang usaha yang proses produksinya relatif pendek seperti tanaman semusim, riset pasar ini perlu pula ditunjang dengan mengadakan pemantauan langsung ke sumber-sumber produksi yang telah ada sebelumnya, baik di tingkat kabupaten maupun di tingkat propinsi. Riset pasar yang sederhana adalah dengan mendatangi pengusaha yang ada di pasar.

**Langkah Kelima** ; Taksirlah berapa besar produk yang dapat dijual kelak setelah diproduksi. Tetapkan lokasi dan

besarnya usaha. Untuk mensuplai ke butuhan pasar apabila besarnya usaha belum memenuhi skala usaha bergabunglah dengan pengusaha sekitarnya. Dengan mengembangkan kelompok tani atau kelompok usaha bersama agribisnis, masalah skala usaha tersebut dapat terpecahkan dan sekaligus meningkatkan potensi tawar.

**Langkah Keenam** ; Siapkan rencana bisnis secara matang. Apabila modal belum tersedia dapat memanfaatkan kredit-kredit yang tersedia.

- Kredit kepada Koperasi Primer untuk anggotanya (KKPA). Jumlah kredit yang disediakan maksimum Rp. 50.000.000,- per anggota Koperasi.
- Kredit untuk mendukung perkebunan swasta nasional (PBSN/PSN) dan perkebunan inti rakyat-transmigrasi (PIR Trans).
- Kredit kepada Koperasi Primer untuk anggota perkebunan inti rakyat (KKPA PIR- Trans).
- Kredit lain seperti kredit melalui proyek yang dihubungkan oleh Bank Indonesia yaitu Agricultural Financing Project (AFP).

**Langkah Ketujuh** ; Lakukan pengelolaan agribisnis dari komoditi yang dikelola dengan manajemen yang efisien, baik dalam penyediaan sarana produksi, proses produksi (budidaya), pasca produksi (pengolahan/ industri) maupun pemasaran. Gunakanlah teknologi tepat guna yang tepat dan dapat memberikan keuntungan yang tinggi. Apabila usaha petani belum memenuhi skala usaha ekonomi; berhimpunlah dengan pelaku usaha lain dan gunakanlah prinsip " **beli bersama, dan jual bersama**"

### 10.3. Penjualan

Menurut Sitompul (2007), penjualan merupakan sesuatu yang sangat berarti bagi suatu usaha, mengingat sumber keuntungan yang diharapkan dapat diperoleh dari penjualan produk atau jasa. Dalam setiap usaha diperlukan tim penjualan yang efektif dan berkualitas. Penjualan itu penting bagi setiap usaha dan mutlak diperlukan bagi semua usaha.

Tanpa adanya penjualan maka usaha tidak akan mendapatkan *income* untuk dapat menutup biaya kegiatan operasional bulanan atau tahunan. Penjualan merupakan ujung tombak dari suatu usaha dan masih ada anggapan bahwa bidang penjualan sebagai pelengkap dalam bidang usaha. Kebanyakan rencana-rencana untuk kegiatan usaha dilakukan karena ada keterkaitan hobi pemilik atau ide-ide produk yang dianggap bagus untuk dijual. Sebagus apapun produk suatu perusahaan dan sebanyak apapun modal yang diinvestasikan akan menjadi percuma jika penjualan tidak berjalan atau pasar tidak bisa menyerap produk tersebut sesuai dengan target yang dibuat.

Banyak dari usaha yang hanya membuat target di atas kertas, tanpa menganalisa terhadap kegiatan pelaksanaan yang dilakukan oleh tim penjualan di lapangan dan target tersebut dijadikan acuan untuk mencapai hasil penjualan. **Kondisi lapangan, lingkungan budaya, trend produk, kebiasaan adat istiadat, kemampuan daya beli masyarakat, tingkat kegunaan produk** dan variabel-variabel lain **menentukan keberhasilan untuk melakukan penjualan produk**. Untuk itu diperlukan strategi dalam jangka pendek atau jangka panjang dalam menghadapi kendala dalam penjualan.

Seringkali investasi dilakukan secara besar-besaran dikarenakan perhitungan di atas kertas menunjukkan nilai yang menguntungkan dan menjanjikan. Padahal perhitungan tersebut dilakukan dengan menggunakan basis nilai harga produk yang dijual dengan jumlah target penjualan perbulan / pertahun dan target penjualan tersebut diperhitungkan dengan angka maksimal dari "perkiraan" jumlah pemakai atau calon pelanggan.

Memang kalau diperkirakan Indonesia akan dapat menjadi pangsa pasar yang besar, disebabkan jumlah populasi penduduk yang cukup besar +/- 205 juta jiwa. Tetapi yang dibutuhkan adalah angka spesifik yang dapat digunakan sebagai acuan perhitungan. Tidak bisa dengan menggunakan angka perkiraan. **Angka spesifik yang dibutuhkan untuk dapat memperkirakan target adalah range jumlah orang atau penduduk yang mampu membeli produk yang ditawarkan** (untuk mass product), tingkat penghasilan masyarakat tersebut, tingkat kebutuhan masyarakat terhadap produk yang akan ditawarkan. Dengan adanya angka-angka spesifik tersebut akan dapat diperkirakan hasil terburuk dan hasil terbaik pada daya serap pasar terhadap produk yang ditawarkan.

#### a. Jiwa marketing dan motivasi team

Agar penjualan dapat tercapai dengan baik perlu adanya **jiwa marketing** bagi semua orang yang terkait dalam perusahaan. Jiwa marketing dimulai dari tingkat yang paling atas hingga tingkat yang paling bawah dalam suatu usaha. Dengan memfokuskan usaha kepada hasil pencapaian target penjualan produk, maka setiap individu yang terkait di dalam perusahaan akan berusaha untuk dapat memberikan hasil yang terbaik bagi usaha penjualan serta memberikan layanan

secara maksimal kepada konsumen. Usaha ini dapat dimulai dengan melakukan kontrol kualitas produk yang akan dijual, memberikan layanan maksimal kepada konsumen dengan mengantisipasi setiap keluhan konsumen.

Selain itu dibutuhkan strategi yang dapat memotivasi tim penjualan, dengan harapan tim penjualan dapat membentuk jaringan pelanggan. Tim penjualan bukan hanya dimotivasi untuk mencapai target penjualan dan kemudian menghasilkan profit atau keuntungan, tetapi juga diharapkan dapat membangun jaringan pelanggan atau network pelanggan bagi perusahaan. Selain itu juga tim penjualan diharapkan dapat memberikan layanan maksimal kepada semua pelanggan. Untuk mencapai hal-hal tersebut dibutuhkan pelatihan secara berkala dan standar prosedur pelaksanaan pekerjaan yang baku untuk kegiatan penjualan serta melakukan pengembangan secara terus menerus terhadap kualitas produk dan layanan yang ditawarkan kepada pelanggan. Dengan adanya standar prosedur yang baku, akan memudahkan tim penjualan untuk dalam melaksanakan tugas penjualan.

Hal-hal lain yang terkait dengan penjualan adalah keikutsertaan dari tim penjualan untuk mengamati setiap pergerakan dan arah pasar terhadap permintaan produk. Pertemuan mingguan dan bulanan antara tim penjualan diperlukan untuk dapat mengevaluasi dan memodifikasi strategi penjualan. Agenda atau poin-poin penting yang akan dibahas perlu diberikan kepada semua anggota tim sebelum diadakan pertemuan mingguan, agar dapat mengarahkan peserta kepada topik utama. Yang tersulit adalah membentuk tim penjualan yang solid dan handal.

#### **b. Perlunya rasa kekeluargaan**

Tim penjualan perlu membentuk kerja sama dengan unit terkait lainnya serta membentuk rasa kekeluargaan antar tim. Kerja sama dan rasa kekeluargaan tersebut dapat dibentuk dengan cara membuat acara non formal diluar rutinitas kerja dengan antar individu, antara atasan dan bawahan yang terkait dengan tim. Dengan melakukan hal tersebut di atas secara tidak langsung telah membangun loyalitas individu terhadap usaha dan rasa saling percaya antar personil baik dari bawahan dan atasan.

Masih banyak yang beranggapan kegiatan non formal tersebut tidak penting dan mengganggu kegiatan non formal tersebut sebagai "pemborosan" pada keuangan perusahaan.

#### **c. Strategi dan visi misi**

Setiap usaha membutuhkan strategi untuk dapat mencapai target dari visi dan misi usaha. Kelemahan yang terjadi kebanyakan dari usaha yang baru berdiri tidak mempunyai strategi untuk melakukan usaha. Kebanyakan founder atau co-founder hanya terpaku pada analisis hasil pencapaian target (profit, keuntungan). Strategi-strategi ini disusun berdasarkan visi dan misi usaha. Visi dan misi merupakan acuan bagi semua orang yang terkait dalam usaha, yang harus memiliki hubungan sejalan, sehingga usaha tersebut dapat mencapai target visi dan misi yang telah dibuat.

Kesulitan utama yang dialami oleh banyak usaha baru adalah melakukan penetrasi produk baru kedalam pasar. Untuk melakukan penetrasi pasar dapat dilakukan dengan kegiatan promosi dan mengkampanyekan produk. Promosi akan membantu mengangkat merek produk dan nama produsen. Kesulitan terjadi jika produk yang ditawarkan

memiliki kesamaan dengan produk kompetitor lainnya. Untuk itu perlu dicermati **keunggulan produk dan keunikan dari produk yang dijual**. Dengan menguasai keunggulan produk dan keunikan produk akan memudahkan tim penjualan untuk melakukan penjualan. Jika keunggulan produk dan keunikan tidak jauh berbeda dengan produk kompetitor maka perlu diantisipasi dengan **memberikan keuntungan lebih dan layanan yang lebih baik** kepada konsumen. Dengan cara ini kompetisi harga akan terhindari, dan tidak menyebabkan terjadinya perang harga pada produk yang sama terhadap kompetitor lain. Konsumen akan membeli dengan membayar harga layanan dan keuntungan yang lebih.

Salah satu hal yang penting dalam memulai usaha adalah mengenali kompetitor yang sudah lebih dulu bermain dan yang akan ikut bermain di pasaran, dengan produk yang sama serta memperkirakan cakupan area pemasaran yang telah dicapai oleh kompetitor. Dengan mengamati dan mewaspadai arah pemasaran yang dilakukan kompetitor akan mempermudah tim penjualan untuk dapat melakukan penetrasi produk ke dalam pasar. Hal ini dapat mencegah terjadinya perang harga berlebihan di pasaran serta akan memudahkan tim penjualan untuk melakukan inovasi dan pengembangan layanan penjualan terhadap para pelanggan.

#### **d. Pentingnya informasi**

Suatu kegiatan usaha membutuhkan tujuan dan standarisasi kegiatan yang jelas. Selain itu diperlukan pula pemikiran jangka panjang dari para pengambil keputusan dan pemikiran ini dirumuskan menjadi arah kegiatan usaha serta strategi untuk usaha. Setiap strategi

tersebut perlu dirinci lebih detail untuk memudahkan dalam pelaksanaan kegiatan di lapangan.

Untuk memperkirakan kompetitor yang sudah dan akan ikut bermain dalam bisnis yang sama diperlukan informasi pasar yang lengkap. Tim penjualan dapat menjadi pencari informasi pasar dan memberikan informasi yang lengkap kepada para pengambil keputusan. **Informasi ini dapat berupa harga, layanan produk, system penjualan, cakupan area penjualan, produk unggulan yang dilakukan pihak kompetitor, teknologi yang digunakan dan informasi lainnya.**

#### **e. Pelanggan aset yang berharga**

Pelanggan yang puas akan menyampaikan produk dan layanan anda kepada temannya yang lain. Pelanggan yang tidak puas akan menyampaikan ketidakpuasan terhadap produk dan layanan anda kepada semua orang. Ini mungkin akan sering terjadi dalam kegiatan penjualan. Menyampaikan informasi secara berantai dari mulut ke mulut akan sering terjadi. Informasi kepuasan yang disampaikan pelanggan kepada orang lain mengenai produk dan layanan yang telah anda berikan, akan dapat mengangkat image atau menghancurkan image dan merek dari produk layanan anda.

Membangun image dan nama baik itu sangat sulit, informasi pelanggan kepada orang sekitar dapat mengangkat image produk dan layanan, dan dapat juga menghancurkannya. Dalam suatu kegiatan usaha, pelanggan merupakan aset yang sangat penting yang harus dijaga. Menjaga kepuasan pelanggan, sangat penting dalam usaha. Kepuasan pelanggan dan kepercayaan pelanggan tidak dapat dibeli dengan uang. Komplain

atas ketidakpuasan pelanggan jangan dibalas dengan layanan yang buruk. Layani setiap ketidakpuasan pelanggan dengan baik. Kritik dari pelanggan adalah bahan koreksi untuk bahan perbaikan terhadap cara layanan, selama dalam batas-batas yang wajar. Bandingkan jika suatu perusahaan harus membayar biaya konsultan dengan biaya yang mahal untuk dapat memperbaiki cara layanan terhadap pelanggan. Kritik dari pelanggan adalah konsultasi yang murah dan gratis untuk dapat memperbaiki sistem penjualan, baik untuk perorangan ataupun untuk perusahaan. Pelanggan yang cerewet adalah guru yang baik untuk seorang penjual dibandingkan dengan pelanggan yang diam atau pasif. Pelanggan yang cerewet dapat memberikan masukan dan perbaikan untuk sistem penjualan. Kendala yang paling sulit dalam penjualan adalah membentuk pelanggan yang loyal dan setia kepada produk yang kita tawarkan.

Hal lain yang perlu diperhatikan adalah mendidik dan mengajarkan kepada pelanggan atas produk yang dijual. Ada beberapa produsen yang tidak begitu peduli akan hal ini. Dengan mengajarkan pelanggan tentang penggunaan produk yang dijual sebagai contoh produk yang dijual adalah produk yang membutuhkan keahlian khusus dalam penggunaannya seperti produk kultur jaringan dan lainnya. Dengan membuat pelanggan menjadi "pintar" akan mengurangi komplain lebih banyak terhadap produk yang dijual akibat kesalahan pemakaian produk tersebut.

Bagi seorang penjual tidak ada harta yang lebih berharga dari pada database konsumen dan hubungan baik dengan pelanggan. Hubungan baik dengan konsumen tidak bisa dibeli dengan uang dan tidaklah mudah untuk dapat menjaga

hubungan baik jangka panjang dengan pelanggan.

Jika ingin meningkatkan penjualan secara dramatis? Ubah fokus penjualan anda dari hanya "menarik konsumen baru" menjadi "**menggoda konsumen yang terjamin akan kembali untuk membeli lagi**". Prospek penjualan yang terbaik adalah prospek yang sudah di ubah, dengan kata lain, salah satu dari konsumen anda berpikir tentang cara ini. Jika bisnis anda terletak di sebuah kota kecil dengan populasi 1000 jiwa dan anda menjual majalah untuk semua orang di kota itu, pria, wanita dan anak-anak, anda menjual majalah anda dan memenuhi pasar anda. Penjualan majalah anda sehari sudah berakhir, apakah waktunya untuk berberes-beres dan maju ke

langkah berikutnya?

Mulailah memfokuskan usaha penjualan anda untuk menjamin konsumen itu akan kembali membeli produk anda lagi, anda akan bisa meningkatkan penjualan majalah anda secara dramatis. Dan dibawah ini cara yang manjur untuk meningkatkan penjualan yang akan membantu menambah kesetiaan konsumen juga

Cobalah sesuatu dari apa saja yang disarankan untuk meningkatkan penjualan anda dibawah ini:

### **1). Persiapkan program pendorong penjualan**

Berikan alasan kepada staff marketing anda untuk pergi keluar sana dan lakukan penjualan, penjualan dan penjualan. Mengapa begitu banyak bisnis yang mempercayai staff marketing mereka untuk mengendalikan dan menangani penjualan. Karena mereka menawarkan staff marketing mereka sebuah trip perjalanan liburan ke atlantis atau TV 29 inchi untuk setiap penjualan yang terjadi. Coba lihat Progran Pembentuk Dorongan Penjualan dari Paul Shearstone, yang jitu membangun program pendorong penjualan anda "Cantik, Sederhana dan Mudah Untuk di peroleh".

### **2). Tumbuhkan semangat keberanian untuk menjual kepada staff marketing anda**

Pada dasarnya.pemasaran yang melibatkan produk atau jasa lain tapi berhubungan dengan produk yang anda pasarkan dan membuatnya agar lebih cocok atau sesuai dan dibutuhkan oleh kustomer anda untuk membelinya, atau dalam artian hanya dengan

menempatkan tambahan produk lain didekat produk yang anda fokuskan untuk dipasarkan, tidak akan melejitkan penjualan anda. Agar penjualan lebih sukses, konsumen harus diyakinkan dengan adanya sebuah keuntungan dan manfaat dari sebuah produk atau jasa yang anda pasarkan,contohnya,saat terakhir karpet konsumen di dibersihkan di sebuah pencucian karpet, si pencuci mengatakan bahwa terdapat noda kotoran hewan,dan malah hanya membersihkannya, ia mengalihkan perhatian konsumen ke masalah kecil itu, dan memperlihatkan kepada konsumen, bagaimana mudahnya dan efektifnya tempat pencucian mereka membersihkan segala bekas-bekas noda kotoran hewan. Apakah konsumnen akan kembali kepada mereka? Pasti !!.

Karyawan pencuci karpet tersebut meyakinkan konsumen untuk kembali mencuci kepada mereka dan menciptakan tempat pencucian mereka sebagai tempat yang cocok dan klop untuk konsumen tersebut. Akibatnya akan membuat trick pemasaran yang melejitkan penjualan.

### **3). Berikan konsumen anda sebuah dongkrak dari dalam.**

Beberapa bulan yang lalu Pak Konsum berbelanja di sebuah toko pejualan alat-alat elektronik.Saat Pak Konsum ingin mengambil sebuah produk, Pak Konsum berbicara dalam hatinya untuk membeli atau tidak, namun saat seorang karyawan mendatanginya dan berkata "Sepertinya mas tertarik dengan TV Itu yah mas?",dan Pak Konsum menjawab "Iya tapi masih mikir harganya" lalu ia mengatakan "Bulan depan kami mengadakan diskon 20% untuk TV ini mas,mungkin mas bisa kembali lagi bulan depan?".Coba tebak apa cerita selanjutnya, Pak Konsum kembali ke toko

elektronik tersebut, dan membawa pulang TV tersebut lengkap dengan antena dan sebuah DVD Player karena masih ada sisa dari budget.

Pelajaran yang di ambil dari kasus diatas adalah : Jika anda ingin penjualan atau promosi selalu datang, katakan pada kustomer anda tentang harga penurunan harga, produk baru dengan harga murah dari toko lain, dan sejenisnya. Mungkin saja saat kembali lagi mereka akan membawa seorang teman dan temannya membawa temannya yang lain, Dan jangan lupa!! Anda juga bisa mendongkrak semangat mereka dengan email atau menghubungi mereka melalui telephone.

#### **4). Sejajarkan kustomer anda**

Sangatlah jelas pada kenyataanya ada perbedaan antara Pelanggan dan Pembeli, perbedaannya untuk "Pelanggan" anda adalah mereka memperlihatkan kepada anda betapa anda memiliki poin dan nilai untuk mereka. Bagaimana anda mengharapkan kesetiaan konsumen seperti itu jika anda memperlakukan konsumen anda seperti seseorang yang tidak penting.

Terdapat beberapa cara untuk memperhatikan pelanggan yaitu pelanggan selalu nomor satu.

Dari contoh kecil saja, seperti menyapa mereka dengan membawa sesuatu yang menguntungkan mereka seperti dengan memberikan perpanjang diskon hanya untuk mereka yang anda anggap sudah menjadi pelanggan anda.

#### **5). Rancanglah sebuah program penghargaan bagi pelanggan anda.**

Kita semua sudah kenal dengan yang namanya program penghargaan untuk pelanggan setia dimana sudah banyak bisnis besar yang menyelenggarakanya. Tapi tidak ada alasan untuk bisnis yang masih kecil tidak dapat menyelenggarakan atau menciptakan sebuah program penghargaan terhadap pelanggan setia anda.

Bisa saja sangat sederhana hanya dengan sebuah diskon untuk pelanggan yang berulang tahun pada tanggal yang ditentukan, atau memberikan "bebas harga untuk pembelian apa saja" untuk pelanggan yang sudah memiliki poin tertinggi dalam pembelian di perusahaan atau untuk bisnis anda. Dari survey menyatakan bahwa program penghargaan terhadap pelanggan ini dapat meningkatkan penjualan dan menciptakan kesetiaan pelanggan yang makin setia terhadap anda.

#### **6). Berikan contoh gratis kepada kustomer.**

Mengapa sangat banyak bisnis yang mengikut sertakan contoh trial produk gratis pada produk yang lain saat anda membeli sesuatu dari mereka? Karena itu dapat meningkatkan penjualan dalam banyak cara. Sebagai kustomer yang telah membeli produk yang asli dan puas, kemungkinan besar mereka akan mencoba dan menyukai produk yang baru sama seperti mereka puas dengan produk yang telah mereka beli sebelumnya dan ingin mencoba dengan membelinya, setidaknya kustomer yang sudah membeli produk anda sebelumnya akan berpikir pikiran yang baik tentang bisnis atau perusahaan anda, dan berharaplah agar mereka mengatakan tentang produk anda.

Menarik perhatian kustomer baru adalah hal yang bagus, tetapi bukan

hanya itu yang menjadi cara untuk meningkatkan penjualan, malah pada kenyataannya itu adalah cara yang berat dalam melakukannya. karena dimulai dari awal untuk menciptakan kenyamanan dan kepercayaan kepada kustomer baru tersebut. **Rubahlah fokus pemasaran anda seperti ini kepada lebih memberikan keyakinan, dorongan dan kenyamanan kepada pelanggan setia yang sudah kenal dan menjadi konsumen** anda sebelumnya hingga sekarang, terbukti trick ini lebih manjur dalam meningkatkan penjualan, bahkan yang terhandal menciptakan kesetiaan konsumen yang mempengaruhi penjualan yang berulang-ulang.

#### 10.5. Dasar-dasar strategi pemasaran

Pertama yang harus anda perhatikan sebelum memulai aktifitas dan pelaksanaan strategi pemasaran adalah target pasar. Dalam strategi pemasaran **target pasar adalah hal pokok** yang tidak bisa di hindari oleh pemasar dalam melakukan pemasaran, tentukan target pasar anda dan perhatikan hal-hal yang penting dibawah ini sebelum merencanakan sebuah strategi pemasaran yang handal dan jitu, karena setiap strategi memiliki bobot tersendiri dalam pengimplementasiannya, dan keberhasilan strategi tersebut tergantung oleh keuletan dan cara pelaksanaannya oleh tim pemasaran itu sendiri:

##### a. Kepercayaan

Dalam pemasaran kepercayaan adalah hal yang paling pokok dan paling mendasar, karena segala bentuk transaksi dan aktifitas pemasaran terjadi, oleh sebab untuk membentuk sebuah kepercayaan yang perlu diperhatikan adalah sebagai berikut:

- Kontak : informasi kontak dan data tentang diri anda sendiri atau cerita singkat tentang diri anda dan bisnis serta usaha anda, seperti alamat anda, email, no telephone, lokasi dengan peta (jika perlu), dan sejarah singkat tentang berdirinya bisnis anda dan dari mana anda terinspirasi tentang bisnis anda
- Testimonial : bila perlu tampilkan beberapa testimonial dari konsumen anda tentang kesan dan pesan setelah memanfaatkan produk anda
- Solusi Masalah : Didalam setiap kegiatan pemasaran tak luput dari deskripsi tentang produk yang anda pasarkan, ini adalah strategi yang paling dasar dalam pemasaran, namun sekarang bagaimana anda menyampaikannya kepada pembeli, anda harus tahu apa masalah yang dihadapi pembeli anda jika memerlukan solusi dari produk anda, anda harus ikut merasakan masalah yang mereka rasakan, jika perlu resiko-resiko apa saja yang terjadi jika masalah tersebut dibiarkan berlarut-larut. untuk menyelesaikan masalah tersebut, tunjukan kepada pembeli anda apa yang bisa dilakukan produk anda, dan apa kelebihan-kelebihan yang dimiliki oleh produk anda dalam memberikan solusi masalah yang dihadapi pembeli anda.
- Sejarah singkat : Ceritakan tentang diri anda, bisnis dan usaha anda, dan apa yang membuat anda antusias dalam memasarkan produk anda. Taruh semua hal di atas di setiap halaman pada website atau halaman pemasaran anda, sama halnya jika anda ingin orang lain membuka dirinya kepada anda, sebelumnya anda harus membuka diri anda sendiri kepada orang lain bukan?, banyak pemasar yang lupa untuk menggunakan strategi ini, karena

faktor kepentingan dan efektifitas, tapi secara tidak langsung strategi ini bisa mempengaruhi sebagian orang yang tidak mudah percaya, tidak ada salahnya kita menggunakan cara ini dalam strategi pemasaran.

#### b. Kemudahan

Dalam dunia usaha, dengan banyak dan padatnya kegiatan-kegiatan yang dilalui oleh orang-orang sehari-hari di kantor ataupun dimana saja, mereka tentunya tidak ingin diperberat dengan sebuah hal yang bertele-tele dan rumit, apalagi jika hanya untuk melakukan sebuah pembelian, memang untuk kenyamanan, internet adalah tempat yang pas untuk melakukan pembelian, hanya didepan komputer yang terkoneksi dengan jaringan internet, sudah bisa berbelanja apa saja yang anda inginkan, tapi semudah apa untuk melakukan sebuah transaksi itu?

- Metode Pembayaran : Gunakan metode pembayaran yang kebanyakan orang menggunakannya, berikan pilihan cara pembayaran yang nyaman dan aman. Anda bisa menawarkan sistem pembayaran dengan pemesanan melalui email, sms, atau telephone.
- Form Transaksi : Sebelum melakukan pembelian, tentulah pembeli diminta untuk mengisi sebuah formulir tentang data diri dan data transaksi yang dilakukan, untuk itu cukup minta pembeli untuk mengisi apa saja yang paling diperlukan, seperti nama lengkap, alamat, no telephone dan sisanya, adalah yang melakukan survey untuk kebenaran data tersebut,
- Lama waktu penerimaan barang atau jasa : Untuk strategi pemasaran ini diperlukan kecepatan dan kedisiplinan yang tinggi, karena agar

setiap transaksi yang terjadi usahakan tidak memakan waktu lebih dari 1 hari untuk wilayah sekitar perusahaan anda, atau usahakan jangan sampai pembeli menghubungi anda lebih dari sekali untuk memastikan pesanan mereka sudah dikirim atau belum, karena jika itu terjadi, mereka akan mengubah pikiran untuk melakukan pembelian kepada anda di masa kedepannya. mending beli toko dekat rumah..mudah, murah dan langsung diterima. Intinya jangan hilangkan image dan kelebihan yang di berikan jika berbelanja yaitu nyaman, mudah, cepat dan dari mana saja.

- Garansi : Berikan jaminan garansi kepada pembeli tentang produk anda jika produk tersebut rusak atau tidak dapat digunakan dalam beberapa bulan atau tahun maka bisa diganti produk yang baru. Jika anda berani memberikan jaminan ketahanan dan ke efektifan produk anda, berarti anda yakin bahwa produk anda adalah produk yang pasti pas untuk solusi masalah pembeli anda. Jika anda yakin, otomatis pembeli anda juga yakin dengan apa yang anda berikan, karena percaya diri bersifat menular.
- Jaminan uang kembali : Untuk menghindari rasa penyesalan dari diri

pembeli anda, berikan jaminan uang kembali jika terjadi sesuatu yang tidak sesuai dengan yang anda sampaikan tentang produk anda dalam beberapa bulan

- Panduan membeli : Berikan tips dan panduan membeli produk yang sejenis dengan anda. Orang-orang tidak ingin tertipu dengan hal-hal baik yang ditawarkan tanpa tau apa kekurangan dan kelebihan dan apakah mengandung resiko atau tidak, Kebanyakan pemasar-pemasar produk dan jasa tidak memberikan hal-hal diatas, tapi hanya kelebihan-kelebihan produk yang sempurna bagai tanpa cela. memang ada yang bisa percaya, namun alangkah bagusnya jika kepercayaan mereka di bareng dengan keyakinan dan keputusan yang bulat agar tidak timbul penyesalan point yang anda dapat disini adalah, selain anda bisa dipercaya, perusahaan anda akan lebih terkesan profesional, karena anda bisa mennguraikan secara detail apa-apa saja yang harus diperhatikan untuk sebuah produk sejenis anda, artinya semua yang anda uraikan sudah dimiliki oleh produk anda..
- Proses pengiriman : Dalam strategi ini perlu sebuah struktur perusahaan yang kuat dan arsitektur proses kinerja yang mapan, karena anda harus menjalankan komitmen secara akurat, contohnya saja untuk sebuah proses pengiriman, kecepatan sebuah proses pengiriman dan penerimaan produk yang anda jual ke tangan pembeli adalah salah satu strategi meningkatkan kenyamanan, kepercayaan pelanggan kepada, karena menunggu adalah pekerjaan yaaang paling membosankan, jadi berikan informasi tentang cara pengiriman, kendaraan apa yang digunakan, perincian biaya

pengiriman, kemasan yang digunakan dalam mengirimkan dan waktu yang dibutuhkan.

The Followers, konsumen tipe ini sangat memperhatikan tren dan trade mark yang ada, semakin ramai tempat yang dikunjungi, semakin ingin mereka untuk mengikuti keramaian tersebut. Semakin ramai yang menggunakan produk dan jasa anda, semakin ingin mereka mengikuti bahkan tidak perlu tahu fungsi dan kelebihanya.

#### e. Memasarkan benih tanaman

Sebelum melakukan pemasaran benih tanaman, maka harus dihitung terlebih dahulu harga jual dari produk yang akan dijual, sasaran dan target penjualan, strategi promosi dan sistem penjualan.

##### 1) Menghitung harga penjualan.

Harga penjualan produk berupa benih tanaman dihitung dari semua komponen biaya produksi, lalu dilakukan analisis BEP (lihat BAB 11). Dari analisis usaha tersebut dapat diprediksi jumlah produksi minimal yang harus diproduksi. Untuk menentukan harga penjualan, pengusaha pada umumnya menambahkan keuntungan sekitar 25-50% dari biaya produksi tergantung *product, price, place dan promotion (marketing mix)*.

Harga jual dapat pula ditentukan berdasarkan survey pemasaran sehingga didapat harga jual yang masih menguntungkan perusahaan dan kompetitif.

## 2) Merencanakan sasaran dan target penjualan

Sasaran dan target penjualan harus ditentukan sebelum produksi dimulai. Metode ini akan mengurangi resiko kerugian bagi perusahaan. Sasaran pemasaran adalah perkiraan konsumen/klien yang akan dijadikan fokus penjualan. Untuk benih kelapa sawit tentu saja sasaran pemasarannya dapat berupa klien individu atau pun kelompok/perusahaan. Salah satu contoh sasaran kelapa sawit di dalam negeri adalah propinsi-propinsi yang mempunyai visi dan misi mengembangkan kelapa sawit secara besar-besaran seperti propinsi Riau, Kalimantan Barat, Kalimantan Timur dan Medan. Sedangkan sasaran di luar negeri adalah Malaysia.

Target penjualan sama dengan sasaran penjualan yang harus ditentukan sebelum kegiatan produksi dilakukan. Target penjualan minimal harus lebih besar 25-50% dari BEP unit/produk benih. Contoh pada BAB 11. BEP produk adalah 86.533 benih kelapa sawit, sehingga target penjualan harus direncanakan antara 11.000 – 13.000 benih kelapa sawit.

## 3) Menentukan strategi promosi

.Sebelum memutuskan untuk mengimplementasikan salah satu strategi marketing, sebaiknya dilakukan dahulu promosi.

Strategi promosi dapat dilakukan secara langsung dan tidak langsung. Promosi langsung adalah dengan cara mengikuti pameran produk, pengenalan produk *door to door* dan pemberian produk secara gratis dan lain-lain. Promosi tidak langsung pada umumnya melalui propaganda, pemasangan beaner, penyebaran leaflet, booklet, seminar, lokakarya, diskusi panel keunggulan produk dan lain-lain.

## 4) Menentukan sistem penjualan

Strategi penjualan yang dapat ditempuh oleh perusahaan benih kelapa sawit atau durian adalah *selling* dan *marketing*.

*Selling* dapat dilakukan secara langsung oleh pengusaha kepada konsumen. Marketing adalah penjualan produk melalui saluran pemasaran. Contoh dari marketing adalah penjualan melalui distributor, agen dan pengecer. Metode marketing dapat dilakukan melalui internet, dan *MLM (Multy Level Marketing)*.

## Ringkasan

Setelah mempelajari BAB 10. siswa telah mampu menguasai kompetensi memasarkan benih tanaman.

Pengertian kewirausahaan	Ciri dan karakteristik wirausahawan
Orang yang berani melakukan suatu usaha untuk menciptakan suatu hasil yang bermanfaat bagi orang lain dan bagi dirinya sendiri dengan cara mencari peluang untuk berinovasi dalam usaha meningkatkan penghasilan.	Percaya diri, berorientasi pada tugas, pengambilan resiko, kepemimpinan, keorisinilan. Berorientasi ke masa depan, professional, mempunyai naluri dan intuisi yang tajam, disiplin, mempunyai kemampuan menjual dan memiliki tanggung jawab moral.
Penjualan	Dasar-dasar strategi pemasaran
<ul style="list-style-type: none"><li>• Jiwa marketing dan motivasi tim</li><li>• Perlunya rasa kekeluargaan.</li><li>• Strategi dan visi serta misi.</li><li>• Pentingnya informasi</li><li>• Pelanggan adalah asset yang berharga</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Kepercayaan</li><li>• Kemudahan</li><li>• Kenyamanan</li><li>• Gengsi</li></ul>

### SOAL:

1. Siapa pengusaha idola anda. Deskripsikan alasan anda memilih orang tersebut.
2. Bagaimana teknik penjualan benih tanaman pangan dan hias agar omset penjualan anda minimal Rp.10.000.000,- per bulan.

### TUGAS:

1. Lakukan identifikasi jiwa kewirausahaan pada minimal 2 teman anda. Ada berapa persen ciri dan karakter wirausaha yang teman anda miliki.
2. Lakukan permainan peran dengan tema penjualan benih kelapa sawit ke Negara Malaysia.



## BAB 11. ANALISIS USAHA PEMBENIHAN KELAPA SAWIT DAN DURIAN

Untuk mengetahui suatu usaha layak untuk dilaksanakan atau tidak layak dilaksanakan maka perlu dilakukan analisis usaha tani. Untuk itu, usaha tani pembenihan kelapa sawit dan durian yang dibahas dalam tulisan ini dapat disusun analisis usaha taninya yang meliputi analisis biaya produksi, analisis modal usaha tani, analisis keuntungan, analisis titik impas (*break even point*), dan lain-lain. Semua perhitungan di dalam analisis ini berdasarkan satuan unit usaha dan masa pembenihan satu periode (siklus pembenihan). Asumsi lain yang digunakan adalah usaha tani dilakukan dengan sistem monokultur dan kegiatan usaha berorientasi pada pasar komersial.

Sifat analisis ini adalah tidak tetap, artinya semua harga yang ditentukan di dalam analisis ini akan sangat dipengaruhi oleh waktu dan kondisi pasar, perbedaan iklim dan hal-hal yang menyangkut kondisi lahan. Oleh karena itu analisis usaha tani ini merupakan suatu contoh perhitungan.

Sebelum memutuskan untuk memulai suatu kegiatan bisnis usaha tani pembenihan kelapa sawit dan durian, maka perhitungan untung (atau rugi) dan kemungkinan terjadinya kegagalan merupakan faktor utama yang selalu menjadi bahan pertimbangan. Secara umum, suatu kegiatan usaha tani dapat dikatakan berhasil dalam segi finansial apabila dapat menunjukkan hal-hal sebagai berikut : (a) usaha tani tersebut menghasilkan penerimaan yang dapat menutup semua biaya atau pengeluarannya; (b) usaha tani tersebut menghasilkan penerimaan tambahan untuk membayar bunga modal yang dipakai, baik modal sendiri maupun modal

yang dipinjam dari pihak lain; dan (c) usaha tani tersebut memberikan jasa pengelolaan yang wajar kepada pelaku usaha tani tersebut.

Tinggi rendahnya biaya suatu usaha tani ditentukan oleh besarnya skala usaha dan efisiensi penggunaan modal, tenaga kerja, alat-alat serta sarana produksi. Biaya usaha tani meliputi semua ongkos-ongkos yang merupakan pengorbanan dalam pengadaan input produksi. Secara umum biaya dikelompokkan kepada biaya tetap dan biaya variabel. Unsur biaya tetap terdiri dari sewa lahan, pajak dan lain-lain. Sedangkan unsur-unsur dalam biaya variabel meliputi sarana produksi, tenaga kerja dan lain-lain. Biaya variabel ini berhubungan langsung dengan jumlah produk yang dihasilkan atau yang akan dihasilkan. Besar kecilnya produk yang dihasilkan akan sangat bergantung dari biaya variabel yang dikeluarkan. Sebagai contoh, jika produk yang dihasilkan adalah jumlah polibag yang diisi dan dengan media tanam dan benih, maka semakin banyak tenaga kerja dikerahkan untuk mengisi polibag maka hasilnya pun akan semakin tinggi. Dalam pengolahan tanah biaya variabel adalah jumlah ongkos yang dikeluarkan untuk mengolah sejumlah luasan lahan, baik menggunakan tenaga kerja maupun dengan traktor. Dengan demikian biaya variabel mengandung makna bahwa jumlah biaya akan bervariasi tergantung dari skala usaha yang dijalankan. Jika usaha dihentikan, praktis biaya ini menjadi nol.

Dalam analisis ini biaya variabel terdiri dari biji siap tanam, polibag, tenaga kerja, pupuk dan obat-obatan. Komponen biaya tetap terdiri dari biaya yang dikeluarkan untuk mendapatkan lahan (sewa lahan). Pengertian biaya

tetapi ini adalah bahwa biaya tersebut tetap saja dikeluarkan walaupun proses produksi tidak dijalankan. Sewa lahan tetap menjadi beban pengusaha walaupun pengusaha tersebut tidak menjalankan kegiatannya.

### 11.1. Analisis usaha pembenihan tanaman

Untuk menilai kinerja atau performa suatu usaha, secara sederhana dapat dilakukan analisis perbandingan berbagai komponen biaya, pendapatan, dan keuntungan. Beberapa contoh analisis perbandingan tersebut, biasanya dinamakan ratio, adalah B/C rasio, R/C ratio, Break even point analysis (BEP), return on investment (ROI), return on assets (ROA) dan sebagainya.

#### a. Analisis B/C ratio

B/C ratio (benefit/cost) merupakan perbandingan antara keuntungan yang didapatkan dibandingkan dengan biaya yang dikeluarkan. Keuntungan merupakan selisih yang diperoleh dari pendapatan (hasil penjualan) dikurangi biaya-biaya. Komponen biaya yang dijadikan pembanding biasanya adalah biaya produksi, yaitu biaya yang dikeluarkan untuk menghasilkan barang. B/C ratio ini biasanya dilakukan untuk menilai kinerja keuangan dari suatu usaha pada tiap kali siklus produksi. Analisis ini menunjukkan seberapa besar suatu usaha menghasilkan keuntungan.

#### b. Analisis R/C ratio

Disamping B/C ratio, kinerja keuangan sejenis yang biasa dapat digunakan adalah R/C ratio (revenue/cost). Ratio ini menggambarkan kemampuan penerimaan usaha. Suatu usaha dapat memiliki R/C ratio = 1 jika jumlah penerimaan sama dengan jumlah biaya yang dikeluarkan. Usaha yang baik

tentunya harus mendapatkan R/C ratio yang lebih besar dari 1, artinya usaha tersebut mendapatkan margin positif (keuntungan).

#### c. Analisis ROI

Selanjutnya, analisis ROI (return on investment) yaitu perbandingan antara keuntungan (return) dengan besarnya investasi yang telah dikeluarkan. Analisis ini menunjukkan kemampuan usaha untuk mengembalikan investasi yang telah dikeluarkan oleh si pemilik usaha. Rasio ini biasanya dinyatakan dalam persen (%). Sedangkan analisis ROA (return on assets) adalah perbandingan antara keuntungan (return) dibandingkan dengan nilai asset usaha (aktiva). Ratio ini menggambarkan kemampuan usaha untuk membiayai pengadaan asset usaha.

#### d. Analisis BEP

Analisis titik impas, biasanya disebut sebagai analisis BEP (break even point). Titik impas adalah suatu keadaan dimana suatu usaha tidak mendapatkan keuntungan, tetapi tidak pula menderita kerugian. Nilai-nilai yang berada di bawah titik impas menunjukkan bahwa usaha mengalami kerugian. Oleh karena itu, setiap usaha harus mampu melebihi titik impasnya. Titik impas sendiri dapat dinyatakan dalam jumlah rupiah pendapat yang harus diperoleh atau dalam jumlah unit barang yang harus dihasilkan agar suatu usaha tidak mengalami kerugian.

Analisis B/C ratio, R/C ratio dan BEP umumnya dapat diterapkan dalam setiap siklus produksi, sedangkan analisis ROI dan ROA umumnya dilakukan untuk satu periode tahun anggaran.

Dalam lanjutan analisis terlihat bahwa kelayakan usaha untuk B/C ratio kelapa sawit menunjukkan nilai 1,31 sedangkan B/C rasio untuk pembenihan durian adalah 1,30 yang berarti bahwa

manfaat yang diterima dalam satu musim tanam lebih besar dari biaya yang dikeluarkan. Artinya usaha ini secara sederhana dapat dikatakan layak untuk dijalankan. Untuk analisis R/C ratio atau besarnya perbandingan laba terhadap biaya produksi. Jika seluruh laba digunakan untuk membayar modal usaha tani, dalam analisis ini ditunjukkan dalam analisis ROI (return on investment) maka seluruh modal akan dapat dibayar dalam dua kali musim pembenihan. Analisis titik impas yang menunjukkan titik dimana terjadi pulang modal, yaitu kondisi dimana usaha tani belum menunjukkan laba tetapi tidak merugi dapat dicapai pada tingkat produksi sebesar 86.533 benih kelapa sawit dan 6.518 benih durian dengan kondisi layak jual. Oleh karena itu jika petani dapat menghasilkan benih kelapa sawit dan durian lebih dari tingkat produksi tersebut maka petani diharapkan dapat meraih keuntungan.

Pada contoh perhitungan analisis usaha tani pembenihan kelapa sawit dan durian akan dihitung B/C dan R/C.

### 11.2. Contoh perhitungan analisis usaha pada kelapa sawit.

Sebelum menghitung analisis usaha kelapa sawit, harus difahami terlebih dahulu tentang peluang pemasaran, sumberdaya manusia yang dibutuhkan, teknik budidaya, teknik pengepakan/pengemasan, distribusi dan pelayanan purna jual.

Berikut ini akan diinformasikan tentang berbagai faktor yang terkait dengan teknik budidaya di pembenihan kelapa sawit.

**Kelapa sawit** (*Elaeis* sp.) adalah tumbuhan industri penting penghasil minyak goreng (*palm oil*), minyak industri, maupun bahan bakar (biodiesel). Perkebunannya menghasilkan

keuntungan yang besar sehingga banyak hutan dan perkebunan lama dikonversi menjadi perkebunan kelapa sawit. Indonesia adalah penghasil minyak kelapa sawit kedua dunia setelah Malaysia, namun proyeksi pada masa yang akan datang, diperkirakan bahwa pada tahun 2009 Indonesia akan menempati posisi pertama.

Di [Indonesia](#) penyebaran kelapa sawit berada di daerah [Aceh](#), pantai timur [Sumatra](#), Jawa, dan Sulawesi.

Kelapa sawit berbentuk [pohon](#). Tingginya dapat mencapai 24 meter. [Akar serabut](#) tanaman kelapa sawit mengarah ke bawah dan samping. Selain itu juga terdapat beberapa akar napas yang tumbuh mengarah ke samping atas untuk mendapatkan tambahan aerasi.

Bunga jantan dan betina terpisah namun berada pada satu pohon (*monoecious diclin*) dan memiliki waktu pematangan berbeda sehingga sangat jarang terjadi penyerbukan sendiri. Bunga jantan memiliki bentuk lancip dan panjang sementara bunga betina terlihat lebih besar dan mekar.

Tanaman sawit dengan tipe cangkang pisifera bersifat *female steril* sehingga sangat jarang menghasilkan tandan buah dan dalam produksi benih unggul digunakan sebagai tetua jantan. Buah sawit mempunyai warna bervariasi dari hitam, ungu, hingga merah tergantung bibit yang digunakan. Buah bergerombol dalam tandan yang muncul dari tiap pelapah. Minyak dihasilkan oleh buah. Kandungan minyak bertambah sesuai kematangan buah. Setelah melewati fase matang, kandungan asam lemak bebas (FFA, *free fatty acid*) akan meningkat dan buah akan rontok dengan sendirinya.

#### a. Syarat Tumbuh

Kelapa sawit berkembang biak dengan cara generatif. Buah sawit matang pada kondisi tertentu embrionya akan berkecambah menghasilkan tunas (plumula) dan bakal akar (radikula). Habitat untuk kelapa sawit adalah daerah semak belukar. Sawit dapat tumbuh dengan baik di daerah tropis (15° LU - 15° LS). Tanaman ini tumbuh sempurna di ketinggian 0-500 m dari permukaan laut dengan kelembaban 80-90%. Sawit membutuhkan iklim dengan curah hujan stabil, 2000-2500 mm setahun

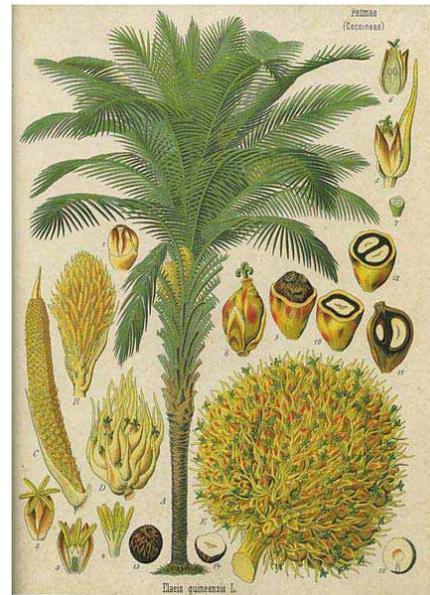
Kelapa sawit memiliki banyak jenis, berdasarkan ketebalan cangkangnya kelapa sawit dibagi menjadi \*Dura, Pisifera, dan Tenera.

Dura merupakan sawit yang buahnya memiliki cangkang tebal sehingga dianggap memperpendek umur mesin pengolah namun biasanya tandan buahnya besar-besar dan kandungan minyak pertandannya berkisar 18%. Pisifera buahnya tidak memiliki cangkang namun bunga betinanya steril sehingga sangat jarang menghasilkan buah. Tenera adalah persilangan antara induk Dura dan Pisifera. Jenis ini dianggap bibit unggul sebab melengkapi kekurangan masing-masing induk dengan sifat cangkang buah tipis namun bunga betinanya tetap fertil. Beberapa tenera unggul persentase daging per buahnya dapat mencapai 90% dan kandungan minyak pertandannya dapat mencapai 28%.

Untuk pembibitan massal, digunakan teknik kultur jaringan.

Kelapa sawit berbentuk pohon. Kelapa sawit hanya dapat tumbuh di daerah tropis. Tingginya dapat mencapai 24 meter. Akar serabut. Bunga jantan dan betina terpisah namun berada pada satu pohon (*monoecious diclin*) dan memiliki

waktu pematangan berbeda sehingga sangat jarang terjadi penyerbukan sendiri.



Gambar 11.1 .  
Struktur tubuh dan berbagai organ kelapa sawit.

Bunga jantan memiliki bentuk lancip dan panjang sementara bunga betina terlihat lebih besar dan mekar.

Tanaman sawit dengan tipe cangkang pisifera bersifat *female steril* sehingga sangat jarang menghasilkan tandan buah dan dalam produksi benih unggul digunakan sebagai tetua jantan. Kelapa sawit berkembang biak dengan cara generatif. Buah sawit matang pada kondisi tertentu embrionya akan berkecambah menghasilkan tunas (plumula) dan bakal akar (radikula).

Habitat aslinya adalah daerah semak belukar. Sawit dapat tumbuh dengan baik di daerah tropis (15° LU - 15° LS). Tanaman ini tumbuh sempurna di ketinggian 0-500 m dari permukaan laut dengan kelembaban 80-90%. Sawit membutuhkan iklim dengan curah hujan

stabil, 2000-2500 mm setahun, yaitu daerah yang tidak tergenang air saat hujan dan tidak kekeringan saat kemarau. Kelapa sawit memiliki banyak jenis, berdasarkan ketebalan cangkangnya kelapa sawit dibagi menjadi \*Dura, Pisifera, dan Tenera.

Dura merupakan sawit yang buahnya memiliki cangkang tebal sehingga dianggap memperpendek umur mesin pengolah namun biasanya tandan buahnya besar-besar dan kandungan minyak pertandannya berkisar 18%. Pisifera buahnya tidak memiliki cangkang namun bunga betinanya steril sehingga sangat jarang menghasilkan buah. Tenera adalah persilangan antara induk Dura dan Pisifera. Jenis ini dianggap bibit unggul sebab melengkapi kekurangan masing-masing induk dengan sifat cangkang buah tipis namun bunga betinanya tetap fertil. Beberapa tenera unggul persentase daging per buahnya dapat mencapai 90% dan kandungan minyak pertandannya dapat mencapai 28%.

Benih kelapa sawit mengalami masa dormansi yang cukup panjang. Diperlukan aerasi yang baik dan temperatur yang tinggi untuk memutuskan masa dormansi agar bibit dapat berkecambah. Pada proses perkecambahan diperlukan kelembaban 60-80% dengan temperatur 35°C. Curah hujan tahunan antara 1.500-4.000 mm, optimal 2.000-3.000 mm/tahun.

#### **b. Media Tanam**

Tanah yang baik untuk budidaya kelapa sawit harus mengandung banyak lempung, beraerasi baik dan subur. Tanah Latosol, Ultisol dan Aluvial yang meliputi tanah gambut,

dapat dijadikan media pembibitan kelapa sawit. Tanah memiliki derajat keasaman (pH) antara 4-6. Ketinggian tempat yang ideal bagi pembenihan kelapa sawit adalah antara 1-400 m dpl.

#### **c. Pembibitan**

Pembibitan tanaman kelapa sawit dapat dilakukan dengan cara generatif dan saat ini sudah dilakukan kultur jaringan untuk memperbanyak benih kelapa sawit.

#### **d. Persyaratan benih**

Benih-benih yang dihasilkan oleh produsen resmi ini mempunyai kualitas sangat baik ini berasal dari induk jelas asal usulnya seperti Delidura dan bapak Pisifera.

#### **e. Pengecambahan benih**

Tangkai buah dilepaskan dari spikeletnya. Tandan buah diperam selama tiga hari dan sekali-sekali disiram air. Pisahkan buah dari tandannya dan peram lagi selama 3 hari. Masukkan buah ke mesin pengaduk untuk memisahkan daging buah dari biji. Cuci biji dengan air dan masukkan kedalam larutan Dithane M-45 0,2% selama 3 menit. Keringkan dan seleksi untuk memperoleh biji yang berukuran seragam Semua benih disimpan di dalam ruangan bersuhu 27°C dan kelembaban 60-70% sebelum dikecambahkan.

#### **f. Teknik pembibitan .**

Rendam biji dalam air selama 6 – 7 hari dan ganti air tiap hari, lalu rendam dalam larutan Dithane M - 45 0,2% selama 2 menit. Biji dikeringanginkan.

Masukan biji kedalam kaleng pengecembahan dan tempatkan dalam ruangan dengan temperatur 39°C dan kelembaban 60 – 70% selama 60 hari. Setiap 7 hari benih dikeringanginkan selama 3 menit.

Setelah 60 hari rendam benih dalam air sampai kadar air 20 – 30% dan dikeringanginkan lagi. Masukkan biji ke dalam larutan Dithane M – 45 0,2% selama 1 – 2 menit. Simpan benih diruangan bersuhu 27°C. Setelah 10 hari benih berkecambah pada hari ke 30 tidak digunakan lagi.

Terdapat dua teknik pembibitan yaitu (1) cara dua tahap melalui dederan (prenursery) dan (2) cara langsung tanpa dederan. Lahan pembibitan dibersihkan, diratakan dan dilengkapi dengan instalasi penyiraman. Jarak tanam biji dipembibitan adalah 50 x 50 cm, 60 x 60 cm, 65 x 65 cm, 70 x 70 cm, 80 x 80 cm, 85 x 85 cm, 90 x 90 cm atau 100 x 100 cm dalam bentuk segitiga sama sisi. Kebutuhan bibit per hektar antara 12.500 sampai 25.000 butir.

#### 1). **Cara tak langsung**

Kecambah dimasukkan ke dalam polybag 12 x 23 cm atau 15 x 23 cm berisi 1,5 – 2,0 kg tanah lapisan atas yang telah diayak. Kecambah di tanam sedalam 2 cm. Tanah di polybag harus selalu lembab. Simpan polybag dibedengan dengan diameter 120 cm. Setelah berumur 3 – 4 bulan dan berdaun 4 – 5 helai bibit dipindah

tanamkan ke pembibitan. Bibit dari dederan dipindahkan ke dalam polybag 40 x 50 cm atau 45 x 60 cm setebal 0,1 mm yang berisi 15 – 30 kg tanah lapisan atas yang diayak. Sebelum bibit ditanam, siram tanah di dalam polybag sampai lembab. Polybag disusun diatas lahan yang telah diratakan dan diatur dalam posisi segitiga sama sisi dengan jarak seperti disebutkan diatas.

#### 2). **Cara langsung**

Kecambah langsung ditanam di dalam polybag ukuran besar seperti pada cara pembibitan. Cara ini menghemat tenaga dan biaya.

#### d. **Pemeliharaan pembibitan**

Pemeliharaan dilakukan pada bibit di dederan dan di pembibitan. Penyiraman dilakukan dua kali sehari kecuali jika ada hujan lebih dari 7 – 8 mm. Kebutuhan air sekitar 2 liter untuk setiap polybag. Gulma dibuang/dicabut atau disemprot herbisida setiap 3 bulan. Penyiangan dilakukan 2 – 3 kali dalam sebulan atau disesuaikan dengan pertumbuhan gulma. Cara lain mencegah gulma adalah menaburkan serasah di polybag. Bibit yang tumbuh abnormal, berpenyakit dan mempunyai kelainan genetik harus dibuang. Seleksi dilakukan pada saat berumur 4 dan 9 bulan. Pemupukan dilakukan berapa kali selama masa pembibitan dan diberikan dalam larutan urea atau pupuk majemuk (Tabel 11.1.).

Tabel 11.1. Jumlah Kebutuhan Pupuk Untuk Benih Kelapa Sawit.

Standar	jumlah		Harga pupuk		Penggunaan Pupuk.	jumlah		Harga pupuk	
	Kebutuhan	Per Tanaman	Per 1000 Tan.			kebutuhan	Per Tan,	Per 1000 Tanaman	
NPKMg (15.15.6.4)	50 gr	122,50	122.500,00		NPKMg (15.15.6.4)	25 gr	61,25	61.250,00	
NPKMg (12.12.17.2)	230 gr	563,50	563.500,00		NPKMg (12.12.17.2)	115 gr	281,75	281.750,00	
Kiserit	55 gr	77,00	77.000,00		Kiserit	27,50 gr	36,67	36.666,67	
T. kerja (NPKMg)	20 times	73,33	73.333,33		Man Power (NPKMg)	10 kali	36,67	36.666,67	
OST Rajawali gram	0	0,00	0,00		OST Rajawali 50 grams	50 gr	125,00	125.000,00	
T. kerja (OST Rajawali)		0,00	0,00		Man Power (OST Rajawali)	1 kali	3,67	3.666,67	
<b>Biaya Total</b>		<b>836,83</b>	<b>836.333,33</b>		<b>Total Cost</b>		<b>546,83</b>	<b>546.833,33</b>	

Pemupukan dilakukan pada umur bibit 4 – 5 minggu larutan urea 0,2%, 3 – 4 liter larutan/100 bibit dalam satu minggu rotasi. Umur bibit 6 – 7 larutan urea 0,2%, dosis 4 – 5 liter larutan/100 bibit dalam satu minggu rotasi. Umur bibit 8 – 16 minggu ; rustica 15.15.6.4 dosis 1 gram/bibit dalam 2 minggu rotasi. Umur bibit 17 – 20 minggu, rustica 12.12.17.2 dosis 5 gram/bibit dalam 2 minggu rotasi. Umur bibit 21 – 28 minggu, rustica 12.12.17.2 dosis 8 gram/bibit dalam 2 minggu rotasi. Umur bibit 29 – 40 minggu, rustica 12.12.17.2 dosis 15 gram/bibit dalam 2 minggu rotasi. Umur bibit 41 – 48 minggu, rustica 12.12.17.2 dosis 17 gram/bibit dalam 2 minggu rotasi.

## g. Hama dan Penyakit

### 1) Nematoda.

Penyebabnya adalah nematoda rhadinaphelenchus cocophilus. Bagian yang diserang adalah akar. Gejala yang ditimbulkan adalah : pusat mahkota mengerdil, daun baru tergulung dan tegak, daun berubah warna menjadi kuning dan mengering, tandan buah menjadi busuk. Pengendalian : dengan meracuni pohon dengan natrium arsenit dan setelah mati dibongkar dan dibakar.

### 2) Tunggau

Penyebab : Tunggau Merah (Oliganycus). Bagian yang diserang adalah daun. Gejala : daun menjadi mengkilap dan daun berwarna bronz. Pengendalian menggunakan aktrisida tetradifon 0,1 – 0,2%.

### 3) Ulat Setora

Penyebab setora nitens. Bagian yang diserang adalah daun. Gejala : daun dimakan sehingga yang tersisa hanya lidinya saja. Pengendalian menggunakan insektisida Hosation 25 UI.V, sevin 85 ES, Dursban 20 EC pada konsentrasi 0,2 – 0,3%.

#### 4) Oil Palm Bunch Moth.

Penyebab Tiorathaba mudella. Bagian yang diserang adalah buah muda dan kadang-kadang tandan buah. Gejala : buah muda berlubang, tandan buah busuk. Pengendalian menggunakan insektisida dipteres/thiodam (0,55 kg/370 liter air). Selain itu dilakukan pemberantasan biologi dengan parasit tabuhan dan lalat parasit.

#### 5) Kumbang Oryctes.

Penyebab oryctes rhynoceros. Bagian yang diserang adalah titik tumbuh, bakal daun. Gejala daun seperti terpotong gunting; pada serangan berat serangga akan mati. Pengendalian peningkatan sanitasi dan pemberantasan biologi dengan parasit jamur.

#### 6) Babi hutan dan tikus.

Babi hutan dan tikus biasanya menyerang tanaman kelapa sawit yang masih muda. Untuk hama tikus biasanya pengendalian dilakukan dengan menggunakan/memelihara burung hantu.

#### h. Penyakit

##### 1) Root Blast.

Penyebab : rhizoctonia lamcllifera dan Phythium Sp. Bagian yang diserang

adalah akar. Gejala : bibit persemaian mati mendadak. Tanaman dewasa layu dan mati. Selain itu terlihat adanya pembusukan akar. Pengendalian : pembuatan persemai yang baik, pemberian air irigasi di musim kemarau, pengendalian bibit lebih dari 11 bulan.

##### 2) Garis Kuning.

Penyebab fusarium oxysporum. Bagian yang diserang adalah daun. Gejala : bulatan oval berwarna kuning pucat mengelilingi warna coklat pada daun, daun mengering. Pengendalian inokulasi penyakit pada bibit dan tanaman muda.

##### 3) Dry Basal Rot.

Penyebab ceratocytis paradoxa. Bagian yang diserang adalah batang. Gejala : pelepah mudah patah, daun membusuk dan kering, daun muda mati dan kering. Pengendalian adalah dengan menanam bibit yang telah di inokulasi.

Asumsi yang digunakan dalam penghitungan analisis usaha kelapa sawit adalah sebagai berikut:

- Semua harga dalam rupiah
- Hari Orang Bulan sebesar Rp. 1.000.000,-
- Hari orang kerja sebesar Rp.20.000 per hari
- Harga satu benih kelapa sawit adalah sebesar Rp.350,00
- Harga alat dan mesin untuk berbagai kegiatan pembenihan merupakan harga perkiraan
- Perkiraan Harga pupuk dan pestisida mengacu pada tahun 2000-2005 dari PT Rajawali
- Harga benih kelapa sawit Rp. 12.000,-

Tabel 11.2. Analisis Usaha Pembenuhan Kelapa Sawit Seluas 20 Hektar

No	Kegiatan	Kebutuhan Tenaga Kerja / Sarana	Satuan	Harga Satuan (Rp)	Jumlah (Rp)
	Sewa Lahan	10	Hektar	2,000,000.00	20,000,000.00
	Persiapan lahan pembenuhan	10	unit	500,000.00	5,000,000.00
	Pembangunan bedengan dan naungan	1	unit	75,000,000.00	75,000,000.00
	Membangun gudang	1	unit	20,000,000.00	20,000,000.00
	Memasang instalasi air	1	unit	50,000,000.00	50,000,000.00
	Mengisi dan menyusun baby-bag	200,000.00	unit	100.00	20,000,000.00
	Menanam kecanbah	200,000.00	unit	100.00	20,000,000.00
	Perawatan semai	72	HOB	100,000.00	7,200,000.00
	- Penyiraman	36	HOB	100,000.00	3,600,000.00
	- Pemupukan	4,000.00	HOK	20,000.00	80,000,000.00
	- Pengendalian HP	72	HOB	1,000,000.00	72,000,000.00
	- Pengendalian gulma	72	HOB	1,000,000.00	72,000,000.00
	- Seleksi semai	18	HOB	1,000,000.00	18,000,000.00
	- Pengisian dan penyusunan polybag	1,250.00	HOK	20,000.00	25,000,000.00
	- transplanting	72	HOB	1,000,000.00	72,000,000.00
	- Penyiraman	36	HOB	1,000,000.00	36,000,000.00
	- Seleksi bibit	36	HOB	1,000,000.00	36,000,000.00
	- Pemanenan	200	HOK	20,000.00	4,000,000.00
	<b>Penyediaan Sarana</b>				
	Pembelian mesin pompa	1	UNIT	10,000,000.00	10,000,000.00
	pembangunan sumber air/menara	1	UNIT	10,000,000.00	10,000,000.00
	Pembelian polybag	100	KG	26,000.00	2,600,000.00
	Pembelian benih generatif	400,000.00	BUAH	400.00	160,000,000.00
	Kendaraan proyek	1	unit	50,000,000.00	50,000,000.00
	Pupuk	200000	tan	500	100,000,000.00
	Pestisida	200000	tan	350	70,000,000.00
	Biaya produksi				1,038,400,000.00
	Harga jual	200000	12000		2,400,000,000.00
	B/C				1.31
	R/C				2.31
	Perkiraan keuntungan/periode pembenuhan (12 bulan)				1,361,600,000.00

### **11.3. Analisis usaha pembenihan durian**

Berbagai teknik dan trik dalam proses okulasi telah diinformasikan dengan jelas pada BAB 3

Benih hasil okulasi memungkinkan untuk dijadikan usaha yang menguntungkan di bidang pertanian. Adapun analisis usaha pembenihan durian secara okulasi dibahas pada Tabel 11.3.

Tabel 11.2. Analisis Usaha Pembenuhan Durian Okulasi Sebanyak 10.000 Tanaman

No	Kegiatan	Kebutuhan Tenaga Kerja / Sarana	Satuan	Harga Satuan (Rp)	Jumlah (Rp)
1	Sewa lahan	1	1000 m2	3,000,000.00	3,000,000.00
2	Pembuatan pembibitan	20	HOK	25,000.00	500,000.00
3	Penyiapan media semai	5	HOK	25,000.00	125,000.00
4	Pengisian polybag	50	HOK	25,000.00	1,250,000.00
5	Penyemaian	20	HOK	25,000.00	500,000.00
6	Okulasi	100	HOK	50,000.00	5,000,000.00
7	Pemeliharaan bibit	500	HOK	25,000.00	12,500,000.00
8	Biji durian	10	Biji	100.00	1,000.00
9	polybag	50	Kg	24,000.00	1,200,000.00
10	Pupuk kandang	100	karung	4,000.00	400,000.00
11	tali rafia	1	gulung	50,000.00	50,000.00
12	mata entres	20000	buah	100.00	2,000,000.00
13	Pupuk dan pestisida	10000	unit	500.00	5,000,000.00
14	Pisau okulasi	5	buah	1,000,000.00	5,000,000.00
15	gunting stek	5	buah	100,000.00	500,000.00
16	cangkul	1	buah	50,000.00	50,000.00
17	gembor	1	buah	30,000.00	30,000.00
18	<b>Pemasaran</b>	1	paket	2,000,000.00	2,000,000.00
	Biaya produksi				39,106,000.00
	Harga benih durian: (asumsi SR benih 60%)	6,000	Tanaman	15,000	90,000,000.00
	Perkiraan keuntungan				<b>50,894,000.00</b>
	B/C				<b>1.30</b>
	R/C				<b>1.77</b>

## Ringkasan

Setelah mempelajari BAB 11. siswa telah mampu menguasai kompetensi menganalisis usaha pembenihan tanaman.

Menghitung biaya produksi	Menghitung pendapatan
Biaya produksi adalah semua komponen biaya yang terdiri dari biaya bahan baku, tenaga kerja dan kemasan,	Menghitung pendapatan berfungsi untuk memperkirakan seluruh pendapatan dari satu kali periode produksi suatu barang / jasa. Penghitungan dilakukan dengan cara mengalikan jumlah unit barang/ produk yang dihasilkan dengan harga jual produk/barang/ jasa.
Menentukan B/C	Menghitung BEP
B/C rasio adalah perbandingan antara laba dengan biaya total yang dikeluarkan.	BEP adalah titik inpas dimana usaha tidak mangalami kerugian maupun keuntungan. Satuan BEP dapat digunakan dalam bentuk analisis keuangan atau jumlah unit minimal yang harus diproduksi agar usaha tidak merugi.
Contoh perhitungan B/C, R/C, dan BEP pembeniha kelapa sawit dan durian	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Contoh penghitungan B/C, R/C dan BEP kelapa sawit</li> <li>• Contoh penghitungan B/C, R/C dan BEP kelapa sawit</li> </ul>	

SOAL:

1. Jelaskan tentang biaya produksi dari unit produksi pembenihan di sekolah
2. Hitung B/C, R/C dan BEP unit produksi pembenihan salah seorang penangkar benih yang saudara kenal.
3. jelaskan keuntungan dari masing-masing teknik analisis usaha B/C dan BEP

TUGAS:

1. Lakukan observasi harga terkini dari analisis usaha kelapa sawit dan durian.
2. Lakukan analisis terhadap biaya produksi kelapa sawit dan durian sesuai dengan karakteristik usaha yang terdapat di lingkungan sekolah.

ISBN 978-979-060-105-5  
ISBN 978-979-060-107-9

Buku ini telah dinilai oleh Badan Standar Nasional Pendidikan (BSNP) dan telah dinyatakan layak sebagai buku teks pelajaran berdasarkan Peraturan Menteri Pendidikan Nasional Nomor 45 Tahun 2008 tanggal 15 Agustus 2008 tentang Penetapan Buku Teks Pelajaran yang Memenuhi Syarat Kelayakan untuk digunakan dalam Proses Pembelajaran.

HET (Harga Eceran Tertinggi) Rp. 16.610,00