

PRAKTEK KERJA LAPANGAN
DI UNIT PELAYANAN TEKHNIS BALAI INDUK
HORTIKULTURA GEDUNG JOHOR DINAS PERTANIAN
PROVINSI SUMATERA UTARA

LAPORAN

OLEH:

- | | |
|---------------------------------|--------------------|
| 1. SAKINAH NASUTION | 12 821 0048 |
| 2. ZURAIDAH | 12 822 0005 |
| 3. ZULFAN ARIF DALIMUNTE | 11 821 0025 |



PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI

FAKULTAS PERTANIAN

UNIVERSITAS MEDAN AREA

MEDAN

2015

PRAKTEK KERJA LAPANGAN
DI UNIT PELAYANAN TEKHNIS BALAI INDUK
HORTIKULTURA GEDUNG JOHOR DINAS PERTANIAN
PROVINSI SUMATERA UTARA

LAPORAN

OLEH:

- | | |
|---------------------------------|--------------------|
| 1. SAKINAH NASUTION | 12 821 0048 |
| 2. ZURAIDAH | 12 822 0005 |
| 3. ZULFAN ARIF DALIMUNTE | 11 821 0025 |



PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI

FAKULTAS PERTANIAN

UNIVERSITAS MEDAN AREA

MEDAN

2015

HALAMAN PENGESAHAN

LAPORAN

PRAKTEK KERJA LAPANGAN DI UNIT PELAYANAN TEKHNIS
BALAI INDUK HORTIKULTURA GEDUNG JOHOR DINAS
PERTANIAN PROVINSI SUMATERA UTARA

Diterima sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana
pertanian pada program Studi Agroteknologi/Agribisnis Fakultas Pertanian
Universitas Medan Area

Menyetujui

Dosen Pembimbing lapangan



Ir. Azwana, MP

Pembimbing Laboratorium

UPT. BIH Gedung Johor



Ir. Nuriman Tambunan

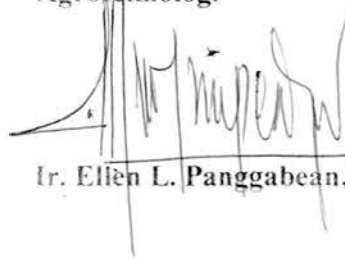
Mengetahui

Dekan Fakultas Pertanian
Universitas Medan Area



Dr. Ir. Sahbudin Hasibuan, MSi

Ketua Program Studi
Agroteknologi



Ir. Ellen L. Panggabean, MP

PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS MEDAN AREA

2015

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas berkat dan perlindungannya sehingga penulisan laporan ini dapat diselesaikan dengan baik.

Tulisan ini berisikan laporan Praktek Kerja Lapangan (PKL) yang merupakan salah satu syarat memperoleh gelar sarjana di Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Medan Area yang dilaksanakan pada tanggal 03 Agustus 2015 di UPT. BIH GEDUNG JOHOR DI DINAS PERTANIAN PROVINSI SUMATERA UTARA.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan banyak terimakasih kepada:

1. Ibu Ir. Azwana, MP sebagai dosen pembimbing atas petunjuk dan bimbingannya.
2. Bapak Dr.Ir. Syahbuddin, M.Si, selaku Dekan di Fakultas Pertanian, Universitas Medan Area yang memberi petunjuk untuk menyelesaikan laporan Praktek Kerja Lapangan.
3. Ibu Ir. Ellen L Panggabean ,MSi, selaku ketua Program Studi Agroteknologi yang memberikan arahan menyelesaikan laporan Praktek Kerja Lapangan.
4. Ibu Ir. Yusniati Lubis, MSi, Kepala UPT. BIH Gedung Johor selaku kuasa pengguna anggaran yang telah memberikan izin lokasi untuk pelaksanaan Praktek Kerja Lapangan.
5. Bapak Supriadi.Bsc yang senantiasa membimbing dan memberikan arahan dilapangan.

6. Bapak dan Ibu Staf UPT.BIH Gedung Johor Dinas Pertanian Provinsi Sumatera Utara.

7. Kedua Orang Tua kami yang selalu mendukung dan memotivasi kepada kami setiap hari.

Semoga tulisan ini bermanfaat bagi semua pihak yang membutuhkannya. Tulisan ini masih jauh dari sempurna, untuk itu penulis menerima kritik dan saran yang membangun. Sekian dan terimakasih.

Medan, Oktober 2015
Penulis

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN	i
KATA PENGANTAR.....	ii
DAFTAR ISI.....	iii
DAFTAR LAMPIRAN.....	iv
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Tujuan dan Manfaat.....	1
1.3. Tempat dan Waktu Pelaksanaan.....	2
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1. Sejarah Singkat dan Lokasi UPT-BIH Gedung Johor Medan ...	3
2.2. Bidang dan Skala Kerja UPT-BIH Gedung Johor Medan.....	4
2.3. Manajemen dan Struktur Organisasi UPT-BIH Johor	5
2.4. Proses Kerja Secara Umum	8
BAB III. METODE KERJA.....	10
3.1. Waktu dan Tempat	10
3.2. Ruang Lingkup Kerja	10
3.3. Alat dan Bahan.....	10
3.4. Metode dan Proses Kerja.....	11
BAB IV. URAIAN KEGIATAN.....	14
4.1. Deskripsi Teknik Kultur Jaringan	14
4.2. Tahap kegiatan kultur jaringan	17

4.3. Preparasi Alat dan Bahan	18
4.4. Sterilisasi.....	19
4.5. Subkultur	23
4.6. Multiplikasi	24
4.7. Aklimatisasi	24
4.8. Kultur Jaringan Anggrek (Dendrobium sp).....	24
4.9. Kultur Jaringan Krisan	29
4.10. Kultur Jaringan Pisang	34
4.11. Metode dan Proses Kerja Di Lapangan (Pembibitan).....	39
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	44
5.1. Kesimpulan	44
5.2. Saran.....	45
DAFTAR PUSTAKA.....	46
LAMPIRAN	

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Praktek Kerja Lapangan merupakan salah satu bentuk implementasi secara sistematis dan sinkron antara program pendidikan di perkuliahan dengan program penguasaan keahlian yang diperoleh melalui kegiatan kerja secara langsung didunia kerja untuk mencapai tingkat keahlian tertentu. Disamping dunia usaha, Praktek Kerja Lapangan (PKL) dapat memberikan keuntungan pada pelaksanaan itu sendiri yaitu di perkuliahan, karena keahlian yang tidak diajarkan di perkuliahan bisa didapat didunia usaha sehingga dengan adanya praktek kerja lapangan dapat meningkatkan mutu yang dapat diarahkan untuk mrngembangkan suatu sistem yang mantap antara dunia pendidikan dan perusahaan.

Pelaksanaan PKL ini bertujuan agar para mahasiswa mendapatkan , perngalaman serta kemampuan, keterampilan, membentuk jiwa kepemimpinan, serta melatih untuk berjiwa wiraswasta dan mempermudah untuk mendapatkan lapangan pekerjaan.

1.2. Tujuan dan Manfaat

1.2.1. Tujuan Praktek Kerja Lapangan

Tujuan dari pelaksanaan Praktek Kerja Lapangan ini adalah untuk menambah wawasan, pengetahuan, dan pengalaman kerja dibidang kultur jaringan serta dapat menguasai tehnik perbanyakan kultur jaringan. Serta proses-proses hingga tanaman tersebut di pindah tanamn ke lapangan.

1.2.2. Manfaat Praktek Kerja Lapangan

Manfaat dari Praktek Kerja Lapangan adalah yaitu mahasiswa mampu mengetahui dan menguasai tehnik perbanyakan secara invitro. Selain itu mahasiswa mendapat pengalaman kerja serta menjadi sarana untuk menerapkan ilmu pengetahuan yang selama ini dipelajari di Jurusan Agroteknologi/Agribisnis Fakultas Pertanian Universitas Medan Area.

1.3. Tempat dan Waktu Pelaksanaan

Praktek Kerja Lapangan (PKL) ini dilaksanakan di UPT-Benih Induk Hortikultura (BIH) Gedung Johor, Medan.

Waktu pelaksanaan Praktek Kerja Lapangan (PKL) ini dilaksanakan pada tanggal 03 Agustus 2015 dan diselesaikan pada tanggal 05 September 2015.

BAB II

PROFIL INSTANSI DAN MANAJEMEN

2.1. Sejarah Singkat dan Lokasi UPT-BIH Gedung Johor Medan

UPT-Benih Induk Hortikultura (BIH) Gedung Johor merupakan salah satu tempat penghasil bibit tanaman hortikultura dataran rendah yang bermutu tinggi dan merupakan salah satu Unit Pelayanan Teknik dibawah Dinas Pertanian Provinsi Sumatera Utara. BIH ini sudah ada sejak masa penjajahan dengan nama “*Land Bow*” yang kemudian diganti dengan nama kebun percobaan. *Land Bow* ini memegang peranan penting dalam pengembangan pertanian khususnya dalam aspek pengadaan bibit hortikultura yang bermutu tinggi. Kemudian, tahun 1980 berganti nama lagi menjadi Balai Benih Utama Hortikultura (BBUH). Pada tahun 1990 dibuatlah Kebun Unit untuk pengembangan budidaya buah-buahan seperti durian dan rambutan sebagai pohon induk di Desa Siguci kecamatan STM, Hilir Kabupaten Deli Serdang.

Berdasarkan surat keputusan Provinsi Sumatera Utara tahun 2002 sampai 2012, BBUH berganti status menjadi BBI, dan sekarang berubah menjadi nama BIH. BIH ini telah menghasilkan dan memasarkan bibit hortikultura bermutu tinggi. Hal ini sudah mendapat kepercayaan dari pemakai dan penangkar bibit baik di Sumatera Utara maupun diluar Sumatera Utara. Selam lima tahun terakhir UPT-BIH Gedung Johor ini sudah terbangun Laboratorium Kultur Jaringan sebanyak dua unit yang telah menghasilkan bibit sayur-sayuran (cabai (*Capsicum sp.*), kentang

varietas Granola (*Solanum tuberosum* Lcv Granola) tanaman hias (anggrek noven (*Dendrodium sp.*), anggrek bulan (*Phalaenopsis amabilis*), dan krisan (*Dendranthema sp.*) dan tanaman buah (nenas (*Ananas comocus* L. Merr), pisang barangan merah (*Musa acuminata* L.) pisang raja bulu (*Musa sp.*) pisang cavendish (*Musa cavendishii*), dan manggis (*Garcinia mangostana* L.)

UPT-BIH Johor mempunyai tiga lokasi, lokasi pertama yaitu kantor pusat yang terletak di Jalan Dr.Abdul Haris Nasution No. 20, Kecamatan Medan Johor, Medan. Lokasi kedua terletak disamping kantor pusat yang berupa kebun pembibitan sayur-sayuran, tanaman hias dan buah-buahan. Kebun Unit BIH ini memiliki luas 8 Ha yang memiliki dua jenis pohon induk seperti durian dan rambutan. Lokasi ketiga terletak di Jalan Karya Jaya No. 22 P. Masyhur, Medan yang merupakan Laboratorium Kultur Jaringan tanaman.

2.2. Bidang dan Skala Kerja UPT-BIH Gedung Johor Medan

Berdasarkan dengan surat keputusan Gubernur Sumatera Utara No. 016-452.K/Tahun 2002 tentang tugas, fungsi dan tata kerja Dinas Pertanian Sumatera Utara, UPT-BIH Gedung Johor Medan mempunyai tugas membantu Kepala Dinas Pertanian dalam kegiatan perbanyakan benih yang bermutu dan berkualitas, membina teknik Balai Benih Pembantu (BBP) dan penangkar, serta memberikan informasi ketersediaan benih hasil produksi dan pemasaran hasil produksi bibit dan bibit hasil kultur jaringan.

UPT-BIH Gedung Johor mempunyai tiga unit pengembangan skala kerja yaitu kantor pusat, kebun pembenihan dan pembibitan BIH, serta Laboratorium Kultur Jaringan. Kantor pusat merupakan tempat untuk mengurus segala administrasi BIH. Kebun pembenihan dan pembibitan BIH digunakan untuk menyusun standarisasi pengembangan dan penerapan pembenihan, melaksanakan studi dan penelitian, penyuluhan pertanian, pelaksanaan koordinasi kerja yang terdapat dalam ruang lingkup BIH dengan pihak-pihak terkait dalam pengembangan dan penerapan teknologi benih atau bibit tanaman pangan. UPT-BIH Gedung Johor juga mengelola sumber daya alam pertanian yang ada di kebun secara optimal dan berkelanjutan. Laboratorium Kultur Jaringan digunakan untuk memperbanyak tanaman baik yang diambil dari sel, jaringan organ, protoplasma serta menumbuhkannya dalam kondisi aseptik secara *in vitro* sehingga tanaman tersebut dapat tumbuh menjadi tanaman lengkap.

2.3. Manajemen dan Struktur Organisasi UPT-BIH Gedung Johor Medan

Berdasarkan keputusan Gubernur Sumatera Utara No. 061-452.K/Tahun 2002 tentang tugas, fungsi dan tata kerja Dinas Pertanian serta Organisasi dan tata kerja Unit Pelaksanaan Teknis Dinas Pertanian Provinsi Sumatera Utara, UPT-BIH Gedung Johor Medan mempunyai struktur organisasi yang terdiri dari: Kepala Balai, Sub. Bagian Tata Usaha, seksi produksi, seksi pembinaan, seksi penelitian dan pengembangan, dan kelompok jabatan fungsional. Uraian tugas masing-

masing bagian dalam struktur organisasi UPT-BIH Gedung Johor adalah sebagai berikut:

1. Kepala UPT-BIH Gedung Johor

Tugas kepala UPT-BIH Gedung Johor dilaksanakan oleh Kepala Balai Benih yang memiliki peranan sebagai berikut:

- a. Penyempurnaan dan penyusunan standar pengembangan dan penerapan benih pertanian.
- b. Pelaksanaan produksi Benih Dasar (BD) dan Benih Pokok (BP) serta pengujian varietas jalur harapan tanamanyang berasal dari pemuliaan tanaman dan melaksanaka kemurnian kembali varietas unggulan yang sudah lama beredar.
- c. Pelaksanaan studi atau latihan, dan pertemuan penyuluhan pertanian.
- d. Pelaksanaan koordinasi dan kerja sama dengan pihak-pihak terkait dalam pengembangan dan penerapan teknologi benih atau bibit, tanaman pangan.

Tugas fungsi sebagaimana yang dimaksudkan di atas maka Kepala Balai dibantu oleh:

1. Kepala Sub. Bagian Tata Usaha (Kasubbag TU) yang memiliki tugas sebagai berikut:
 - a. Melaksanakan kegiatan administrasi, surat menyurat, keuangan, kepegawaian, rumah tangga dan perlengkapan sesuai ketentuan dan standar yang ditetapkan.

- b. Menghimpun data dari seksi lainnya untuk penyusunan program dan laporan sesuai ketentuan dan standar yang ditetapkan.
2. Kepala Seksi Produksi yang memiliki tugas sebagai berikut:
 - a. Melaksanakan perbanyakan benih kelas BD dan BP yang sesuai dengan ketentuan standar yang ditetapkan.
 - b. Melaksanakan aplikasi teknologi yang ada untuk mencapai target produksi benih yang ditetapkan.
 - c. Melaksanakan pembinaan ke BBP dan perangkat sesuai bidangnya yang sesuai ketentuan dan standar yang ditetapkan.
3. Kepala Seksi Pembinaan yang memiliki tugas sebagai berikut:
 - a. Melaksanakan prosesing hasil benih, seleksi benih yang bermutu dan berkualitas.
 - b. Menyiapkan bahan koordinasi dengan Balai lain dalam melaksanakan pelabelan.
 - c. Melaksanakan pembinaan ke BBP.
4. Kepala Seksi Penelitian dan Pengembangan memiliki tugas sebagai berikut:
 - a. Memberikan informasi perbenihan, pemasaran benih yang diproduksi BIH.
 - b. Menyiapkan bahan koordinasi dengan pihak lain dalam melaksanakan pemasaran hasil produksi benih dan bibit.
 - c. Melaksanakan pembinaan penelitian BBP.

5. Kelompok Jabatan Fungsional yang memiliki tugas sebagai berikut:

Melaksanakan kegiatan penerapan teknologi pertanian, bimbingan standar, pembenihan dan pembudidayaan, mengendalikan hama dan penyakit hortikultura, pengawasan perbenihan dan pembudidayaan dan penyuluhan serta kegiatan lain yang sesuai dengan tugas masing-masing jabatan fungsional berdasarkan peraturan perundang-undangan yang berlaku.

2.4. Proses Kerja Secara Umum

UPT-BIH Gedung Johor lima hari kerja yang dimulai dari hari senin sampai jumat, sedangkan hari sabtu hanya pekerja lapangan kebun BIH yang bekerja setengah hari dan hari minggu merupakan hari libur. Kantor UPT-BIH ini memiliki jam kerja dari pukul 08.00-16.00 WIB. Unit Kebun BIH dan Laboratorium Kultur Jaringan pukul 08.00-16.00 WIB. UPT-BIH mempunyai rutinitas harian yang berbeda-beda sesuai dengan bidang masing-masing. Secara umum proses kerja UPT-BIH Gedung Johor ditahun 2015 meliputi beberapa kegiatan, yaitu:

- a. Perbayakan dan pembibitan tanaman rambutan dan durian
- b. Pengembanagan tanaman anggrek di BIH Gedung Johor
- c. Sistem usaha tani sayuran dataran rendah dan tekhnologi *screen house*
- d. Pengembangan dan pemeliharaan kebunpercontohan usaha tani
- e. Pengembangan kuini baru (calon pohon induk)
- f. Perbanyakn planlet tanaman pisang barangan, granola, dan anggrek
- g. Pemeliharaan pohon induk buah-buahan

- h. Pemeliharaan tanaman salak pondok dan jambon
- i. Pemeliharaan tanaman buah naga dan tanaman buah duku tembung
- j. Pemeliharaan jambu air kesuma merah, jambu air deli hijau, jambu biji dan lengkeng
- k. Perbanyak tanaman anggrek dan krisan
- l. Ketersediaan benih tanaman florikultura sebagai sumber dana APBN.

Laboratorium Kultur Jaringan UPT-BIH Gedung Johor mempunyai dua divisi yaitu:

1. Laboratorium sebagai tempat perbanyak tanaman secara *in vitro*.
2. Screen house atau Rumah Kasa sebagai tempat untuk aklimatisasi planlet berbagai tanaman hortikultura.

BAB III

METODE KERJA

3.1. Waktu dan Tempat

Praktek kerja lapangan (PKL) ini dilaksanakan pada tanggal 03 Agustus 2015 sampai pada dengan 04 September 2015, bertempat di UPT-BIH Gedung Johor Dinas Pertanian Provinsi Sumatera Utara, Medan.

3.2. Ruang Lingkup Kerja

Ruang lingkup kerja yang dilakukan selama PKL berlangsung meliputi sterilisasi ruangan, sterilisasi alat dan bahan, pembuatan media, subkultur, multiplikasi, dan aklimatisasi planlet pada *screen house* sebagai tempat adaptasi tanaman sebelum dipindahkan ke habitat aslinya.

3.3. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam melaksanakan PKL ini adalah timbangan analitik, autoclave, kompor gas, refrigerator, Laminar Air Flow , Cabinet (LAFC), oven, rak kultur, kertas lakmus, corong, korek api, lampu spiritus, gelas beaker, botol kultur, spatula, gelas arlenmeyer, gelas kimia, troli, cawan petri, sprayer, gelas ukur, scalpel, pinset, gunting, kertas tissue, batang pengaduk, panci steinless steel, ember, sendok, timba, aluminium foil, kertas label, plastik wrap, pulpen, pipet tetes, kertas koran, gayung, keranjang, penjepit botol kultur, dan masker.

Bahan-bahan yang digunakan dalam pelaksanaan PKL ini adalah kalus anggrek, krisan, alkohol 70%, aquadest steril, larutan bunsen, larutan NaOH 0,1 N. Bahan pembuatan media anggrek seperti: gula,

FeNaEDTA, Growmore, mio-inositol, agar, fish emulsion, arang aktif, air kelapa, dan pisang raja sereh, serta bahan tambahan berupa vitamin (thiamin, glisin, dan vitamin B1). Selain itu digunakan juga akar pakis haji, arang, fungisida dan bakterisida.

Bahan pembuatan Ms kosong untuk media tanam krisan yaitu: stok A, B, C makro, D, E mikro dan E makro, vitamin, Myo inositol, glysin, Fe, gula dan agar.

3.4. Metode dan Proses Kerja

3.4.1. Sterilisasi

1. Sterilisasi Ruangan

Semua ruangan Laboratorium Kultur Jaringan dibersihkan dari sampah dan debu dengan cara disapu dan dipel. Ruang tanam disterilkan dengan menggunakan lampu Ultraviolet (UV) yang ada pada LAFC selama satu jam setiap hari sebelum digunakan. Sedangkan ruang kultur, disemprot alkohol 70% pada botol yang berisi eksplan dan planlet dengan menggunakan sprayer.

2. Sterilisasi Alat

a. Sterilisasi *Laminer Air Flow Cabinet* (LAFC)

Alkohol 70% disemprotkan pada LAFC dan dilap menggunakan kertas tissue yang bersih.

b. Sterilisasi Peralatan Kerja

Semua peralatan kerja yang akan digunakan seperti: gelas erlenmeyer, gelas kimia, gelas ukur, botol kultur, cawan petri dan peralatan stainless

steel (pinset, gunting dan scalpel) dicuci hingga bersih dan dikeringkan. Peralatan tersebut selanjutnya dibungkus menggunakan kertas koran dan dimasukkan kedalam oven pada suhu 180 C selama satu jam disterilkan.

3. Sterilisasi Bahan

a. Sterilisasi Aquadest

Aquades (air suling) dimasukkan kedalam gelas erlenmeyer dan ditutup rapat dengan aluminium foil. Lalu masukkan kedalam autoclave pada suhu 121 °C dengan tekanan 1,5 atm selama satu jam. Selanjutnya aquadest steril tersebut diletakkan didalam ruang tanam.

b. Sterilisasi media

Media yang sudah dimasak dimasukkan kedalam botol kultur hingga batas yang diinginkan dengan menggunakan gayung dan ditutup rapat menggunakan penutup plastik tahan panas. Selanjutnya dimasukkan kedalam autoclave pada suhu 121 °C dengan tekanan 1,5 atm selama satu jam untuk disterilkan.

3.4.2. Pembuatan Media

Pembuatan media yang dilakukan selama PKL berlangsung selalu dalam jumlah besar (>2/liter) yang bermanfaat dalam efisiensi waktu para laboran. Oleh karena itu, bahan kimia yang digunakan harus ditambah beberapa kali lipat sesuai dengan volume total media yang hendak dibuat.

Hal pertama yang dilakukan yaitu menimbang semua jenis bahan yang diperlukan dan diletakan dengan rapi pada meja tempat pembuatan

media. Lalu siapkan panci yang besar yang dapat menampung total volume media. Dimasukkan FeNaEDTA, pupuk growmore, mio-inositol, fish emulsion, thiamin, glisin dan vitamin B1 kedalam panci secara berurutan. Ini bahan untuk pembuatan media anggrek. Kemudian dilarutkan bahan-bahan tersebut dengan cara menambahkan aquadest dan ditetapkan volumenya hingga 1 liter. Kemudian masukkan air kelapa, gula, agar, arang aktif dan bubur pisang raja kedalam panci tersebut. Kemudian ukur pH dengan menggunakan kertas lakmus dan pH diatur pada 6.2 atau 6.3, selanjutnya dimasak pada kompor gas hingga mendidih sambil diaduk terus-menerus. Sedangkan media MS (krisan) stok A, B, C makro, D, E mikro dan E makro, vitamin, Mio-inositol, glysin, Fe, gula dan agar. Larutan dimasukkan kedalam panci, kemudian ukur dengan menggunakan kertas lakmus dan pH diatur pada 6.2 atau 6.3 selanjutnya dimasak pada kompor gas hingga mendidih sambil diaduk terus-menerus. Penambahan NaOH 0.1 untuk menaikkan pH dan penambahan HCl 0.1 N. Untuk menurunkan pH. Selanjutnya media yang sudah masak dimasukkan kedalam botol-botol kultur steril hingga batas yang diinginkan, kemudian tutup botol dengan menggunakan tutup plastik yang tahan panas. Langkah terakhir yaitu masukkan botol-botol tersebut kedalam autoklaf untuk menjalani proses sterilisasi yang dilakukan selama 1 jam pada suhu 121 °C.

BAB IV

URAIAN KEGIATAN

4.1. Deskripsi Teknik Kultur Jaringan

Teknik kultur jaringan memanfaatkan prinsip perbanyakan pertubuhan secara vegetatif. Teknik kultur jaringan suatu sel atau irisan jaringan tanaman yang sering disebut eksplan secara aseptik (*invitro*) diletakkan dan dipelihara dalam medium padat atau cair yang cocok dan dalam keadaan steril. Dengan cara demikian sebagian sel pada permukaan irisan tersebut akan mengalami proliferasi dan membentuk kalus. Apabila kalus yang terbentuk dipindahkan kedalam medium diferensiasi yang cocok maka akan terbentuk tanaman kecil yang lengkap dan disebut planlet. Dengan teknik kultur jaringan ini hanya dari satu irisan kecil suatu jaringan tanaman dapat dihasilkan kalus yang dapat menjadi planlet dalam jumlah yang besar.

Pelaksanaan teknik kultur jaringan tanaman ini berdasarkan teori sel seperti yang dikemukakan oleh Schleiden, yaitu bahwa sel mempunyai kemampuan autonom bahkan mempunyai kemampuan totipotensi. Totipotensi adalah kemampuan setiap sel dari mana saja sel tersebut diambil. Apabila diletakkan dilingkungan yang sesuai akan tumbuh menjadi tanaman yang sempurna.

Tujuan kultur jaringan:

1. Memperoleh bibit tanaman baru yang lebih baik.

2. Lebih cepat dan lebih banyak dalam waktu yang tidak terlalu lama dengan anakan yang seragam.
3. Memperbanyak tanaman seperti induknya.
4. Perbanyak tanaman dengan teknik ini membuat tanaman bebas dari penyakit karena dilakukan secara aseptik.
5. Penggunaan metode ini sangat ekonomis dan komersial.

Kultur jaringan akan lebih besar keberhasilannya bila menggunakan jaringan meristem. Jaringan meristem adalah jaringan muda yaitu jaringan yang terdiri dari sel-sel yang selalu membelah dinding tipis, plasmanya penuh dan vakuolanya kecil-kecil. Kebanyakan orang menggunakan jaringan ini untuk tissue kultur, sebab jaringan meristem keadaannya selalu membelah sehingga diperkirakan mempunyai zat hormon yang mengatur pembelahan.

Manfaat kultur jaringan:

1. Sarana untuk memperbanyak tanaman yang sulit dibudidayakan secara konvensional.
2. Membebaskan tanaman dari virus-virus patogen yang menyerang tanaman.
3. Sarana untuk mempercepat perbanyak klon dalam waktu yang seragam.
4. Cara efektif untuk konservasi tanaman langka
5. Hanya membutuhkan induk dalam ukuran kecil, tidak memerlukan lahan yang luas dan dapat dilaksanakan sepanjang tahun.

6. Mendapatkan taanaaman baru dalam jumlah banyak yang relatif singkat yang mempunyai sifat sama seperti induknya.
7. Memperoleh tanaman baru yang bersifat unggul
8. Perbanyak tumbuhan/kultur jaringan dapat dilakukan secara cepat dan hemat waktu.
9. Pengadaan bibit tidak tergantung musim
10. Bibit dapat diproduksi dalam jumlah banyak
11. Biaya pengangkutan bibit relatif lebih murah dan mudah

Teknik kultur jaringan akan berhasil dengan baik apabila syarat-syarat yang diperlukan terpenuhi.

Syarat-syarat:

1. Pemilihan eksplan sebagai bahan dasar untuk pembentukan kalus, syarat-syarat tumbuhan eksplan.
 - a. Jaringan tersebut sedang aktif pertumbuhannya, diharapkan masih terdapat zat tumbuh yang masih aktif sehingga membantu perkembangan jaringan selanjutnya.
 - b. Eksplan yang diambil berasal dari bagian daun, akar, mata tunas, kuncup, ujung batang, dan umbi.
 - c. Eksplan yang diambil dari bagian yang masih muda (bila ditusuk pisau akan terasa lunak sekali)
2. Penggunaan medium yang cocok, keadaan yang aseptik dan pengaturan udara yang baik terutama untuk kultur cair.

3. Pilih bagian tanaman yang masih muda dan mudah tumbuh yaitu bagian meristem seperti; daun muda, ujung akar, keping biji dan sebagainya. Bila menggunakan embrio bagian biji-biji yang lain sebagai eksplan. Yang perlu diperhatikan adalah kemasakan embrio waktu imbibisi, temperatur dan dormansi.

4.2. Tahap kegiatan kultur jaringan

Proses kegiatan kultur jaringan secara umum dibagi dalam 5 tahap, yakni:

- Tahap I : Persiapan media, alat dan bahan
- Tahap II : Sterilisasi dan penanaman awal (inisiasi/induksi) dari bahan tanaman pada kondisi/media aseptik.
- Tahap III : Perangsangan regenerasi tunas secara aktif sehingga tunas cepat berlipat (multiplikasi)
- Tahap IV : Perangsangan bagian dasar eksplan dan memacu pertumbuhan akar (perakaran)
- Tahap V : Transplanting/pemindahan pot untuk adaptasi dari kondisi aseptik pada screen house untuk pengembangan akar lebih sempurna sebelum penanaman dilapangan.

Keberhasilan kultur jaringan dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain:

1. Bagian organ tanaman yang dipergunakan
2. Cara sterilisasi
3. Komposisi media tumbuh yang dipakai
4. Keadaan lingkungan

4.3. Preparasi Alat dan Bahan

Alat dan bahan merupakan syarat penting bagi terlaksananya pengerjaan segala Kegiatan laboratorium, termasuk pengerjaan kultur jaringan. Dalam rangka mendukung keberhasilannya, sebuah laboratorium kultur jaringan setidaknya memiliki alat dan bahan berikut yang tertera di dalam tabel dibawah ini:

Tabel 1. Alat yang digunakan di laboratorium kultur jaringan

No	Alat	Fungsi
1	Timbangan analitik	Menimbang bahan-bahan kimia yang digunakan dalam pembuatan media
2	Autoklaf	Sterilisasi bahan yang berupa larutan/cairan
3	Kompor gas	Memasak media
4	Refrigerator	Penyimpanan larutan stok dan bahan organik
5	Laminar air flow cabinet(LAFC)	Tempat pelaksanaan proses kultur jaringan secara aseptik
6	Oven	Sterilisasi alat diseksi, botol kultur, dan cawan petri
7	Rak kultur	Tempat peletakan botol kultur didalam ruang kultur agar tertatarapi
8	Troli	Sarana pemindahan botol dari ruang tanam keruang kultur
9	Glass ware (gelas ukur, gelas kimia)	Mengukur volume larutan dan sebagai wadah pembuatan media
10	Sapu dan pel	Sterilisasi ruangan
11	Air Conditioner (AC)	Mengatur kestabilan suhu ruangan

12	Blender	Menghaluskan bahan organik
13	Mortal dan postel	Menghaluskan bahan kimia berupa padatan/Kristal
14	Botol kultur	Wadah pertumbuhan hasil inisiasi
15	Pipit tetes	Mengambil larutan yang digunakan sebagai bahan media
16	Spatula	Mengambil bahan kimia berupa bubuk/padatan
17	Pinset	Mengambil eksplan, kalus, maupun planlet
18	Cawan petri	Wadah untuk meletakkan eksplan atau kalus dalam proses pegkulturan
19	Batang pengaduk	Mengaduk media atau larutan fungisida/bakterisida
20	Lampu spiritus	Menjaga kesterilan lingkungan kerja (kultur)

4.4. Sterilisasi

Salah satu faktor pembatas dalam keberhasilan teknik kultur jaringan yaitu adanya kontaminasi oleh mikroorganisme pengganggu. Setiap tahapan kerja teknik kultur jaringan harus sepenuhnya terbebas dari mikroorganisme kontaminan baik berupa fungi maupun bakteri. Oleh karena itu, perlu dilakukan sterilisasi yang merupakan kegiatan untuk mrnghilangkan mikroorganisme yang ada untuk meminimalisir kemungkinan kontaminasi.

Beberapa sumber kontaminasi antara lain yaitu lingkungan kerja yang tidak steril, laboran yang kurang bersih, serta pelaksanaan sterilisasi yang kurang sempurna. Oleh karena itu sterilisasi yang dilakukan harus

menyeluruh meliputi sterilisasi ruangan, sterilisasi peralatan dan sterilisasi bahan.

4.4.1. Sterilisasi Ruangan

Secara umum, ruang laboratorium kultur jaringan terdiri dari 2, yaitu ruangan umum dan ruangan spesifik. Ruangan umum yaitu ruangan secara keseluruhan yang merupakan tempat semua Kegiatan dilakukan, sedangkan ruang spesifik yaitu unit perangkat kerja yang disebut Laminar Air Flow Cabinet (LAFC) dimana proses penanaman dan perbanyakan tanaman dilakukan. Pada dasarnya, LAFC berada di dalam ruangan umum, hanya saja prosedur sterilisasinya berbeda.

Sterilisasi ruangan umum dilakukan dengan cara disapu dan sipel dengan larutan desinfektan setiap pagi. Hal ini bertujuan untuk mengurangi bahkan menghilangkan agen kontaminasi yang ada disekitar. Selanjutnya dilakukan sterilisasi ruangan spesifik, yaitu LAFC dengan menghidupkan lampu UV dan blower selama 1-2 jam sebelum proses penanaman.

LAFC juga disterilkan dengan menyemprotkan alkohol 70% pada seluruh ruangan untuk mematikan mikroorganisme yang mungkin tertinggal setelah sterilisasi dengan UV. Alkohol disemprotkan dengan handsprayer dan kemudian dilap dengan tissue untuk mempercepat pengeringan. Selain itu ruangan yang harus disterilkan juga yaitu ruang kultur, merupakan ruang tempat inkubasi tanaman yang telah dikultur. Ruangan ini disapu dan dipel setiap pagi, kemudian disemprot dengan

alkohol 70% pada botol-botol dan rak kulturnya setiap hari, dan pada setiap hari jumat disemprot formalin 4% ke seluruh ruangan. Sebenarnya ruangan ini harus diberi perhatian lebih dalam kondisi dan sterilitasnya karena diruangan inilah eksplan tumbuh menjadi planlet yang mana sangat membutuhkan kondisi ruangan yang optimal dan steril.

4.4.2. Sterilisasi Peralatan

Seluruh alat-alat yang digunakan dalam pengerjaan kultur jaringan harus dalam keadaan steril yang sangat berperan dalam menekan terjadinya kontaminasi. Alat yang steril sangat menunjang keberhasilan dari hasil kultur yang berakibat pada tercapainya target perbanyakan tanaman baik untuk keperluan komersil maupun penelitian. Dalam pelaksanaannya, alat yang digunakan yaitu berupa kaca (botol kultur, cawan petri) dan stainless (piset dan scapel).

Proses sterilisasi yang digunakan terdiri dari 2 tahap yaitu sterilisasi secara kimia dan fisika (mekanik). Semua alat berupa kaca dan stainless steel tersebut direndam di dalam larutan sodium hipoklorit selama 1 hari dan kemudian baru dicuci dengan deterjen, selanjutnya dibilas dengan air bersih. Setelah itu dilanjutkan dengan sterilisasi secara fisika/mekanik. Oleh karena alat-alat tersebut berwujud padat maka proses sterilisasi yang sering diterapkan yaitu sterilisasi dengan panas kering. Yaitu menggunakan oven yang ditetapkan suhunya pada 180 °C selama 3 jam. Namun khusus bagi alat berbahan stainless steel, terlebih dahulu dibungkus dengan kertas sebelum dimasukkan ke dalam oven. Hal ini

bertujuan untuk mengurangi penyerapan panas yang berlebihan sehingga setelah proses sterilisasi dapat digunakan segera oleh para labora.

4.4.3. Sterilisasi Bahan

Bahan yang steril merupakan kunci keberhasilan kultur jaringan, karena bagaimanapun eksplan yang ditanam akan selalu kontak langsung dengan bahan tersebut. Bahan yang harus disterilkan yaitu aquadest dan media yang akan digunakan. Aquadest merupakan pelarut utama dalam pembuatan larutan stok dan berwujud cair, sehingga proses sterilisasi yang diterapkan yaitu panas uap menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C dan tekanan psi selama 1 jam. Aquadest tersebut dimasukkan ke dalam enlenmeyer dan ditutup dengan aluminium foil agar tidak meluap sehingga dapat mempertahankan volume awal. Media yang digunakan harus disterilisasi terlebih dahulu sebelum ditanam eksplan di dalamnya karena pada prinsipnya media adalah sumber makanan, tidak terkecuali bagi eksplan maupun mikroorganisme. Karena alasan itulah media harus dicuci agar media yang akan digunakan terbebas dari mikroorganisme pengganggu. Sterilisasi media juga menggunakan autoklaf karena media berwujud cair (sebelum agar mengeras). Botol-botol kultur yang telah berisi media dimasukkan ke dalam autoklaf dan disterilkan pada suhu 121°C dan tekanan 15 psi selama 30 menit. Pada suhu yang tinggi dan tekanan yang kuat, protein mikroorganisme akan terdenaturasi dan selnya akan lisis bahkan dalam bentuk endospora sekalipun.

4.4.4. Pembuatan Media

Media adalah tempat bagi jaringan/eksplan untuk tumbuh dan mengambil nutrisi yang diperlukan. Media tumbuh menjadi penyedia tunggal unsur hara yang diperlukan dalam kultur jaringan, oleh karena itu sebuah media tanaman harus memiliki kandungan nutrisi yang komplit sesuai dengan kebutuhan tanaman.

4.5. Subkultur

Subkultur adalah salah satu tahapan dari kultur jaringan yang bertujuan untuk memindahkan eksplan ke media baru secara aseptik. Ada beberapa faktor yang memaksa eksplan harus disubkultur, yaitu berkurangnya media awal eksplan yang ditandai dengan menurunnya volume media dalam botol, munculnya gangguan mikroorganisme ataupun mulai tampak gejala kematian, dan yang terakhir yaitu eksplan telah memasuki tahap perkembangan selanjutnya sehingga harus disubkultur pada media dengan formulasi baru.

Setiap pelaksanaan subkultur, eksplan yang terdapat dalam 1 botol dapat dipindahkan ke dalam 5-4 botol yang baru, sehingga kerapatannya berkurang untuk mengurangi terjadinya kompetisi makanan. Dengan berkurangnya jumlah kompetitor, diharapkan tanaman-tanaman tersebut dapat menyerap nutrisi dengan baik yang berdampak pada pertumbuhan yang optimal.

4.6. Multiplikasi

Multiplikasi merupakan tahapan inti dari pengerjaan kultur jaringan karena dengan tahapan inilah tujuan sebenarnya dari kultur jaringan tercapai, yaitu memperoleh sebanyak mungkin tanaman dari jumlah induk yang sedikit.

4.7. Aklimatisasi

Tahapan terakhir dari teknik kultur jaringan yaitu aklimatisasi, merupakan suatu upaya untuk menyesuaikan tanaman hasil kultur pada habitat aslinya. Oleh karena itu, proses aklimatisasi dilakukan pada screen house dengan kondisi lingkungan yang telah disesuaikan dengan kebutuhan tanaman. Zulkarnain (2009) menyatakan bahwa planlet-planlet invitro yang pada awalnya bersifat hetetotrof harus berubah menjadi autotrof bila dipindahkan kelapangan agar dapat bertahan hidup pada kondisi yang tidak lagi dibawah control.

4.8. Kultur Jaringan Anggrek (*Dendrobium sp*)

4.8.1. Tahapan Kultur Jaringan Anggrek

a. Pembuatan media

Media merupakan faktor penentu dalam perbanyakan dengan kultur jaringan. Komposisi media yang digunakan tergantung dengan jenis tanamann yang akan diperbanyak. Media yang digunakan biasanya terdiri dari garam mineral, vitamin, dan hormon. Selain iitu, diperlukan juga bahan tambahan seperti agar, gula, dan lain-lain. Zat pengatur tumbuh (hormon) yang ditambahkan juga bervariasi baik jenisnya maupun

jumlahnya, tergantung dengan 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 di autoclav.

Contoh pembuatan media untuk perkecambahan biji anggrek dengan kultur jaringan adalah dengan menggunakan bahan alami seperti pisang dan air kelapa.

b. Bahan dan Alat (untuk 1 liter media)

1. Satu buah pisang ambon (diambil 150 g)
2. Air kelapa (150ml)
3. Gula pasir (150g)
4. Agar (8g)
5. Ph meter/ph stik
6. Aquadest
7. Hotplet+ kompor+ panji+ penagduk
8. Botol-botol steril
9. Autoclave

c. Cara Kerja

1. Pisang sebanyak 150 g dihaluskan.
2. Disiapkan aquadest sebanyak 500 ml, dimasukan ke dalam beaker ukuran 1 liter atau panci kecil jika menggunakan kompor.
3. Ditambahkan pisang yang sudah dihaluskan, air kelapa sebanyak 150 ml, dan gula pasir sebanyak 20 g.

4. Diaduk hingga semua campuran larut
5. Lakukan penghitungan pH , pH seharusnya 6,2 jika pH blum mencapai 6,2 gunakan larutan NaOH dan jikaa ph melebihi 6,2 maka gunakann larutan HCL.
6. Larutan media ditambah aquadest hingga mencapai volume 1 liter.
7. Larutan media dipanaskan sampai mendidih sambil diaduk, kemudian dituangkan kedalam botol-botol yang sudah steril.
8. Botol-botol yang sudah diisi media ditutup dan disterilkan didalamm autoclave selama 15 menit pada suhu 121 °C.

4.8.2. Tahap Sterilisasi Buah Anggrek

Sterilisasi dilakukan untuk membersihkan buah anggrek dari mikroorganisme yang dapat mengganggu pertumbuhan biji anggrek saat dikondisi invitro. Sterilisasi buah anggrek biasanya dapat dilakukan dengan dua cara yaitu dengan buah yang masih tertutup atau buah yang sudah pecah. Jika buah masih tertutup maka sterilisasi lebih mudah dengan menggunakan alkohol dan buah dibakar diatas api busen. Jika buah sudah pecah maka sterilisasi juga harus dilakukan terhadap biji yang sudah keluar. Metode kedua akan lebih rumit karna harus dilakukan steriilisasi basah menggunakan larutan bayclin yyang dicampur dengan tween untuk membersihkan buah dan biji anggrek. Salah satu metode sterilisasi buah anggrek adalah sebagaib berikut:

a. Bahan dan Alat

1. Buah anggrek yang sudah masak
2. Bunsen
3. Alkohol 70%
4. Pinset
5. Kapas
6. Petridish steril
7. Kertas saring steril

b. Cara kerja

1. Buah anggrek dibersihkan/ dilap dengan kapas yang sudah dibasahi dengan alkohol 70% cara lain adalah dengan mencuci dengan detergen atau sunligt kemudian dibilas dengan air mengalir.
2. Buah anggrek dibawa masuk kelaminar air flow (LAF) dengan petridish steril, pinset stereril, alcohol 70% dalam botol, dan Bunsen.
3. Bunsen dinyalakan didalam LAF
4. Buah anggrek dicelupkan dialkohol diangkat sampai sisa alcohol tidak menetes, kemudian dibakar diatas api Bunsen. Dilakukan 3 kali.
5. Buah anggrek siap untuk dibelalh dan ditanam bijinya.

4.8.3. Penanaman atau penaburan biji anggrek

Penanaman biji anggrek dilakukan denagn membuka buah anggrek di dalam kondisi steril. Media yang digunakan biasanya berada dalam posisi miring didal botol untuk memudahkan penanaman dan penyebaran biji dalam tiap botol. Metode penanaman dapat beragam sesuai dengan

kondisi buah dan jenis anggrek yang digunakan. Arditi (1982) cit pietrik (1987) mengemukakan metode penyebaran dengan biji yang disuspensi dalam air steril kemudian disebar dimedia. Akan tetapi terdapat metode yang lebih mudah dan dapat mengurangi kontaminaasi yaitu penanaman langsung dengan pinset, atau spatula yang dirancang khusus untuk penanaman biji anggrek. Biji anggrek disebar diatas media agar dan tidak didalamnya atau di dalam media cair supaya adapat memperoleh oksegen yang cukup. Jumlah biji yang ditanam dalam tiap botol akan bervariasi tergantung spesies yang ditanam. Sebagai contoh, bila phalaenopsis ditanam dalam jumlah yang terlalu banyak dalam satu botol akan mengakibatkan akarnya saling menumpuk dan sulit untuk melakukan subkulturr atau aklimatisasi.

4.8.4. Aklimatisasi

Proses aklimatisasi dilakukan dengan cara bertahap supaya tanaman hasil kultur jaringan dapat beradaptasi dengan perubahan lingkungan. Baik suhu,kelembapan,cahaya, maupun faktor lainnya akan berbeda dan tanaman hasil kultur jaringan juga memiliki kekurangan dibanding tanaman yang dilikungan alami. Menurut Pierik (1987), tanaman hasil kultur jaringan memiliki lapisan lilin (kutikula) yang tidak berkembang sempurna dan akart yang belum bisa berfungsi dengan baik. Saat pemindahan tanaman kondisi normal atau dalam media pakis , tanah, atau kompos, harus dilakukan secara bertahap dan menghindari infeksi dari fungi serta bakteri karena tanaman hasil kultur jaringan belum mampu

beraptasi dengan pathogen-phatogen yang biasa ditemukan dilingkungan luar. Pemberian fungsida diperlukan untuk mencegah serangan jamur, pembersihan media secara benar juga mengurangi resiko serangan. Pemindahan pertama dilakukan kedalam comunity pot yang bisa menampung jumlah bibit yang cukup banyak. Pada tahap awal kelembapan sangat perlu dijaga dan pemberian nutria tambahan bisa dilakukan dengan penyemprotan pupuk daun. Selanjutnya bibit bisa dipindah kepot-pot individu saat daun dan akar siap untuk mendukung pertumbuhan.

4.9. Kultur Jaringan Krisan

4.9.1. Tahapan kultur jaringan krisan

- a. Sterilisasi alat
- b. Pembuatan media tanam dan sterilisasinya

Media yang digunakan adalah media MS,dengan komposisi sebagai berikut:

Tabel 2. Komposisi Media MS

Bahan Kimia	mg/L	Bahan Kimia	mg/L
Makro		vitamin	
NH ₄ NO ₃	1650	Thiamine HCl	0,1
KNO ₃	1900	Nicotianic acid	0,5
CaCl ₂ 2H ₂ O	440	Pyridoxine HCl	0,5
MgSO ₄ 7H ₂ O	370		
KH ₂ PO ₄	170		
FeEDTA		Myositol	1000
FeSO ₄	27,85		

Na ₂ EDTA	37,25		
Mikro		Glycine	2
MnSO ₄ H ₂ O	22,3	Glukosa	30000
ZnSO ₄ 7H ₂ O	8,6		
H ₃ BO ₃	6,2		
KI	0,83		
Na ₂ MoO ₄ 2H ₂ O	0,25		
CoCl ₂ 6H ₂ O	0,025		
CuSO ₄ 5H ₂ O	0,025		

a. Pengambilan eksplan

Syarat tanaman induk yang digunakan sebagai eksplan

1. Sehat, daun tidak menunjukkan gejala terserang hama dan penyakit.
2. Bebas dari penyakit sistemik seperti virus dan viroid
3. Berusia 2 minggu setelah piching (telah terbentuk 5-6 daun sempurna dari tunas lateral setelah dipiching) piching-pemotesan meristem ujung untuk menstimulasi pertumbuhan tunas lateral.
4. Dari tanaman induk yang berusia 4-5 bulan belum terjadi regerasi kualitas.
5. Memotong menggunakan gunting steril yang dicelupkan alkohol 70% agar tanaman induk tidak terinfeksi hama dan penyakit.

b. Sterilisasi eksplan

Tujuan sterilisasi eksplan- agar eksplan dalam kondisi aseptik tidak terkontaminasi jamur dan bakteri dari luar. Setiap bahan tanaman mempunyai tingkat kontaminasi permukaan yang berbeda tergantung pada:

1. Jenis tanaman, bagian tanaman yang digunakan.
2. Morfologi permukaan(berbulu/tidak)
3. Lingkungan tumbuh(lapangan/green house)
4. Musim pengambilan(hujan/kemarau)
5. Umur tanaman
6. Kondisi tanamannya(sehat/sakit)

c. Pengambilan eksplan dari lapangan

Organ tanaman yang digunakan berupa ujung dengan beberapa ruas dibawahnya dari tunas apical/lateral tanaman krisan.

d. Syarat pengambilan eksplan

1. Dari tanaman induk, dengan umur stek 2 minggu(masih muda dengan ciri tangkai daun lunak berair)
2. Mengambil ujung tanaman 2-3 ruas
3. Bebas pathogen, penampilan bersih dan sehat
4. Mengambil dengan alat yang steril

e. Langkah sterilisasi sebagai berikut

1. Mengambil eksplan krisan dari lapangan berupa ujung tanaman kira-kira 2-3 ruas
2. Memotong tiap ruas dengan sebagian daun dirompes-cuci pada diterjen cair
3. Mengocok dalam laretan alcohol 10% selama 2-3 menit
4. Menyiapkan larutan fungisida dan bakterisida pada masing-masing 2-3g/l yang sebelumnya disinter agar homogeny

5. Setelah homogen masukkan eksplan dalam larutan tersebut, shaker selama 30-45 menit-bilas
6. Mengojok eksplan dengan tween 20 sebanyak 2-3 tetes selama 3-3 menit
7. Mengocok dalam larutan cholorox 10% selama 5 menit, membilas sampai bersih
8. Meniriskan eksplan, kemudian eksplan siap ditanam

f. Subkultur

1. Planlet siap subkultur setelah 1-1,5 bulan dari sejak subkultur sebelumnya atau minimal mempunyai 5 ruas daun.
2. Subkultur pada planlet krisan bisa mencapai 8 kali subkultur.
3. 1 botol berisi 5 eksplan.
4. Subkultur pada krisan harus diperhatikan kesereagaman tumbuh untuk memprediksi keseragam panen dilapangan.
5. Hal ini perlu diperhatikan oleh umur planlet dan nomor ruas saat subkultur.

g. Aklimatisasi

Tahap pemindahan planlet dari kondisi invitro (laboratorium) ke invivo (lapangan).

1. Cara mengeluarkan planlet dalam botol

Planlet dikeluarkan dengan mengalirkan air kemudian media digoyang-goyangkan sampai agar terlepas dari botol kemudian dibersihkan dari media agar secara hati-hati agar tidak banyak yang terputus.

2. Perlakukan planlet sebelum ditanam

Setelah dikeluarkan dari botol kultur dan dibersihkan dari media agar, sebelumnya ditanam dilakuakn pencelupan dengan menggunakan larutan fungisida dan bakterisida masing-masing 1 g/l selama kurang lebih 5 menit. Hal ibni bertujuan agar saat ditanam, akar tidak mudah terinfeksi pathogen yang terbawa oleh media tanam meskipun media tanam telah distrerilkan.

3. Persiapan media aklimatisasi dan perlakuaanya

Syarat media pengakaran harus porous untuk merangsang pembentukan akar-akar serabutnya. Berbagai media pengakaran yang bisa digunakan seperti arang sekam, sabut kelapa, perliye, dan vermikulit.

Media yang digunakan harus steril kemudian direndam dengan air sehari sebelum digunakan. Aklimatisasi bisa menggunakan tray semai atau bak semai permanen. Ketebalan media untuk aklimatisasi di bak sekitar 7-10 cm, sedangkan pada tray semai menyesuaikan tinggi traylah siap dengan jarak 2x2 cm. pemberian pertisida 1 minggu setelah penanaman planlet yang telah siap dengan jarak 2x2 cm. pemberian pestisida 1 minggu setelah tanam dengan cara di semprot. Penyiraman dilakukuan 2 kali sehari diawal sampai 1 minggu aklimatisasi untuk menghindari kekeringan karena kondisi tanaman masih rentan setelah 1 minggu penyiraman disesuaikan kondisi lapangan.

4.10. Kultur Jaringan Pisang

Tumbuhan pisang dapat dengan mudah dilakukan dengan cara kultur kalus, karena kultur kalus lebih mudah propagasi.

1. Kelebihan

Bebas pathogen tertentu kecuali penyakit virus :BBTV dan mosaic relatif seragam

2. Kelemahan

Kurang tahan penyakit karena terbiasa diperlakukan penuh nutrisi.

a. Eksplan

Syarat-syarat eksplan yang baik:

1. Berasal dari induk yang sehat dan subur
2. Berasal dari induk yang diketahui jenisnya
3. Tempat tumbuh pada lingkungan yang baik
4. Ukuran tunas optimal sekitar 5 cm tingginya (biasanya ukuran tunas yang bisa dipakai sebagai eksplan adalah tunas yang berukuran antara 5-10 cm), bukan tunas yang baru tumbuh atau yang sudah kelewatan besar
5. Untuk pisang kepok sering tunas perlu digali lebih dalam dari dalam tanah untuk pisang jenis lain baiknya tunas yang kelihatan dari tanah
6. Tunas langsung diproses sesegar mungkin dan bila terpaksa jangan dimasukan kedalam kulkas

b. Sterilisasi Eksplan

Tunas hidup diatas tanah sering banyak tanah yang melekat perlu dibersihkan hal ini karena pada eksplan tunas pisang mengandung bakteri internal seperti pseudomonas dan erwina. Tahapan sterilisasi eksplan:

1. Tunas dibersihkan dari sisik dan kulit satu lapis.
2. Tunas dicuci dan disikat dengan sabun sampai bersih kemudian ditiriskan.
3. Tunas diperkecil dengan dikupas seludangnya sampai berbentuk seperti kerucut diatas kubus ukuran 2x2 cm persegi.
4. Tunas dimasukan kedalam gelas piala bersih dan disterilkan dengan kloroks 0,5 % selama 5 menit.
5. Bila perlu disterilisasi dapat juga dilakuakn sublimat 9,1 % selama 2 menit kemudian dicuci dengan air steril.
6. Pekerjaan no 1 sampai no 5 dilakukan diruang terbuka.
7. Tunas diperkecil lagi setengahnya didalam laminar air flow. Dan langsung disterilkan dalam 0,5 kloroks yang mengandung 0,5/liter vitamin C selama 5 menit.
8. Selain cara diatas ada cara yang lain lagi dimana langkah pertama dan kedua sama seperti di atas.
9. Kemudian setelah tunas dibersihkan dari sisik dan kulit luar atau lapis, kemudian tunas direndam dalam larutan formalin 30% (setara dengan 10% formaldhid) selama 10 menit.

10. Setelah itu pelepah paling luar dibuang lagi satu lapis lalu tunas direndam lagi dalam larutan agrimycin gram/liter selama 12 jam.
11. Setelah 12 jam perendaman tunas dicuci untuk menghilangkan sisa-sisa bakterisida, setelah itu lalu dimasukkan dalam larutan kloroks/bayclin 50% dan dibiarkan selama 15 menit
12. Kemudian setelah itu dimasukkan kedalam laminar air flow cabinet, pelepah tunas dibuka lagi sebanyak 1-2 lapis dan kemudian dirndam kedalam larutan kloroks 20% selama 10 menit.
13. Setelah dibilas dengan air steril, tunas direndam kedalam larutan betadine 20% selama 10 menit. Ukuran terakhir 1-2 cm.

Kemudian setelah proses sterilisasi eksplan selesai dilakukan eksplan ditiriskan diatas cawan petri beralaskan kertas saring steril. Ekspalan siap ditanam dalam medium.

Medium kultur jaringan pisang

Medium kultur jaringan pisang pada dasarnya adalah medium MS dengan modifikasi vitamin dan hormon. Unsur makro dan mikro sama dengan sedikit perbedaan yaitu sukrosa 30 gram diganti dengan D-glukosa atau dektrosa (teknis atau p.a). menurut pengalaman penggantian ini menyebabkan pertumbuhan lebih cepat.

a. Vitamin

1. Biotin : 0,05 ppm
2. Myo inositol : 1 ppm
3. Thiamin : 0,4 ppm

4. Piridoksin : 4 ppm
5. Ascorbic acid : 5-50 ppm atau 0,025 gr/liter

b. Gula

1. Dektrosa : 30 gram

c. Medium

1. P1 : $\frac{1}{2}$ MS + vitamin+5-7 ppm BA+100 ml air kelapa
2. P2 : MS+Vitamin+5-7 ppm BA+100 ml air kelapa
3. P3 : MS+Vitamin+2 ppm IBA/IAA+0,1 kinetin+100 ml air kelapa

Keterangan:

P1 : medium inisiasi tunas

P2 : medium perbanyak tunas

P3 : medium perakaran

Untuk tiap jenis pisang susunan medium dapat diubah sesuai kebutuhan. Pisang yang pertumbuhannya subur seperti kepok memerlukan BA (Benzil Adenin) yang lebih banyak dan auksin yang lebih rendah.

c. Tahap Penanaman

1. Inisiasi tunas

Tunas yang sudah siap tanam dimasukan kedalam medium P1 (medium inisiasi tunas). Inkubasikan selama 2 minggu sampai terlihat warna kehijauan dieksplannya. Kupas lagi eksplannya dengan cara aseptik sampai berukuran 1/2. Tanam kembali sampai terlihat hijau lagi dan itu berarti eksplan hidup.

Belah eksplan menjadi 2 bagian dan kemudian diletakkan titik tumbuhnya menempel pada medium . tunggu sampai muncul tunas kecil dan berwarna putih seukuran 2-3 mm.

Sebagai catatan proses terjadinya multiplikasi tunas yang pertama biasanya terjadi antara minggu ke 8-12. Dan setelah terjadi multiplikasi tunas ini baru bisa dilakukan subkultur.

2. Perbanyak tunas

Tunas yang tumbuh dipotong dan dipindahkan (disubkultur) ke medium P1 (medium inisiasi tunas) lagi dengan hati-hati jangan sampai rusak. Tunas yang sudah tumbuh banyak harus sering dipecah dan dipindahkan (disubkulturkan) ke medium P1 (medium inisiasi tunas) lagi.

Tunas yang cukup besar seragam dan mulai mengalami differensiasi organ lain yaitu daun dipindahkan (disubkulturkan) ke P2 (medium perbanyak tunas), satu atau dua kali sesuai kebutuhan. Tunas kecil dipindahkan (disubkulturkan) ke medium P1 lagi.

3. Perakaran

Tanaman kecil (planlet) dalam P2 (medium perbanyak tunas) dipilih yang seragam kemudian dipindahkan (disubkulturkan) ke medium P3 (perakaran) untuk bisa melakukan proses perakaran. Bila planlet sudah berdaun 4-5 helai daun berarti sudah siap keluar untuk dilakukan aklimatisasi.

Catatan:

“Dalam proses subkultur pada medium yang sama dapat dilakukan sampai 6 kali subkultur, baru kemudian bisa dipindahkan untuk diakarkan pada medium P3. Dan seluruh proses subkultur dari awal sampai akhir ada baiknya jangan sampai melebihi 10 kali subkultur karna akan mengurangi kualitas palanlet yang dihasilkan.”

d. Aklimatisasi

Aklimatisasi dapat dilakukan secara majemuk pada bedengan dibawah tempat yang teduh atau secara tunggal pada gelas bekas aqua yang diisi tanah subur ditambahkan pasir dengan perbandingan 1:1. Pada saat aklimatisasi ini umumnya 2 minggu dengan sungkup dan 4 minggu tanpa sungkup, dan pada saat itu planlet sudah mencapai tinggi 20-25 cm. selanjutnya bibit siap ditumbuhkan dalam polibag.

Tanaman perlu ditumbuhkan di nursery sampai mencapai tinggi 50-60 cm kemudian dipindahkan kelapangan.

4.11. Metode dan Proses Kerja Di Lapangan (Pembibitan)

4.11.1. Cangkok

Metode perbanyakan vegetatif (cangkok) ini bertujuan untuk menghasilkan tanaman baru yang sesuai dengan sifat induknya. Melalui dengan cara cangkok, dapat dihasilkan banyak tanaman baru (unggul) hanya dalam satu tanaman.

Bahan dan Alat yang digunakan dalam mencangkok ini yaitu:

1. Pisau cutter
2. Tali rafia
3. Plastik kaca
4. Tong plastik
5. Tanah
6. Air dan
7. Pohon lengkeng

Cara kerja mencangkok yaitu, pertama, pilih batang pohon lengkeng yang akan di cangkok, pada umumnya tidak terlalu tua juga tidak terlalu muda. Kemudian siapkan media tanah yang dicampur air hingga batas lengket. Batang yang dipilih di kikis dengan menggunakan pisau cutter sepanjang kurang lebih 1cm. Tempelkan tanah pada batang yang di kikis dengan menggunakan plastik kaca, selanjutnya tempelan di ikat pada sisi bawah dan sisi atas menggunakan tali rafia. Setelah selesai ujung batang yang dicangkok dipotong dengan menggunakan pisau cutter.

4.11.2. Sambung Pucuk

Alat-alat yang digunakan untuk sambung pucuk harus steril, agar kambium pada tanaman tidak terkontaminasi oleh bakteri ataupun kotoran dari luar. Umumnya pengambilan entres dilakukan pada tanaman induk (varietas unggul), kriteria batang bawah yang digunakan tidak terlalu tua atau tidak terlalu muda dan harus tegak. Penyayatan harus menggunakan pisau silet yang tajam agar hasil sayatan halus. Kemudian tanaman yang

selesai di sambung diletakkan didalam sungkup dengan tujuan agar intensitas cahaya matahari tidak langsung mengenai tanaman serta supaya suhu tetap stabil.

Bahan dan Alat yang digunakan dalam mencangkok ini yaitu:

1. Entres pohon durian montong
2. Entres pohon mangga harum manis
3. Entres pohon mangga kuini
4. Entres pohon mangga kongdam
5. Entres pohon mangga kelong
6. Gunting
7. Pisau silet
8. Tali goni
9. Air dan sungkup

Cara kerja sambung pucuk yaitu, entres-entres dari tanaman tersebut disiram dengan air agar tanaman tersebut tidak stres. Kemudian pilih batang bawah, setelah batang bawah dipilih kemudian potong melintang dengan menggunakan pisau silet. Belah batang tersebut secara vertikal, ambil entres sayat pangkal bawah dengan sisi yang berbeda. Setelah itu tempelkan ke batang bawah hingga sayatan tertutup, selanjutnya ikat dengan menggunakan tali goni hingga batas sambungan tersebut. Masukkan kedalam sungkup selama 3 minggu.

4.11.3. Stek Pucuk

Stek merupakan cara perbanyakan tanaman yang sangat populer pada saat ini, karena stek bertujuan untuk menghasilkan tanaman baru melalui pengambilan bagian tanaman dari suatu induk tanaman. Pemberian hormon pada saat menstek bertujuan untuk merangsang pertumbuhan akar agar lebih cepat. Selain itu pemasangan sungkup juga menentukan keberhasilan menstek tanaman, karena sungkup berfungsi sebagai pelindung tanaman dari sinar matahari secara langsung.

Bahan dan Alat yang digunakan dalam mencangkok ini yaitu:

1. Entres pohon jambu kesuma merah
2. Entres pohon jambu deli hijau
3. Gunting
4. Tong plastik
5. Hormon ZPT "HANTU"
6. Sungkup

Cara kerja stek pucuk yaitu, entres dibersihkan, sisakan daun 3-4 lembar. Daun yang disisakan kemudian potong ujungnya dengan gunting. Setelah selesai, entres direndam dengan hormon ZPT "HANTU" selama 30 menit. Kemudian entres ditanam dalam polibeg dan langsung dimasukkan kedalam sungkup.

4.11.4. Okulasi

Okulasi adalah perbanyakan tanaman yang membutuhkan perhatian ekstra. Dimana pada saat pengambilan entres baiknya dilakukan pada pagi hari agar kambium pada batang masih sangat banyak. Pada saat penempelan entres dilakukan dengan cepat, agar kambium pada batang bawah tidak kering. Sebaiknya pada saat mengokulasi, jendela okulasi ini tidak menghadap matahari. Selain itu tujuan pembalutan dengan plastik kaca bertujuan supaya entres yang ditempel cepat merekat dengan batang bawah. Pembukaan plastik okulasi tersebut dilakukan setelah 2-3 minggu entres di tempel atau sampai terlihat mata tunas baru pada entres yang ditempel.

Bahan dan Alat yang digunakan dalam mencangkok ini yaitu:

1. Entres rambutan binjai
2. Batang bawah rambutan
3. Pisau okulasi
4. Gunting
5. Plastik kaca

Pilih dan ambil entres dari pohon induk, kemudian entres dibersihkan dari daun-daunnya, selesai entres dibersihkan, buatlah jendela okulasi pada batang bawah. Setelah jendela terbentuk, tempelkan entres pada jendela okulasi tersebut. Selanjutnya tempelan tersebut balut dengan menggunakan plastik kaca

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

1. UPT-Benih Induk Hortikultura (BIH) Gedung Johor merupakan salah satu tempat penghasil bibit tanaman hortikultura dataran rendah yang bermutu tinggi dan merupakan salah satu Unit Pelayanan Teknik dibawah Dinas Pertanian Provinsi Sumatera Utara.
2. UPT-BIH Gedung Johor mempunyai tiga unit pengembangan skala kerja yaitu kantor pusat, kebun pembenihan dan pembibitan BIH, serta Laboratorium Kultur Jaringan.
3. Sterilisasi ruangan bertujuan untuk mencegah terjadinya kontaminasi pada alat-alat kultur yang ada di ruangan tersebut.
4. Seluruh alat-alat yang digunakan dalam pengerjaan kultur jaringan harus dalam keadaan steril, guna menekan terjadinya kontaminasi.
5. Kegiatan yang dilakukan dalam penanaman diawali dengan sterilisasi alat dan bahan, kemudian tanaman di inkubasikan yang akan di aklimatisasi.
6. Hambatan dalam pelaksanaan kultur jaringan yaitu kontaminasi mikro organisme (jamur dan bakteri) serta terjadinya kematian kalus.
7. Tanaman hasil kultur jaringan di dalam botol steril yang pada tahap berikutnya akan di aklimatisasi di screen house sebelum di pindah tanam ke tanah (lapangan).

5.2. Saran

Berdasarkan hasil Praktek Kerja Lapangan ini disarankan agar Praktek Kerja Lapangan ini dilakukan kurang lebih 3 bulan, supaya ilmu yang di dapat dari tempat PKL tersebut banyak.

DAFTAR PUSTAKA

- Ambarwati, A.D. 1987. Induksi Kalus dan Differensiasi pada Kultur Jaringan *Gnetum gnemon L.* Fakultas Biologi. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Daisy P. Sriyanti Hendaryono dan Ari Wijayani, 1994, *Teknik Kultur Jaringan*, Penerbit Kanisius
- Rukmana, R. dan Mulyana, A.E., 1997. *Budidaya Krisan*. Kanisius, Jakarta.
- Sunarjono, H. 2002. Budidaya Pisang dengan Bibit Kultur Jaringan. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Hartman, H.T. dkk, 1997, *Plant Propagation, principles & practices*
- [Http.www.atjenese.blogspot.com](http://www.atjenese.blogspot.com). Diakses tanggal 21 Januari 2013. Diunduh pada tanggal 07 November 2015.