PETUNJUK TEKNIS
PERBANYAKAN TANAMAN HUTAN MELALUI KULTUR JARINGAN

KEMENTERIAN LINGKUNGAN HIDUP DAN KEHUTANAN
DIREKTORAT JENDERAL PENGENDALIAN DAS DAN HUTAN LINDUNG
DIREKTORAT PERBENIHAN TANAMAN HUTAN
JAKARTA, 2016

KEMENTERIAN LINGKUNGAN HIDUP DAN KEHUTANAN

DIREKTORAT JENDERAL PENGENDALIAN DAERAH ALIRAN SUNGAI DAN HUTAN LINDUNG

DIREKTORAT PERBENIHAN TANAMAN HUTAN

P E T U N J U K T E K N I S

PERBANYAKAN TANAMAN HUTAN MELALUI KULTUR JARINGAN

JAKARTA, 2016

PERATURAN DIREKTUR PERBENIHAN TANAMAN HUTAN
NOMOR : SK. 30/PTH/P3/DAS.2/9/2016

TENTANG

PETUNJUK TEKNIS PERBANYAKAN TANAMAN HUTAN
MELALUI KULTUR JARINGAN

DIREKTUR PERBENIHAN TANAMAN HUTAN

Menimbang :

a. bahwa dalam rangka mendukung keberhasilan Rehabilitasi Hutan dan Lahan serta pembangunan hutan tanaman diperlukan bibit yang berkualitas secara cepat dan berkelanjutan;

b. bahwa perbanyakan tanaman secara berkelanjutan ada kalanya mengalami kendala antara lain jenis tanaman tertentu sulit dikembangkan secara generatif dan benih tidak tersedia sepanjang tahun;

c. bahwa berdasarkan pertimbangan huruf a dan b maka diperlukan petunjuk teknis perbanyakan tanaman hutan melalui kultur jaringan sebagai acuan bagi pelaksana kegiatan yang ditetapkan melalui Peraturan Direktur Perbenihan Tanaman Hutan.

Mengingat :

a. Peraturan Menteri Lingkungan Hidup dan Kehutanan Nomor P.18/MenLHK-II/2015 tentang Organisasi dan Tata Kerja Kementerian Lingkungan Hidup dan Kehutanan;

b. Peraturan Menteri Lingkungan Hidup dan Kehutanan Nomor P.10/MenLHK/Sertjen/OTL/1/2016 tentang Organisasi dan Tata Kerja Balai Pengelolaan Daerah Aliran Sungai dan Hutan Lindung;

c. Peraturan Menteri Lingkungan Hidup dan Kehutanan Nomor P.11/MenLHK/Sertjen/OTL/1/2016 tentang Organisasi dan Tata Kerja Balai Perbenihan Tanaman Hutan.

MEMUTUSKAN :

Menetapkan : **PERATURAN DIREKTUR PERBENIHAN TANAMAN HUTAN TENTANG PETUNJUK TEKNIS PERBANYAKAN BIBIT TANAMAN HUTAN MELALUI TEKNIK KULTUR JARINGAN**

PERTAMA : Petunjuk teknis perbanyakan tanaman hutan melalui kultur jaringan adalah sebagaimana tercantum dalam lampiran keputusan ini.

KEDUA : Petunjuk Teknis Perbanyakan Tanaman Hutan melalui Kultur

Jaringan ini digunakan oleh Unit Pelaksana Teknis Direktorat Jenderal Pengendalian Daerah Aliran Sungai dan Hutan Lindung yang melaksanakan perbanyakan tanaman hutan melalui kultur jaringan.

KETIGA : Peraturan ini mulai berlaku sejak tanggal ditetapkan.

Ditetapkan di Jakarta
Pada tanggal 30 September 2016

DIREKTUR,

IR. MINTARJO, M.M.A
NIP. 19640307 199003 1 003

Salinan Keputusan ini disampaikan Kepada Yth.:
1. Menteri Lingkungan Hidup dan Kehutanan;
2. Pejabat Eselon I Lingkup Kementerian Lingkungan Hidup dan Kehutanan;
3. Pejabat Eselon II lingkup Direktorat Jenderal Pengendalian Daerah Aliran Sungai dan Hutan Lindung;
4. Kepala Dinas Kehutanan Provinsi yang diserahi tugas dan bertanggungjawab di bidang kehutanan di seluruh Indonesia;
5. Unit Pelaksana Teknis Direktorat Jenderal Pengendalian Daerah Aliran Sungai dan Hutan Lindung.

DAFTAR ISI

PERATURAN DIREKTUR PERBENIHAN TANAMAN HUTAN
NOMOR. SK.30/PTH/P3./DAS.2/9/2016
TANGGAL 30 SEPTEMBER 2016

LAMPIRAN PERATURAN DIREKTUR PERBENIHAN TANAMAN HUTAN NOMOR SK.30/PTH/P3./DAS.2/9/2016 TANGGAL 30 SEPTEMBER 2016

DAFTAR ISI i
I. PENDAHULUAN 1
A. Latar Belakang 1
B. Maksud dan Tujuan 2
C. Pengertian 2
II. TEKNIK KULTUR JARINGAN / MIKROPROPOGASI 5
A. Kultur Tunas 5
B. Teknik Organogenesis 7
C. Teknik Embriogenesis Somatik 9
III. PERSIAPAN 12
A. Labolatorium 12
B. Peralatan 14
C. Bahan 15
D. Ruang Aklimatisasi 16
IV. TAHAPAN / PROSES KULTUR JARINGAN 18
A. Pemilahan Jenis 18
B. Penyiapan Tanaman Induk Sumber Eksplan 18
1. Seleksi Sumber Eksplan 18
2. Pemeliharaan Sumber Eksplan 19
3. Pengambilan Eksplan 19
4. Sterilisasi Eksplan 19
C. Inisial Kultur 20
D. Multiplikasi atau Perbanyakan Propagul 20
E. Pemanjangan Tunas, Induksi dan Perkembangan Akar 21
1. Secara In-Vitro 21
2. Secara Ex-Vitro 22
V. PELAPORAN 25
VI. PENUTUP 26
VII. DAFTAR PUSTAKA 27
LAMPIRAN 1.1 Petunjuk Teknis Perbanyakan Bibit dengan Kultur Jaringan..... 28

DAFTAR GAMBAR

PERATURAN DIREKTUR PERBENIHAN TANAMAN HUTAN
NOMOR. SK.30/PTH/P3./DAS.2/9/2016
TANGGAL 30 SEPTEMBER 2016

LAMPIRAN PERATURAN DIREKTUR PERBENIHAN TANAMAN HUTAN NOMOR SK.30/PTH/P3./DAS.2/9/2016 TANGGAL 30 SEPTEMBER 2016

Gambar 1.1 Diagram Alur Proses Produksi Bibit Tanaman menggunakan Teknik Kultur Tunas dengan cara Proliferasi Aksiler 6
Gambar 1.2 Diagram Alur Proses Produksi Bibit Tanaman menggunakan Teknik Kultur Tunas dengan cara Kultur Nodus 7
Gambar 1.3 Diagram Alur Proses Produksi Bibit Tanaman menggunakan Teknik Organogenesis Langsung 8
Gambar 1.4 Diagram Alur Proses Produksi Bibit Tanaman menggunakan Teknik Organogenesis Tidak Langsung 9
Gambar 1.5 Proses Bibit Tanaman menggunakan Teknik Embriogenesis Somatik Langsung 10
Gambar 1.6 Diagram Alur Proses Produksi Bibit Tanaman menggunakan Teknik Embriogenesis Somatik Tidak Langsung 11
Gambar 1.7 Gambar Ruangan Labolatorium Sederhana 12
Gambar 1.8 Ruang Pencucian 13
Gambar 1.9 Ruang Persiapan Media 13
Gambar 2.0 Ruang Transfer 13
Gambar 2.1 Ruang Kultur 14

LAMPIRAN 1. Keputusan Direktur Perbenihan Tanaman Hutan tentang Petunjuk Teknis Perbanyakan Tanaman dengan Kultur Jaringan

Nomor : SK.30/PTH/P.3/DAS.2/9/2016

Tanggal : 30 September 2016

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Kultur jaringan adalah teknologi yang digunakan dalam kegiatan bioteknologi yang diperkenalkan oleh Gottlieb Haberland pada tahun 1902. Pada tahun 1902 tersebut, Habberland telah mengisolasi sel tunggal in-vitro dari bagian daun ke dalam media. Pada tahun 1939, penelitian ini dilanjutkan oleh WJ.Robinson; W.Kotte dan P.R.White dengan melakukan kultur jaringan pada jaringan callus dari berbagai bagian tumbuhan wortel dan penelitian yang dilakukan merupakan tonggak sejarah keberhasilan kultur jaringan tumbuhan. Dari hasil penelitian tersebut disimpulkan bahwa pelaksanaan kultur jaringan ini dapat diambil dari semua bagian tumbuhan.

Kultur jaringan menjadi penting karena beberapa faktor antara lain:

1. Jaringan diambil dari tissue merismatik yang biasanya terbebas dari virus;
2. Cara tercepat untuk memproduksi bibit dalam jumlah banyak;
3. Mengingat kultur tersebut tumbuh dalam kondisi yang terkontrol, maka pada umumnya bibit yang dihasilkan akan lebih sehat;
4. Seperti pada umumnya pertumbuhan vegetative lainnya (asexual) maka tumbuhan yang dihasilkan oleh kultur jaringan akan mempertahankan gen induknya, dan akan menjadi lebih penting bagi tumbuhan yang sudah tidak memproduksi secara generative (sexual)

Oleh karena itu, kultur jaringan sangat bermanfaat dalam rangka mempercepat proses perkembangbiakan/regenerasi secara cepat, dalam skala banyak (massal), kualitas seragam, tanpa tergantung musim karena tidak semua jenis tersedia benihnya setiap tahun, terutama untuk jenis-jenis yang susah berkembang biak secara alamiah, sehingga kultur jaringan memiliki kontinuitas yang lebih tinggi dibandingkan regenerasi secara alami.

Pada tahun 2015, Direktorat Jenderal Pengendalian DAS dan Hutan Lindung mulai merintis perbanyakan tanaman melalui kultur jaringan pada 10 (sepuluh) unit Persemaian Permanen (PP), dengan harapan untuk meningkatkan produksi bibit yang berkualitas yang dapat menghasilkan produktifitas serta kualitas tegakan yang lebih baik seperti pohon induknya.

Mengingat proses dan tahapan perbanyakan tanaman melalui kultur jaringan ini cukup kompleks dan memerlukan keahlian dan ketrampilan teknis yang baik, maka dipandang perlu untuk menyusun petunjuk teknis perbanyakan tanaman melalui kultur jaringan.

B. Maksud dan Tujuan

1. Maksud

   Petunjuk Teknis ini dimaksudkan sebagai acuan bagi semua pihak yang terkait dengan kegiatan pengembangan Kultur Jaringan, khususnya UPT Direktorat Jenderal Pengendalian Daerah Airan Sungai dan Hutan Lindung yang mengelola laboratorium kultur jaringan.

2. Tujuan

   Petunjuk Teknis ini bertujuan agar pelaksanaan pengembangan Kultur Jaringan dapat berjalan dengan efektif dan efisien.

C. Pengertian

Dalam perbanyakan tanaman melalui kultur jaringan, banyak istilah-istilah yang umum digunakan. Istilah-istilah dalam kultur jaringan itu antara lain adalah sebagai berikut:

1. Aklimatisasi yaitu proses penyesuaian suatu organisme/ individu terhadap perubahan lingkungan hidupnya (lingkungan yang baru).
2. Aseptik yaitu menumbuhkan jaringan tanaman pada kondisi bebas kontaminasi mikroba.
3. Dediferensiasi yaitu kembali dari sifat diferensiasi ke non-diferensiasi atau kemampuan sel-sel masak (mature) kembali ke kondisi meristematik dan berkembang dari satu titik pertumbuhan baru yang diikuti oleh dediferensiasi yang mampu melakukan reorganisasi manjadi organ baru.
4. Diferensiasi yaitu pertumbuhan sel/jaringan dengan fungsi spesifik.

5. Desinfeksi atau sterilisasi eksplan yaitu proses menghilangkan kontaminan permukaan eksplan yang kemungkinan dapat tumbuh di lingkungan kultur jaringan dan berakibat mematikan eksplan.
6. Eksplan yaitu bagian dari tanaman yang digunakan sebagai bahan untuk inisiasi suatu kultur pada proses mikropropagasi atau kultur jaringan.
7. Embriogenesis yaitu terbentuknya embrio somatik, yaitu embrio yang terbentuk bukan dari zigot, tapi dari sel atau jaringan tanaman.
8. Ex vitro yaitu menumbuhkan di luar wadah kaca, pada lingkungan yang terkendali.
9. Habituasi yaitu suatu fenomena setelah beberapa kali subkultur, sel dapat tumbuh tanpa penambahan hormon.
10. Inisiasi adalah pengambilan eksplan dari bagian tanaman yang akan dikulturkan.
11. In vitro yaitu kultur organ atau sel pada medium pertumbuhan yang mengandung nutrisi, di dalam suatu wadah terbuat dari kaca/gelas (erlenmeyer, botol kaca dan sebagainya) dan dalam kondisi lingkungan yang terkontrol.
12. Jaringan meristematik merupakan kelompok jaringan muda yang selalu tumbuh dan terletak di ujung-ujung pertumbuhan.
13. Kalus yaitu jaringan yang aktif membelah, yang tidak mengalami diferensiasi.
14. Kriopreservasi yaitu penyimpanan biji atau bagian vegetatif tanaman pada temperatur yang sangat rendah, misalnya dalam nitrogen cair -196ºC.
15. Organogenesis yaitu terbentuknya organ, seperti tunas, akar dan sebagainya.
16. Planlet yaitu tanaman hasil kultur jaringan, mempunyai tunas dan akar.
17. Proliferasi yaitu pertumbuhan sel yang luar biasa, tunas, atau embrio mikropropagasi yang sangat cepat.
18. Subkultur yaitu proses memisahkan kultur jaringan yang sudah tumbuh banyak (tunas-tunas mikro atau kalus) menjadi bagian yang lebih kecil kemudian memindahkannya ke medium yang baru.
19. Tunas aksiler yaitu tunas samping, atau tunas yang berasal dari calon tunas yang terdapat pada batang.
20. Tunas apical adalah tunas yang tumbuh di pucuk (puncak) batang;

21. Tunas adventif yaitu tunas yang muncul dari tempat yang tidak seharusnya tunas itu tumbuh, misalnya akar, daun, bunga, atau batang yang tidak ada tunasnya.
22. Zigot yaitu telur yang terbuahi.
23. Totipotensi yaitu kemampuan suatu sel untuk tumbuh menjadi tanaman baru apabila diletakkan pada lingkungan tumbuh yang sesuai.

II. TEKNIK KULTUR JARINGAN/MIKROPROPOGASI

Pengertian teknik kultur jaringan adalah cara perbanyakan tanaman dengan menggunakan bagian vegetatif tanaman dan media buatan yang dilakukan di tempat steril.

Kultur Jaringan/mikropropagasi dilakukan dengan cara mengisolasi bagian tanaman seperti daun, mata tunas, serta menumbuhkan bagian-bagian tersebut dalam media buatan secara aseptik yang kaya nutrisi dan zat pengatur tumbuh dalam wadah tertutup yang tembus cahaya sehingga bagian tanaman dapat memperbanyak diri dan beregenerasi menjadi tanaman lengkap

Teknik mikropropagasi dapat dilakukan dengan 3 (tiga) cara, yaitu : kultur tunas, teknik organogenesis, serta teknik embriogenesis somatik.

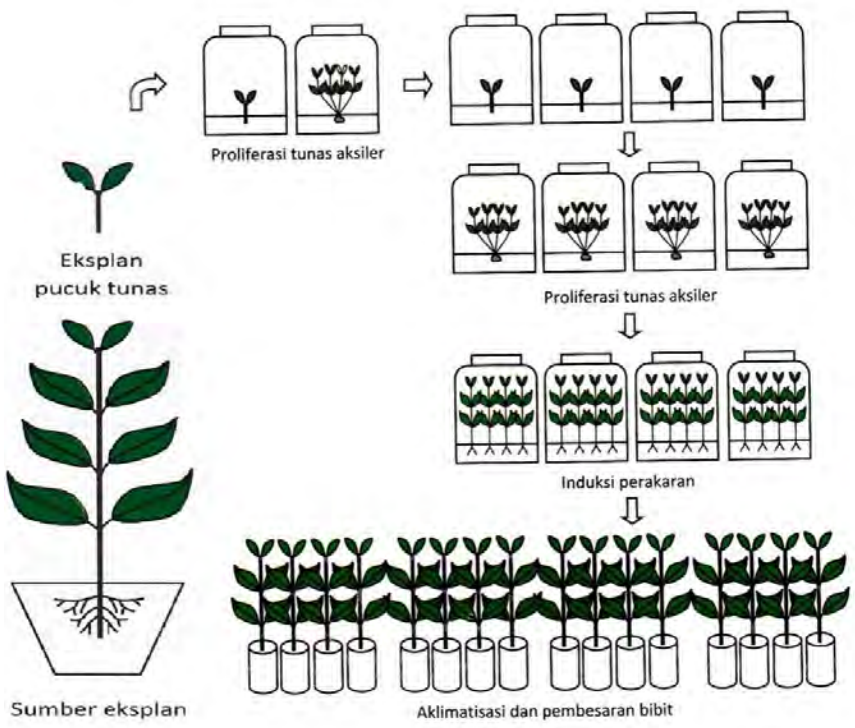
A. Kultur Tunas

Kultur tunas adalah perbanyakan tanaman dengan cara merangsang pertumbuhan (proliferasi) tunas aksiler/lateral yang sudah ada pada eksplan. Pada umumnya terdapat 4 (empat) tahapan kultur tunas, yaitu:

1. inisiasi tunas;
2. multiplikasi tunas;
3. induksi perakaran;
4. dan aklimatisasi.

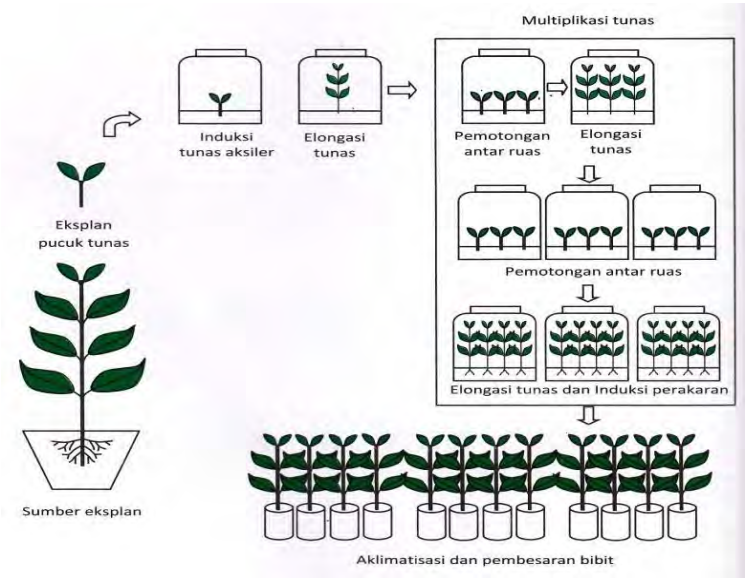
Terdapat 2 (dua) cara untuk melakukan kultur tunas, yaitu dengan:

1. Meningkatkan jumlah pertumbuhan (proliferasi) tunas aksiler. Satu buah nodus dirangsang untuk tumbuh banyak tunas aksiler/lateral. Hal ini dilakukan dengan cara mematikan dominansi apikal serta menginduksi pertumbuhan tunas lateral menggunakan zat pengatur tumbuh (ZPT) sitokinin pada media kultur (Gambar 1.1). Mematikan dominansi apikal dapat dilakukan dengan cara memotong/mematikan tunas apeks.



Gambar 1.1. Diagram alur proses produksi bibit tanaman menggunakan teknik kultur tunas dengan cara proliferasi aksiler (Sumber Gambar : Sulistiani E, Yani SA, 2012)

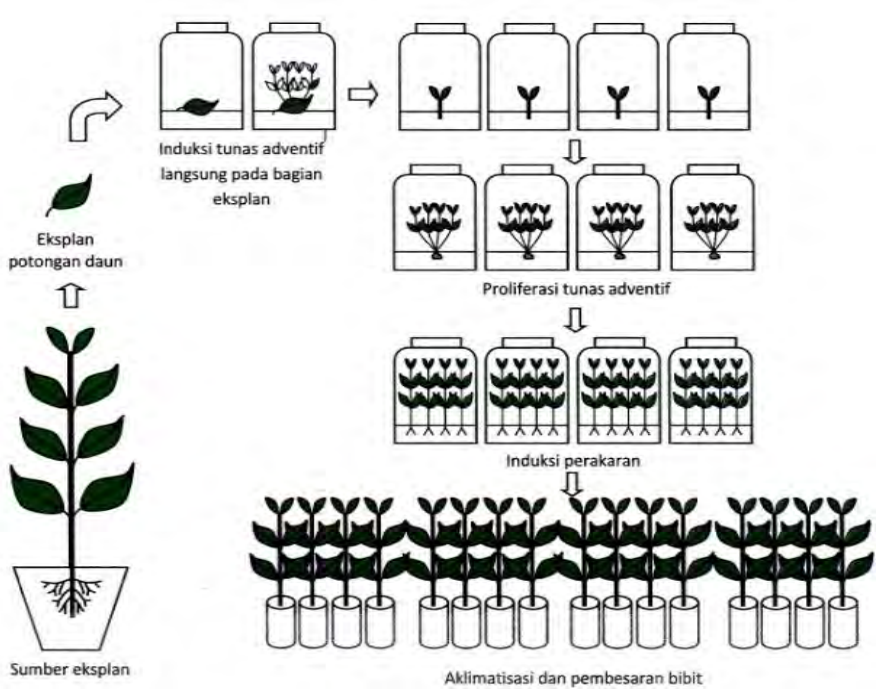
2. Menumbuhkan tinggi tunas 5-10 cm tanpa cabang dan mempunyai 4-5 nodus tunas yang kemudian dipotong-potong dengan satu buah nodus (calon tunas) pada setiap potongan batang. Dengan penambahan ZPT sitokinin pada media kultur, setiap nodus tersebut kembali diinduksi tunas baru. Cara kultur tunas ini sering kali disebut dengan kultur nodus (Gambar 1.2).



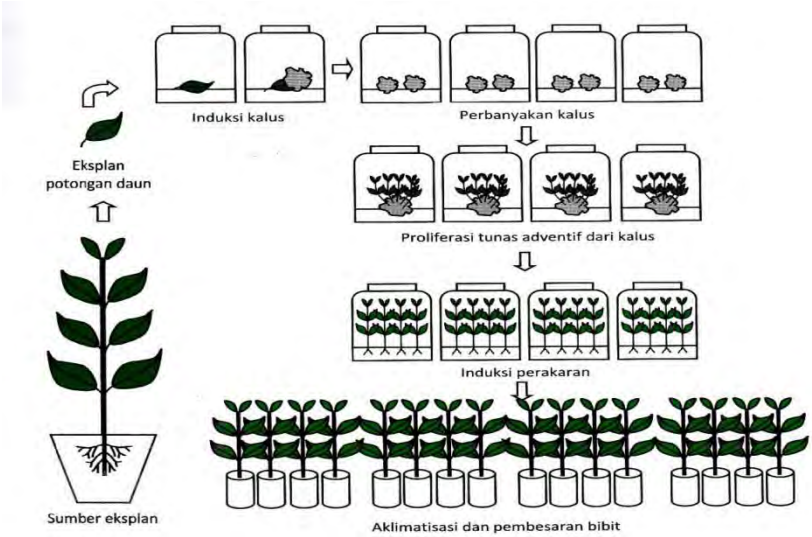
Gambar 1.2. Diagram alur proses produksi bibit tanaman menggunakan teknik kultur tunas dengan cara kultur nodus (Sumber Gambar : Sulistiani E, Yani SA, 2012).

B. Teknik Organogenesis

Organogenesis adalah proses pembentukan tunas dari eksplan yang tidak memiliki jaringan meristematik. Tunas yang dihasilkan disebut dengan tunas adventif. Tunas ini tumbuh pada bagian tanaman yang tidak umum, seperti bagian daun, bagian batang antara nodus (internode), kotiledon atau akar. Tunas adventif dapat langsung terbentuk dari jaringan eksplan, misalnya tunas tumbuh langsung dari bagian daun, peristiwa ini disebut organogenesis langsung (gambar 1.3). Adapun tunas adventif yang secara tidak langsung dari eksplan, membentuk kalus terlebih dahulu kemudian muncul tunas adventif dari kalus tersebut, peristiwa ini disebut organogenesis tidak langsung (gambar 1.4).



Gambar 1.3. Diagram alur proses produksi bibit tanaman menggunakan teknik organogenesis langsung (Sumber Gambar : Sulistiani E, Yani SA, 2012).



Gambar 1.4. Diagram alur proses produksi bibit tanaman menggunakan teknik organogenesis tidak langsung (Sumber Gambar : Sulistiani E, Yani SA, 2012).

Teknik organogenesis mempunyai teknik multiplikasi tunas yang lebih tinggi dibandingkan dengan teknik lainnya. Teknik ini dapat menghasilkan tunas dalam jumlah banyak dalam waktu yang relatif singkat, dan menghasilkan variasi/ mutasi genetik yang tinggi pada bibit yang dihasilkan, sehingga teknik ini akan sesuai untuk tujuan produksi bibit yang mengharapkan keragaman genetik pada bibit yang dihasilkan, seperti tanaman hias. Teknik organogenesis ini tidak sesuai untuk produksi bibit tanaman kehutanan, karena tanaman kehutanan tidak memerlukan keragaman genetic pada produksi bibit yang dihasilkan.

C. Teknik Embriogenesis Somatik

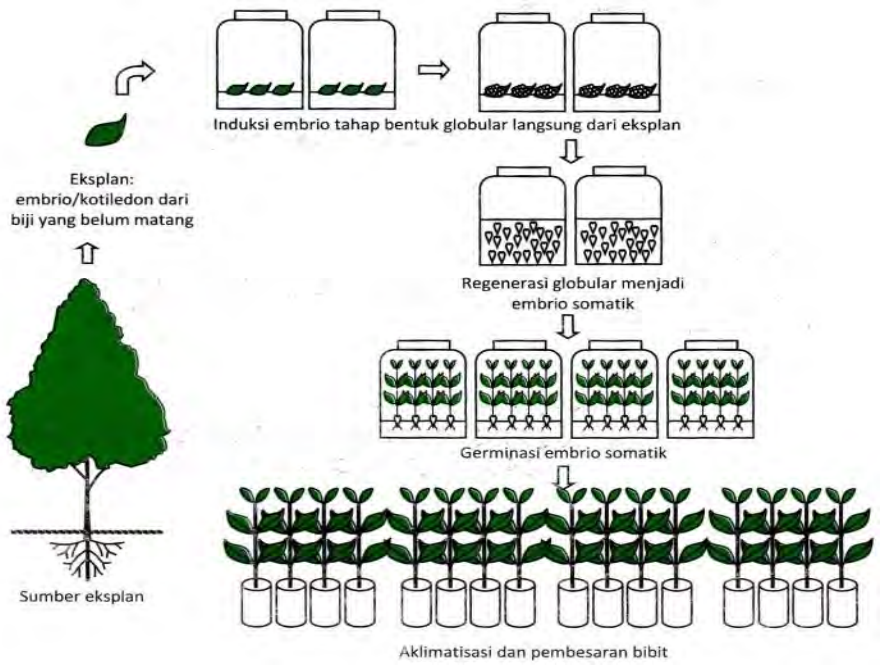
Embriogenesis somatik adalah proses pembentukan embrio dari jaringan somatik tanaman. Pada teknik mikropropagasi ini, sel-sel somatik berkembang melalui pembelahan sel dan membentuk embrio yang sama dengan embrio somatik, yaitu mempunyai struktur bipolar, yang terdiri atas jaringan meristem tunas dan meristem akar. Embrio somatik ini dapat tumbuh :

1. secara langsung dari bagian eksplan, atau
2. secara tidak langsung melalui fase pembentukan kalus terlebih dahulu.

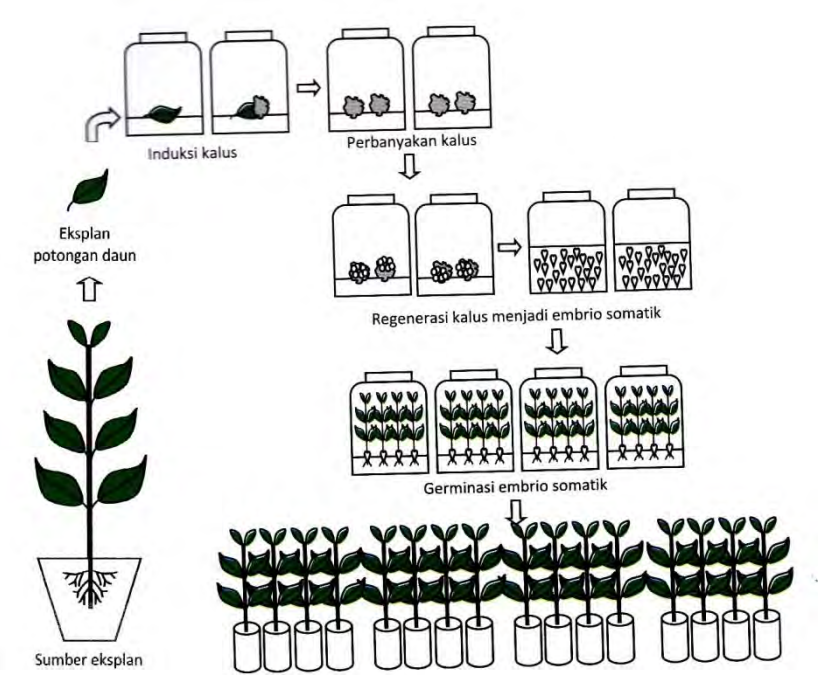
Eksplan yang sering digunakan dalam teknik embriogenesis somatik langsung adalah embrio zigotik yang belum matang (immature), sedangkan teknik embriogenesis somatik tidak langsung dimulai dengan tahap induksi kalus. Peristiwa teknik embriogenesis somatik secara langsung dapat terjadi disebabkan karena jaringan eksplan sudah bersifat embriogenetik sehingga

hanya memerlukan sedikit perlakuan zat pengatur tumbuh (ZPT) untuk mengubahnya menjadi embrio somatik.

Teknik embriogenesis somatik biasanya digunakan pada tanaman yang sulit diperbanyak dengan teknik kultur tunas. Teknik embriogenesis somatik sangat potensial dalam menghasilkan bibit dalam skala besar, dan pelaksanaannya lebih sulit dilakukan dibandingkan dengan teknik mikropropagasi lainnya sera membutuhkan dukungan media cair. Teknik ini tidak sesuai untuk produksi bibit tanaman kehutanan karena membutuhkan biaya tinggi dan tenaga yang terampil.



Gambar 1.5. Diagram alur proses produksi bibit tanaman menggunakan teknik embriogenesis somatik langsung (Sumber Gambar : Sulistiani E, Yani SA, 2012).



Gambar 1.6. Diagram alur proses produksi bibit tanaman menggunakan teknik embriogenesis tidak langsung (Sumber Gambar : Sulistiani E, Yani SA, 2012).

III. PERSIAPAN

Pelaksanaan teknik kultur jaringan memerlukan sarana dan prasarana, antara lain:

A. Laboratorium

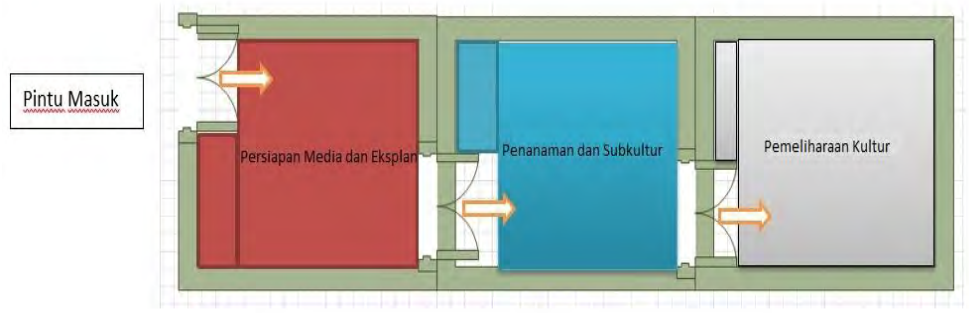
Pelaksanaan penerapan teknik kultur jaringan harus dilakukan dalam laboratorium dengan lingkungan aseptik dan terkendali.

Laboratorium kultur jaringan mempunyai pembagian ruangan yang diatur saling terhubung dan mudah tercapai, yatu:

1. Ruang persiapan media dan eksplan
2. Ruang penanaman dan subkultur
3. Ruang pemeliharaan kultur

Pada laboratorium kultur jaringan sederhana, ruangan laboratorium dapat dibagi menjadi dua ruangan, yaitu :

1. Ruangan non-aseptik, dimana dalam ruangan tersebut dilakukan kegiatan persiapan media dan eksplan;
2. Ruangan aseptik, dimana dalam ruangan aseptik dilakukan penanaman, subkultur dan pemeliharaan kultur.



Gambar 1.7. Gambar Ruangan Laboratorium Sedehana

Dalam ruangan aseptik, setiap orang yang masuk harus secara disiplin menjaga kondisi aseptik yang ada serta mematuhi ketentuan yang diberlakukan.

Ruangan2 yang ada dalam Laboratorium tersebut memiliki fungsi masing, yaitu:

Gambar 1.8. Ruang Pencucian

a. Ruang Pencucian

Fungsi utama ruang pencucian adalah untuk melakukan sterilisasi alat dan bahan media dengan menggunakan autoclave dan mencuci peralatan laboratorium yang sudah kotor setelah dipakai. Dalam ruang pencucian harus terdapat bak cuci, rak pengering,saluran air untuk demineralisasi atau destilasi.

Gambar 1.9. Ruang Persiapan Media

b. Ruang Persiapan Media

Fungsi ruang persiapan adalah sabagai tempat penyimpanan peralatan gelas dan alat-alat laboratorium lainnya serta bahan kimia.

Di ruang ini kegiatan penimbangan bahan kimia dan bahan penunjang lainnya, pengukuran, persiapan pembuatan media dan hormon dilakukan. Di dalam ruang ini harus tersedia tempat untuk penyimpanan bahan-bahan kimia, botol kultur, dan peralatan gelas yang diperlukan untuk pembuatan media.

Gambar 2.0. Ruang Transfer

c. Ruang Transfer

Fungsi ruang transfer ini adalah sebagai tempat antara (singgah sementara) untuk kultur jaringan yang sedang maupun yang sudah dibuat. Ruang transfer ini terisi oleh :

1) Laminar air flow, yaitu alat yang menyediakan lingkungan steril untuk melakukan subkultur dan inisiasi. Laminar air flow cabinet yang digunakan untuk kultur jaringan adalah tipe horizontal dan dirancang dengan mempunyai ruang yang bebas dari partikel debu yang halus dan dilengkapi dengan sinar ultra violet (uv) serta unit penyaring udara. Penyaring udara harus mempunyai filter udara dengan efisiensi tinggi (High Efficiency Particulate Air (HEPA)). Hepa filter harus mempunyai pori sekitar 0,3 µm dengan efisiensi kerja berkisar 99,97 % - 99,9 %.

2) Lemari/rak untuk penyimpanan media yang sudah steril.

Gambar 2.1. Ruang Kultur

d. Ruang Kultur

Ruang kultur merupakan tempat menyimpan botol yang berisi kultur aseptik dari tanaman yang diproduksi. Ruangan ini harus terjaga kebersihannya dan dihindari terlalu banyak orang keluar masuk. Ruangan ini berisi rak-rak kultur yang berfungsi untuk menampung botol-botol kultur yang berisi tanaman. Rak ini juga dilengkapi dengan lampu-lampu sebagai sumber cahaya bagi tanaman kultur.

Ruang kultur harus dalam suhu ruangan secara terus menerus dengan temperatur 25±2ºC dan diterangi dengan lampu TL /SL berdaya 15 watt atau 40 watt, tergantung panjang rak yang dibuat. Jarak antar rak 30 – 35 cm. Travo lampu diletakkan di luar ruang kultur untuk meghindari terbakarnya tanaman kultur dan membuat suhu ruang menjadi panas.

Tinggi rak antara 50 – 60 cm. Dalam satu bidang rak memakai 2 sampai dengan 3 lampu TL/SL daya 8 – 10 watt tergantung ukuran panjang rak. periode terang (1000—3000 lux) dan panjang penyinaran/lama penyinaran yang dibutuhkan oleh tiap tanaman berbeda-beda. Lama penyinaran tergantung pada jenis tanaman dan respon yang diinginkan. Kultur jenis tanaman tertentu ada yang membutuhkan waktu penyinaran yang terus menerus, ada yang 14 – 16 jam/hari, ada yang 10 – 12 jam/hari. Rata-rata waktu penyinaran yang efektif adalah 12 – 16 jam/hari

B. Peralatan

Beberapa peralatan utama yang diperlukan dalam proses kultur jaringan adalah :

1. Rak Kultur
2. Laminar Air flow
3. Autoclaf
4. Destilasi air
5. Timbangan Analitik
6. pH Meter
7. Magnetic Stirrer
8. Air Conditioner (AC)
9. Referigerator

C. Bahan

Beberapa bahan yang diperlukan oleh untuk perbanyakan tanaman melalui kultur jaringan adalah :

1. Air Destilasi (Akuades)

   Air destilasi (akuades) adalah air yang dihasilkan dari penyulingan, yang bebas mineral dan senyawa organik. Akuades yang digunakan untuk media harus benar-benar berkualitas baik, karena air meliputi > 95% komponen media.

   Air yang digunakan untuk media kultur tidak bisa menggunakan air kran, sumur ataupun air mineral dalam kemasan karena terlalu banyak mengandung kontaminasi bahan organik, anorganik atau mikroorganisme. Rendahnya kualitas air akan menyebabkan pertumbuhan tanaman terhambat.

2. Garam-garam anorganik

   Garam-garam organic pada media kultur jaringan berfungsi untuk memenuhi kebutuhan unsur hara tanaman in vitro, baik unsur makro maupun unsur mikro.

   a. Unsur hara makro adalah unsur hara yang dibutuhkan tanaman dalam jumlah takaran > 5 mmol/L (lebih banyak), meliputi unsur :

      1) Nitrogen (N)
      2) Fosfor (P)
      3) Potassium (K)
      4) Kalsium (Ca)
      5) Sulfur (S)
      6) Magnesium (Mg).

   b. Unsur hara mikro adalah unsur hara yang dibutuhkan tanaman dalam jumlah takaran < 5 mmol/L (lebih sedikit), meliputi unsur :

      1) Besi (Fe)
      2) Tembaga (Cu)
      3) Mangan (Mn)
      4) Seng (Zn)
      5) Boron (B)
      6) Molybdenum (Mo)
      7) Kobalt (Co).

3. Zat Pengatur Tumbuh (ZPT)

   ZPT umumnya disintesis pada bagian tertentu tanaman, kemudian ditranslokasikan ke bagian lain tanaman dimana zat tersebut menimbulkan respons biokimia, fisiologi dan morfologi (Watimena 1987)

4. Vitamin dan bahan organik lainnya

   Vitamin dibutuhkan sebagai katalis dalam berbagai proses metabolisme. Vitamin yang sering digunakan adalah dari kelompok vitamin B, yaitu Thiamin-HCL (Vitamin-B1), piridoksin-HCL (Vitamin B6), riboplafin (Vitamin B2), dan asam panthotenat (B5).

5. Gula

   Gula yang sering digunakan adalah sukrosa, sehingga gula pasir yang digunakan sehari-hari dapat dipakai untuk media kultur karena mengandung 99,9% sukrosa. Glukosa dan fruktosa dapat digunakan tetapi hasilnya tidak lebih baik daripada sukrosa. Konsentrasi sukrosa yang umum digunakan adalah 2-3 %.

6. Agar

   Agar adalah bahan pemadat larutan yang paling sering digunakan dalam kultur jaringan tanaman karena gel-nya stabil pada semua temperature inkubasi kultur tanaman. Selain itu, gelnya tidak dicerna oleh tanaman dan tidak bereaksi kuat dengan komponen media lainnya.

D. Ruang Aklimatisasi

Aklimatisasi merupakan kegiatan akhir teknik kultur jaringan dan merupakan proses adaptasi dari tanaman hasil kultur jaringan terhadap lingkungan baru, yaitu lingkungan tumbuh yang kurang aseptik.

Ruang aklimatisasi dapat dilakukan di rumah kaca atau persemaian. Planlet yang dapat diaklimatisasi adalah planlet yang telah memiliki organ penting secara lengkap seperti daun, akar, dan batang (jika ada), sehingga di lingkungan luar, planlet dapat melanjutkan pertumbuhannya dengan baik.

Proses aklimatisasi memerlukan media yang tepat untuk pertumbuhan planlet. Proses ini dilakukan dengan memindahkan planlet kedalam polybag yang berisi media dan disungkup dengan plastik bening. Fungsi sungkup adalah 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 baru, maka secara bertahap sungkup dilepaskan, selanjutnya pemeliharaan bibit dilakukan dengan cara yang sama dengan pemeliharaan bibit generatif.

Bak aklimatisasi dapat menggunakan bak plastik atau styrofoam, tergantung pada ketersediaan bahan yang ada. Aklimatisasi planlet juga bisa langsung ditanam dalam bak besar berisi tanah yang sudah disterilisasi, kemudian bak tersebut ditutup/disungkup plastik agar planlet tidak terkena cahaya matahari langsung dan menjaga kelembaban udara tetap tinggi.

Periode penyimpanan plantlet yang sudah dipindahkan pada bak aklimatisasi antara 4-6 minggu, tergantung pada jenis tanaman. Planlet yang diaklimatisasi tanpa akar akan membutuhkan waktu lebih lama dibandingkan dengan planlet yang sudah memiliki akar.

IV. TAHAPAN/PROSES KULTUR JARINGAN

Tahapan pelaksanaan kultur jaringan ada 4 (empat), yaitu:

A. Pemilihan Jenis;

B. Penyiapan Tanaman Induk Sumber Eksplan

C. Inisial Kultur

D. Multiplikasi atau Perbanyakan Propagul

E. Pemanjangan Tunas, Induksi, dan Perkembangan Akar

F. Aklimatisasi

A. Pemilihan Jenis

Pemilihan jenis tanaman untuk kultur jaringan Tanaman Hutan perlu mempertimbangkan beberapa hal :

1. Jenis yang banyak diminati oleh masyarakat dan memiliki nilai ekonomi tinggi.
2. Jenis yang sulit untuk dikembangkan secara generatif, misalnya karena benihnya sulit didapatkan, musim berbuah tidak setiap tahun, benih tidak dapat disimpan lama (recalcitrant) dll.
3. Jenis unggulan lokal.
4. Varietas unggul.
5. Jenis yang sudah diteliti oleh Badan Litbang, yaitu yang telah terbukti bisa dikembangkan melalui kultur jaringan.
6. Jenis tanaman yang sudah hampir punah (konservasi).

B. Penyiapan Tanaman Induk Sumber Eksplan

1. Seleksi Sumber Eksplan
   a. Tanaman harus sehat dan bebas dari hama dan penyakit, serta memiliki karakter genetic unggul.
   b. Tanaman indukan sumber eksplan tersebut harus dikondisikan dan dipersiapkan secara khusus di rumah kaca atau *greenhouse* agar eksplan yang akan dikulturkan sehat dan dapat tumbuh baik serta bebas dari sumber kontaminan pada waktu dikulturkan secara in-vitro.

2. Pemeliharaan Sumber Eksplan

a. Pada saat tunas aksiler mulai tumbuh, tanaman induk dijaga agar tidak terkena penyakit jamur atau bakteri dengan cara disemprotkan fungisida sistemik.

b. Tanaman induk harus dijaga agar terhindar dari hama, biasanya hama yang sering menyerang tanaman induk dirumah kaca adalah hama kutu atau semut.

3. Pengambilan Eksplan

Pada tahap ini, umur fisiologis dan ontogenetik tanaman induk, serta ukuran eksplan bagian tanaman yang digunakan merupakan hal utama. Langkah-langkah yang harus dilakukan adalah sebagai berikut:

a. Pilih Bagian tanaman yang digunakan sebagai eksplan yaitu jaringan muda yang sedang aktif tumbuh.
b. Ukuran eksplan jangan terlalu besar agar tetap steril, karena semakin besar ukuran eksplan, semakin banyak mikroorganisme kontaminan dan memiliki sel-sel yang lebih tua sehingga pertumbuhannya menjadi lambat pada saat dikulturkan.
c. Lakukan sterilasasi eksplan.

4. Sterilisasi Eksplan

Eksplan yang disterilisasi adalah eksplan yang muda, bebas kotoran, dan penyakit serta terhindar dari semut atau kutu putih.

Tahapan sterilisasi eksplan yaitu sebagai berikut :

a. Bersihkan permukaan eksplan dengan cara mengupas dan/ atau mencucinya dengan sabun. Pada eksplan yang banyak membawa mikroorganisme kontaminan seperti umbi, pisang atau talas yang berasal dari media tanah, sebaiknya dicuci dengan air mengalir cukup lama.

b. Lakukan perendaman eksplan terlebih dahulu berturut-turut dalam larutan fungisida dan bakterisida. Hal ini cukup efektif untuk mengurangi mikroorganisme yang ada pada permukaan eksplan.

c. Matikan mikroorganisme yang menempel pada eksplan menggunakan disinfektan, yaitu bahan kimia yang bersifat toksik bagi mikroorganisme tetapi non-toksik bagi tanaman.

C. Inisiasi Kultur

Inisiasi kultur adalah propagasi secara in-vitro dengan pembuatan kultur dari eksplan yang bebas mikroorganisme serta inisiasi pertumbuhan baru (Wetherell, 1976). Pada tahap ini mengusahakan kultur harus aseptik atau aksenik. Aseptik berarti bebas dari mikroorganisme, sedangkan aksenik berarti bebas dari mikroorganisme yang tidak diinginkan.

Dalam tahap ini, eksplan yang dikulturkan akan menginisiasi pertumbuhan baru, sehingga akan memungkinkan dilakukannya pemilihan bagian tanaman yang tumbuhnya paling kuat untuk perbanyakan (multiplikasi) kultur tahap selanjutnya (Wetherell, 1976).

Masalah yang sering dihadapi pada kultur tahap ini adalah terjadinya pencokelatan atau penghitaman bagian eksplan (*browning*). Hal ini disebabkan oleh senyawa fenol yang timbul akibat stress mekanik akibat pe-luka-an pada waktu proses isolasi eksplan dari tanaman induk. Senyawa fenol tersebut bersifat toksik, menghambat pertumbuhan atau bahkan dapat mematikan jaringan eksplan.

D. Multiplikasi atau Perbanyakan Propagul

Multiplikasi atau penggandaan tunas adalah tahapan dimana tunas yang terbentuk pada tahap inisiasi tunas, dirangsang untuk menggandakan diri atau membentuk tunas-tunas baru.

Multiplikasi tunas ini pada umumnya terdapat dua tahap. Pertama, tunas diinduksi atau dirangsang untuk membentuk tunas-tunas baru di media induksi tunas. Kedua, tunas-tunas yang berhasil diinduksi disubkultur ke medium elongasi tunas agar tunas-tunas tersebut mengalami pertumbuhan tinggi. Setelah tunas mengalami pertumbuhan tinggi, tunas dipotong-potong kembali dan disubkulturkan ke media induksi tunas. Begitu seterusnya, induksi tunas dan elongasi tunas dilakukan secara berulang-ulang untuk memperbanyak kultur hingga mencapai jumlah yang diinginkan. Eksplan yang hidup dan tidak terkontaminasi (aseptik) dari tahap inisiasi dipindahkan atau di sub kulturkan ke media yang mengandung sitokinin.

Perbanyakan dengan pembentukann tunas adventif umumnya lebih cepat meningkatkan jumlah propagul, dibandingkan dengan perangsangan tunas lateral, tetapi frekuensi terjadinya tanaman off-type, penyimpangan genetik (aberasi) dan gejala ketidak normalan (vitrifikasi)juga lebih tinggi.

E. Pemanjangan Tunas, Induksi, dan Perkembangan Akar

Proses ini adalah untuk membentuk akar dan pucuk tanaman yang cukup kuat agar dapat bertahan hidup sampai dipindahkan dari lingkungan in-vitro ke lingkungan luar. Proses ini ditekankan agar kultur tanaman memiliki ketahanan dari pengaruh lingkungan dan siap diaklimatisasikan (Wetherell, 1976).

Proses yang dilakukan adalah memindahkan tunas-tunas yang dihasilkan dari tahap multiplikasi ke media lain untuk pemanjangan tunas. Media untuk pemanjangan tunas mengandung sitokinin sangat rendah atau tanpa sitokinin.

Pemindahan tunas dapat dilakukan secara individu atau berkelompok. Pemanjangan tunas secara berkelompok lebih ekonomis daripada secara individu, dimana pemanjangan tunas bertujuan untuk pengakaran. Pengakaran tunas in-vitro dapat dilakukan dengan memindahkan tunas ke media pengakaran yang umumnya memerlukan auksin seperti NAA atau IBA.

Keberhasilan tahap ini tergantung kualitas tunas yang dihasilkan pada tahap sebelumnya. Beberapa perlakuan, misalnya hardening in vitro dapat meningkatkan kualitas tunas, sehingga planlet atau tunas mikro tersebut dapat diaklimatisasikan dengan persentase yang lebih tinggi.

Beberapa perlakuan yang dapat meningkatkan kualitas tunas dan dapat meningkatkan keberhasilan pada proses selanjutnya yaitu proses aklimatisasi :

1. Meletakkan kultur di tempat dengan kondisi pencahayaan berintensitas lebih tinggi (contohnya 10.000 lux) dengan suhu lebih tinggi.
2. Pemanjangan tunas mikro dilakukan dalam media kultur dengan hara mineral dan sukrosa berkadar konsentrasi lebih rendah sedangkan kadar konsentrasi agar-agar lebih tinggi.

Induksi perakaran adalah tahapan dimana tunas-tunas yang dihasilkan pada tahap multiplikasi tunas ditumbuhkan di media yang mengandung Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) sehingga dapat merangsang pertumbuhan akar. Induksi perakaran dapat dilakukan secara in vitro maupun ex vitro.

1. Secara In-Vitro

   Tunas disubkultur ke media induksi akar yang umumnya mengandung ZPT auksin pada konsentrasi tinggi dan ZPT sitokinin pada konsentrasi yang sangat rendah atau nol. Media induksi akar biasanya mengandung media dasar dengan kandungan hara makro setengah dari konsentrasi normal. Pada tanaman tertentu seperti pisang dan talas, media induksi perakaran

biasanya tidak mengandung ZPT auksin, cukup dengan mendia dasar dengan kandungan hara makro setengah dari konsentrasi normal.

2. Secara Ex-Vitro

   Produksi bibit kultur jaringan secara komersial biasanya menghindari akar secara in vitro karena untuk menghemat biaya produksi. Proses induksi akar secara ex vitro dilakukan pada saat tanaman diaklimatisasi contohnya seperti pada tanaman jati. Pada saat aklimatisasi, ujung bawah tunas diolesi ZPT penumbuh akar. Kemudian tunas langsung ditanam di media aklimatisasi, setelah satu bulan tunas tersebut sudah lengkap mempunyai akar sehingga siap ditanam ke polibag.

E. Aklimatisasi

Dalam proses perbanyakan tanaman secara kultur jaringan, tahap aklimatisasi planlet merupakan salah satu tahap kritis yang sering menjadi kendala dalam produksi bibit secara masal. Pada tahap ini, planlet atau tunas mikro dipindahkan ke lingkungan di luar botol seperti rumah kaca, rumah plastik, atau screen house (rumah kaca kedap serangga). Proses ini disebut aklimatisasi. Prosedur pembiakan dengan kultur jaringan baru bisa dikatakan berhasil jika planlet dapat diaklimatisasi ke kondisi eksternal dengan keberhasilan yang tinggi.

Tahap ini merupakan tahap kritis karena kondisi iklim mikro di rumah kaca, rumah plastik, rumah bibit, dan lapangan sangatlah jauh berbeda dengan kondisi iklim mikro di dalam botol. Kondisi di luar botol, bekelembaban nisbi jauh lebih rendah, tidak aseptik, dan tingkat intensitas cahayanya jauh lebih tinggi daripada kondisi dalam botol. Planlet atau tunas mikro lebih bersifat heterotrofik karena sudah terbiasa tumbuh dalam kondisi berkelembaban sangat tinggi, aseptik, serta suplai hara mineral dan sumber energi berkecukupan.

Dalam proses pemindahan dari kondisi lingkungan in-vitro ke lingkungan ex-vitro sering ditemui tanaman tersebut memperlihatkan beberapa gejala ketidak normalan, seperti bersifat sukulen, lapisan kutikula tipis, dan jaringan vaskulernya tidak berkembang sempurna, morfologi daun abnormal dengan tidak berfungsinya stomata sebagaimana mestinya. Struktur mesofil berubah, dan aktifitas fotosintesis sangat rendah. Dengan karakteristik seperti itu, planlet atau tunas mikro mudah menjadi layu atau kering jika dipindahkan ke kondisi eksternal secara tiba-tiba. Oleh karena itu, planlet atau tunas mikro tersebut perlu diadaptasikan ke kondisi lngkungan yang baru yang lebih keras. Dengan kata lain planlet atau tunas mikro perlu diaklimatisasikan.

Aklimatisasi sering dikatakan juga sebagai proses suatu organisme individu menyesuaikan diri terhadap perubahan lingkungan hidupnya, yaitu dari lingkungan in vitro ke lingkungan ex vitro. Metode aklimatisasi ini sangat penting dan sensitif, karena pemindahan dapat mengakibatkan banyak kematian planlet hasil kultur jaringan.

Proses aklimatisasi planlet ke lingkungan ex vitro perlu dijaga perubahan kelembaban udara agar tidak turun secara drastis, tetapi diturunkan secara perlahan-lahan. Proses adaptasi yang terjadi pada plantlet saat aklimatisasi terdiri dari:

1. Penyesuaian dari kelembaban tinggi ke kelembaban udara yang rendah dilakukan dengan mengendalikan kehilangan air melalui perbaikan fungsi kutila dan stomata dan pembentukan lapisan lilin (epicuticular wax).
2. Perbaikan fungsi akar untuk menyerap unsur hara dari media non-agar seperti tanah.
3. Memaksimalkan proses fotosintesis melalui perbaikan struktur daun menjadi lebih lebar dan pembentukan kloroplas yang lebih baik, sehingga sifat planlet yang heterotropik berubah menjadi autotropik.
4. Beradaptasi dari lingkungan steril ke lingkungan yang terdapat mikroorganisme.

Tahapan aklimitasi plantlet sebagai berikut:

1. Plantlet dikeluarkan dari botol, kemudian media yang menempel pada akar dibersihkan menggunakan air mengalir. Media harus dibersihkan dengan baik karena kandungan nutrisi dan gula pada media kultur bisa menjadi media pertumbuhan mikroorganisme penyakit.
2. Setelah itu plantlet direndam dalam larutan fungisida untuk mencegah serangan penyakit jamur yang sering mematikan plantlet pada saat aklimitisasi.
3. Plantlet diberi hormon penumbuh akar, baik plantlet yang sudah mempunyai akar maupun yang belum mempunyai akar.
4. Kemudian plantlet ditanam dalam wadah atau bak aklimatisasi berisi media yang sudah disterilisasi sebelumnya. Media aklimatisasi biasanya dipilih yang subur dan mempunyai porositas yang baik supaya perkembangan akar dari plantlet dapat berkembang dengan baik. Selain itu, media yang poros membuat drainase dan aerasi cukup baik sehingga mengurangi potensi serangan penyakit.
5. Wadah atau bak aklimatisasi ditutup rapat dengan plastik transparan. Kemudian wadah disimpan di rumah kaca dan di bawah naungan paranet 65-75%. Bak aklimatisasi bisa juga disimpan di luar rumah kaca, tetapi

masih dengan naungan paranet. Supaya tidak terkena hujan, bak aklimatisasi disimpan di bawah sungkup plastik besar.

Wadah aklimatisasi dapat menggunakan bak plastik atau strerofoam, tergantung pada ketersediaan bahan yang ada. Aklimatisasi plantlet juga bisa berlangsung ditanam dalam bak besar berisi tanah yang sudah disterilisasi, kemudian bak tersebut ditutup/disungkup plastik agar plantlet tidak terkena cahaya matahari langsung dan menjaga kelembaban udara tetap tinggi. Lamanya periode penyimpanan plantlet yang sudah dipindahkan pada bak aklimatisasi antara 4-6 minggu, tergantung pada jenis tanaman. Plantlet yang diaklimatisasi tanpa akar biasanya membutuhkan waktu aklimatisasi lebih lama dibandingkan dengan plantlet yang pada saat diaklimatisasi sudah mempunyai akar.

V. PELAPORAN

A. Pelaporan

Laporan pelaksanaan kegiatan Kultur Jaringan terdiri dari :

1. Laporan bulanan penanggung jawab laboratorium kultur jaringan kepada kepala balai dengan format matrik sebagaimana Lampiran 1.1
2. Laporan semester Kepala Balai kepada Direktur Jenderal PDASHL dengan tembusan kepada Direktur Perbenihan Tanaman Hutan dengan format matrik sebagaimana Lampiran 1.2.
3. Laporan tahunan Kepala Balai kepada Direktur Jenderal PDASHL dengan tembusan kepada Direktur Perbenihan Tanaman Hutan, dengan format laporan sebagai berikut :

   Kata Pengantar

   Daftar Isi

   I. Pendahuluan

   II. Metode Pelaksanaan

   III. Hasil Kegiatan (rencana dan Realisasi)

   IV. Permasalahan

   V. Kesimpulan Dan Saran

   Lampiran-Lampiran

VI. PENUTUP

Petunjuk teknis ini diperuntukkan bagi UPT Direktorat Jenderal Pengendalian Daerah Aliran Sungai dan Hutan Lindung dalam rangka mewujudkan produksi bibit yang berkualitas melalui teknik perbanyakan tanaman dengan Kultur Jaringan.

Satu hal yang tidak boleh diabaikan, agar diperoleh bibit yang berkualitas, maka bagian vegetatif yang akan dikulturkan harus berasal dari pohon induk yang genetiknya unggul. Oleh karena itu, pembuatan *mother plant* dalam bentuk kebun pangkas menjadi penting.

Mengingat biaya produksinya yang relatif masih mahal, maka pengembangan kultur jaringan sebaiknya diprioritaskan untuk jenis tanaman yang bernilai ekonomi tinggi dan merupakan tanaman unggulan/andalan nasional dan/atau daerah, serta memiliki karakter gentik unggul.

Melalui penggunaan teknik perbanyakan bibit dengan kultur jaringan diharapkan dapat mengatasi persoalan yang berkaitan dengan tidak tersedianya benih yang dipengaruhi musim maupun persoalan rendah dan bervariasinya produktifitas dan kualitas panen yang dipengaruhi oleh faktor genetik tanaman.

VII. DAFTAR PUSTAKA

1. Schimdt,L, 2000, Pedoman Penanganan Benih Tanaman Hutan Tropis dan Sub Tropis, Danida Forest Seed Center, Direktorat Jenderal Rehabilitasi Lahan dan Perhutanan Sosial, Departemen Kehutanan.
2. Sulistiani E, Yani SA, 2012, Produksi Bibit Tanaman dengan Menggunakan Tehnik Kultur Jaringan. SEAMEO Biotrop. Bogor.
3. http://www.pintarbiologi.com/2015/01/istilah-istilah-dalam-kultur-jaringan.html
4. http://balithutmakassar.org/wp-Content/uploads/2013/03/13_nursyamsi_cetak_ Kultur-Jaringan.pdf
5. http://www.biologydiscussion.com/plants/4-types-of-meristematic-tissues-and-their-functions/2525

Lampiran 1.1. Petunjuk Teknis Perbanyakan Bibit dengan Kultur Jaringan

LAPORAN KEGIATAN PRODUKSI BIBIT KULTUR JARINGAN

Instansi : …….
Jenis : …….
Bulan : ……

No	Uraian Pekerjaan	Rencana	Realisasi	Permasalahan	Keterangan
1.	Sterilisasi alat dan ruangan				
2.	Penyiapan eksplan (inisiasi, sterilisasi)				
3.	Pembuatan media				
4.	Multiplikasi tunas				
5.	Subkultur				
6.	Induksi perakaran				
7.	Aklimatisasi				

……,……. 2016

Penanggungjawab Lab

……..

Lampiran 1.2. Petunjuk Teknis Perbanyakan Bibit dengan Kultur Jaringan

LAPORAN KEGIATAN PRODUKSI BIBIT KULTUR JARINGAN

Instansi : …….
Jenis : …….
Bulan : ……

No	Uraian Pekerjaan	Rencana	Realisasi	Permasalahan	Keterangan
1.	Sterilisasi alat dan ruangan				
2.	Penyiapan eksplan (inisiasi, sterilisasi)				
3.	Pembuatan media				
4.	Multiplikasi tunas				
5.	Subkultur				
6.	Induksi perakaran				
7.	Aklimatisasi				

……,……. 2016

Kepala Balai,

……..

KEMENTERIAN LINGKUNGAN HIDUP DAN KEHUTANAN

DIREKTORAT JENDERAL PENGENDALIAN DAS DAN HUTAN LINDUNG

DIREKTORAT PERBENIHAN TANAMAN HUTAN