

Aplikasi teknologi embriogenesis somatik berbasis bioreaktor merupakan terobosan penting untuk mengatasi ketersediaan benih bermutu *Dendrobium* yang masih terbatas. Proliferasi kultur skala masal dengan peningkatan produktivitas dan kapasitas produksi yang lebih besar dapat dilakukan dengan menggunakan sistem kultur cair dalam bioreaktor. Protokol perbanyakan masal benih *Dendrobium* bermutu melalui teknologi ini disusun mulai dari: (1) pemeliharaan tanaman donor/penyiapan sumber eksplan, (2) penyiapan, pengkulturan, dan inkubasi sumber eksplan, (3) Penyiapan kultur 'starter' (inisiasi dan proliferasi kalus embriogenik); (4) produksi masal kalus/plbs dalam *airlift bioreactor*; (5) diferensiasi, perkecambahan, dan pembesaran plantlet; dan (6) aklimatisasi plantlet dan pertumbuhan bibit di rumah kaca. Total waktu yang dibutuhkan untuk satu siklus produksi benih *Dendrobium* menggunakan teknologi ini adalah sekitar 21-24 bulan.

## 1. Pemeliharaan Tanaman donor/Penyiapan Sumber Eksplan *Ex-Vitro*

Tanaman donor ditanam dalam pot berisi campuran arang kayu dan potongan akar pakis (1:1, v/v) dan ditempatkan di rumah kaca dengan kondisi lingkungan yang optimal, serta dipelihara sesuai dengan prosedur operasional standar. Tanaman berumur 18 bulan dengan pertumbuhan vegetatif yang optimal dan menghasilkan tunas baru yang vigor dan sehat (7-10 cm) dipilih sebagai sumber eksplan



## 2. Persiapan, Pengkulturan, dan Inkubasi Sumber Eksplan

Tunas tanaman ( $\pm$  7-10 cm) yang sehat dan vigor disterilisasi menggunakan alkohol 96%, 10, 5, dan 1% NaOCl, dan akuadest steril. Potongan mata tunas ( $\pm$  0,5 cm) ditanam pada medium  $\frac{1}{2}$  MS dengan penambahan 0.5 mg/l BAP hingga mata tunas memanjang (8-10 mm). Selanjutnya bagian pucuknya (*shoot tip*) dikulturkan pada medium

inisiasi kalus ( $\frac{1}{2}$  MS + TDZ + 0.5 mg/l BAP). Kalus diperbanyak menggunakan teknik *thin cross section* (TCS) dan dikulturkan pada medium proliferasi ( $\frac{1}{2}$  MS + 1-0.75 mg /l TDZ + 0.5 mg /l BAP), disubkulturkan pada medium perkecambahan ( $\frac{1}{2}$  MS + 0.05 mg/l BAP + 150 ml/l air kelapa), dan terakhir pada medium  $\frac{1}{2}$  MS FV untuk pembesaran plantlet. Kultur diinkubasikan pada fotoperiode 12 jam terang dengan intensitas cahaya  $13 \mu\text{mol/m}^2/\text{s}$  pada suhu  $23.5 \pm 1.1^\circ\text{C}$  dengan kelembaban 60-70% hingga terbentuk plantlet. Subkultur berulang dilakukan hingga jumlahnya mencukupi dan siap dipergunakan sebagai sumber eksplan.



## 3. Penyiapan Kultur Starter

### a. Inisiasi Kalus Embriogenik dari Eksplan *In-Vitro*

Kalus embriogenik diinisiasi dari tunas pucuk, tunas lateral, dan pangkal/basal part plantlet hasil perbanyakan terbatas pada tahap sebelumnya. Eksplan diisolasi di bawah mikroskop stereo dan mengkulturkannya dalam botol kultur ( $\varnothing$  2.5 cm dan tinggi 5.5 cm) berisi 2,5 ml medium  $\frac{1}{2}$  MS dengan penambahan 1.5 mg/l TDZ, 0,5 mg/l BAP, dan 20 g/l Sukrosa. Kultur diinkubasi pada kondisi lingkungan seperti tahap sebelumnya. Kalus yang terinisiasi diamati pertumbuhannya hingga  $\pm$  1 bulan dan diseleksi untuk mendapatkan kalus-kalus unggul (pertumbuhan cepat, penampilan hijau segar dan remah) yang siap untuk diproliferasikan.



### b. Proliferasi Awal Kalus Embriogenik pada Sistem Kultur Padat

Proliferasi kalus embriogenik *Dendrobium* menggunakan teknik *Thin cross section* (TCS) kalus pada media padat. Kalus embriogenik umur  $\pm$  1 bulan dikulturkan pada medium MDP-8 ( $\frac{1}{2}$  MS + 0.75 mg/l TDZ + 0.25 mg/l BAP + 20 mg/l sukrosa). Kalus disubkultur sebanyak 4-5 kali dengan interval 1 bulan.

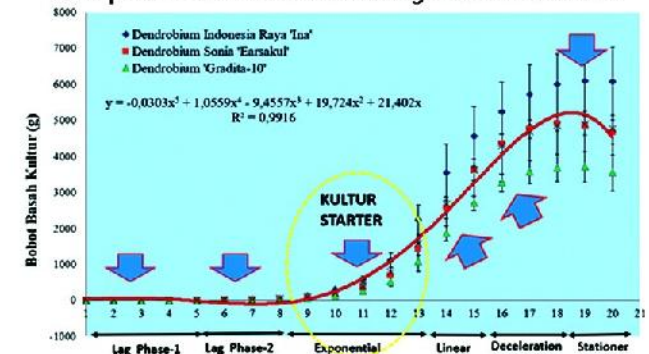


## c. Penyiapan dan Pengadaptasian Kultur Starter pada Sistem Kultur Cair



Kalus hasil proliferasi pada sistem kultur padat diseleksi dan diproliferasikan menggunakan sistem kultur cair dalam erlenmeyer 100 ml berisi medium PM-12 ( $\frac{1}{2}$  MS + 0.5 mg/l TDZ + 0.1 mg/l BAP + 20 mg/l sukrosa) dengan kepadatan 2 g kalus/25 ml media. Kultur diinkubasi terang sambil digojok di atas *rotary table shaker* dengan kecepatan 90-100 rpm dan disubkultur 3-4 kali dengan interval 1 bulan.

### Pola pertumbuhan kalus embriogenik *Dendrobium*



Pola pertumbuhan kultur diamati pada tahap penyiapan kultur starter mulai dari tahap inisiasi dan proliferasi. Informasi ini sangat penting terkait penyiapan kultur starter yang optimal untuk tujuan produksi benih *Dendrobium* bermutu skala masal secara berkesinambungan menggunakan sistem bioreaktor.

## 4. Proliferasi Masal Kalus Embriogenik Menggunakan Bioreaktor

Kultur starter yang tumbuh dan berproliferasi dengan baik pada fase pertumbuhan cepat (*exponential*; umur kalus  $\pm$  8-9 bulan) dikulturkan ke dalam *airlift bioreactor* 500 ml dengan tingkat aerasi 5 vvm dan kepadatan eksplan 15 g/250 ml media dan atau TIS Bioreactor dengan lama perendaman 15 menit- interval 4,5 jam, berisi media Bio-3 ( $\frac{1}{2}$  MS + 0,5 mg/l TDZ + 0,1 mg/l BAP + 150 mg/l L-Prolin + 20 g/l sukrosa). Kultur diinkubasi pada kondisi terang, hingga laju proliferasi kalus/plb mencapai fase stasioner dan siap untuk diregenerasikan.



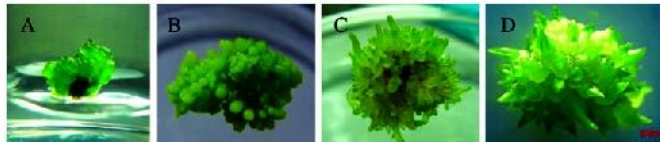
Produksi kalus embriogenik *Dendrobium* dalam airlift bioreactor



Produksi kalus embriogenik *Dendrobium* dalam TIS-bioreactor

## 5. Pembentukan dan Perkembangan Embrio Somatik

Bioreaktor dibilas dengan aquadest steril dan ditempatkan di atas kertas tissue steril dalam petridish, disimpan selama  $\pm 2-3$  pada suhu  $18 \pm 2^\circ\text{C}$ , dan selanjutnya ditanam pada media semi-solid  $\frac{1}{2}$  MS dengan penambahan 0.05 mg/l BA, 20 g/l gula, dan 7 g/l agar untuk proses pembentukan dan perkembangan kalus embriogenik menjadi embrio somatik/plbs.



## 6. Perkecambahan Embrio dan Pembesaran Plantlet

Embrio somatik yang sudah terbentuk dan berkembang selanjutnya ditanam pada medium perkecambahan ( $\frac{1}{2}$  MS-FV). Setelah kecambah berukuran  $\pm 1$  cm dengan 2-3 daun (umur  $\pm 2$  bulan) dipisahkan secara individu dan dipindahkan pada media pembesaran plantlet (2 g/l Rosasol 18:18:18 TE). Kultur diinkubasi selama masing-masing  $\pm 3$  bulan.



## 7. Aklimatisasi Plantlet dan Pertumbuhan Benih *Dendrobium* di Rumah Sere

Plantlet dengan 2-4 akar, 3-5 daun dan tinggi 5-7 cm dipersiapkan untuk aklimatisasi. Botolan plantlet disimpan di luar ruang inkubasi untuk *hardening* selama  $\pm 1$  bulan. Plantlet dicuci dan direndam dalam 2% larutan fungisida dan bakterisida ( $\pm 5$  menit) dan dikeringanginkan. Plantlet ditanam secara kompotan pada pot berdiameter 15 cm dan ditempatkan di rumah kaca. Setelah satu minggu, plantlet disiram setiap pagi dan dipupuk seminggu sekali dengan 1 g/l NPK (20:20:20) dengan membasahi daerah akar. Keberhasilan tumbuh plantlet berkisar antara 80-90%.



Produksi masal kalus embriogenik menggunakan sistem kultur cair dalam *bioreactor* menghasilkan produktivitas yang lebih tinggi daripada kultur *in vitro* konvensional dan semi konvensional. Sistem kultur *in vitro* modern menggunakan bioreaktor mampu meningkatkan multiplikasi kultur hingga 6x pada saat proliferasi kalus, menghasilkan 94% benih normal dengan abnormalitas yang rendah (6%), dan jumlah benih *Dendrobium* bermutu dalam jumlah yang sangat banyak. Estimasi jumlah benih *Dendrobium* bermutu yang dihasilkan dalam yaitu 1.4-1.6 juta plantlet per tahun. Berdasarkan estimasi analisis finansial adopsi teknologi ini untuk tujuan penyediaan benih *Dendrobium* skala industri dinilai sangat efisien dan menguntungkan ( $B/C = 2.32 > 1$ ). Teknologi ini memiliki potensi tinggi untuk diterapkan dalam rangka penyediaan benih bermutu (sehat, vigor, dan seragam/true to type) skala komersial jenis *Dendrobium*, anggrek, juga tanaman hias lainnya.

Sumber: Fitri Rachmawati, Peneliti Balithi



# Inovasi Teknologi Embriogenesis Somatik *Dendrobium* Berbasis BIOREAKTOR



KEMENTERIAN PERTANIAN  
BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN PERTANIAN  
[balithi.litbang.pertanian.go.id](http://balithi.litbang.pertanian.go.id)

Balithi© 2020