

EMBRIOGENESIS SOMATIK *IN VITRO*

UNTUK PERBANYAKAN KLONAL DAN PEMULIAAN TANAMAN

**Undang-undang Republik Indonesia Nomor 28 tahun 2014 tentang Hak Cipta
Lingkup Hak Cipta**

Pasal 1

Hak Cipta adalah hak eksklusif pencipta yang timbul secara otomatis berdasarkan prinsip deklaratif setelah suatu ciptaan diwujudkan dalam bentuk nyata tanpa mengurangi pembatasan sesuai dengan ketentuan peraturan perundang-undangan.

Ketentuan Pidana Pasal 113

- (1) Setiap Orang yang dengan tanpa hak melakukan pelanggaran hak ekonomi sebagaimana dimaksud dalam Pasal 9 ayat (1) huruf i untuk Penggunaan Secara Komersial dipidana dengan pidana penjara paling lama 1 (satu) tahun dan/atau pidana denda paling banyak Rp 100.000.000 (seratus juta rupiah).
- (2) Setiap Orang yang dengan tanpa hak dan/atau tanpa izin Pencipta atau pemegang Hak Cipta melakukan pelanggaran hak ekonomi Pencipta sebagaimana dimaksud dalam Pasal 9 ayat (1) huruf c, huruf d, huruf f, dan/atau huruf h untuk Penggunaan Secara Komersial dipidana dengan pidana penjara paling lama 3 (tiga) tahun dan/atau pidana denda paling banyak Rp 500.000.000,00 (lima ratus juta rupiah).
- (3) Setiap Orang yang dengan tanpa hak dan/atau tanpa izin Pencipta atau pemegang Hak Cipta melakukan pelanggaran hak ekonomi Pencipta sebagaimana dimaksud dalam Pasal 9 ayat (1) huruf a, huruf b, huruf e, dan/atau huruf g untuk Penggunaan Secara Komersial dipidana dengan pidana penjara paling lama 4 (empat) tahun dan/atau pidana denda paling banyak Rp 1.000.000.000,00 (satu miliar rupiah).
- (4) Setiap Orang yang memenuhi unsur sebagaimana dimaksud pada ayat (3) yang dilakukan dalam bentuk pembajakan, dipidana dengan pidana penjara paling lama 10 (sepuluh) tahun dan/atau pidana denda paling banyak Rp 4.000.000.000,00 (empat miliar rupiah).

EMBRIOGENESIS SOMATIK *IN VITRO*

UNTUK PERBANYAKAN KLONAL DAN PEMULIAAN TANAMAN

**Dwi Hapsoro
Yusnita**



PUSAKA MEDIA

Perpustakaan Nasional RI:
Katalog Dalam Terbitan (KDT)

**EMBRIOGENESIS SOMATIK *IN VITRO* UNTUK
PERBANYAKAN KLONAL DAN PEMULIAAN TANAMAN**

Penulis

Dwi Hapsoro
Yusnita

Desain Cover & Layout

Team Aura Creative

Penerbit

AURA

CV. Anugrah Utama Raharja

Anggota IKAPI

No.003/LPU/2013

xiv + 65 hal : 15 x 23 cm
Cetakan, Mei 2022

ISBN: 978-623-418-047-3

Alamat

Jl. Prof. Dr. Soemantri Brojonegoro, No 19 D
Gedongmeneng Bandar Lampung
HP. 081281430268
082282148711

E-mail : redaksiaura@gmail.com

Website : www.aura-publishing.com

Hak Cipta dilindungi Undang-undang

RINGKASAN

Embriogenesis somatik pada tanaman adalah proses pembentukan embrio dari sel-sel somatik atau sel-sel tubuh (bukan sel kelamin). Jika pembentukan embrio berasal dari zigot, yang merupakan hasil pertemuan antara gamet jantan dan gamet betina, maka proses itu disebut embriogenesis zigotik. Embriogenesis somatik sudah banyak dipraktikkan secara *in vitro*, melalui suatu teknik yang disebut kultur jaringan. Banyak penelitian menunjukkan, embriogenesis somatik *in vitro* dan embriogenesis zigotik adalah melalui tahapan yang kurang lebih sama, dari segi morfologi, fisiologi, dan biokimia. Oleh karena itu, sejumlah laporan ilmiah melaporkan mengenai penggunaan sistem embriogenesis somatik *in vitro* untuk mempelajari proses embriogenesis zigotik.

Embriogenesis somatik *in vitro* dapat terjadi secara tidak langsung dan secara langsung. Pada embriogenesis somatik tidak langsung, eksplan (potongan kecil bagian tanaman yang dikulturkan) membentuk kalus lalu kalus menjadi embrio somatik. Pada embriogenesis somatik langsung, eksplan langsung membentuk embrio somatik. Dengan menggunakan konsep induksi-ekspresi, maka pada fase induksi pada embriogenesis somatik tidak langsung, eksplan merespons sinyal yang berupa zat pengatur tumbuh (ZPT) auksin. Respons tersebut berupa proses dediferensiasi membentuk kalus, yaitu kumpulan sel yang membelah-belah diri dengan cepat. Secara fisiologi, sel-sel ini belum jelas akan mengarah kemana pada proses pertumbuhan dan perkembangannya. Lalu kumpulan sel ini

menjadi sel-sel embriogenik, yaitu sel-sel yang nasibnya akan menjadi embrio. Fase induksi berakhir ketika sel sudah menjadi embriogenik.

Pada fase ekspresi, kalus embriogenik mengalami diferensiasi menjadi embrio somatik ketika berada pada kondisi lingkungan yang sesuai. Kondisi yang sesuai ini utamanya terkait dengan ketersediaan ZPT auksin. Pada umumnya, agar berkembang menjadi embrio somatik, maka konsentrasi auksin dalam media adalah rendah atau tidak ada ZPT dalam media. Pada fase ini terjadi perkembangan embrio. Kemudian embrio mengalami maturasi sampai matang fisiologi untuk siap berkecambah. Pada embriogenesis somatik langsung, sejumlah sel sudah berada dalam kondisi embriogenik. Artinya sejumlah sel itu sudah dalam kondisi terinduksi, sehingga dalam kondisi yang *favorable*, tumbuh dan berkembang menjadi embrio. Di sini proses embriogenesis tidak melalui pembentukan kalus, jadi terjadi secara langsung.

Dalam praktik, yang banyak digunakan adalah embriogenesis somatik *in vitro* secara tidak langsung. Yang dilakukan adalah, eksplan diinduksi pada media yang mengandung ZPT auksin untuk membentuk kalus. Lalu kalus diinduksi menjadi kalus embriogenik yang membelah-belah diri secara cepat. Kalus embriogenik lalu disubkultur pada media tanpa ZPT atau mengandung sedikit ZPT untuk menjadi embrio. Embrio lalu dikulturkan menjadi tanaman utuh.

Dalam pertanian, proses embriogenesis somatik *in vitro* dapat digunakan untuk a) memperbanyak tanaman, yaitu menghasilkan benih/bibit tanaman dalam jumlah besar dalam waktu relatif singkat dan b) pemuliaan tanaman untuk menghasilkan varietas unggul, yaitu melalui mutasi dengan mutagen dan variasi somaklonal, rekayasa genetika, dan pengeditan genom, misalnya dengan teknologi CRISPR/Cas9.

Memfaatkan embriogenesis somatik utamanya adalah memanfaatkan tahap proliferasi sel-sel embriogenik. Sel-sel mengalami proliferasi artinya sel-sel itu membelah-belah diri secara cepat. Pada tahap itu, sel-sel dapat berubah secara genetik jika disubkultur berkali-kali, suatu fenomena yang disebut variasi somaklonal. Pada tahap itu, sel-sel dapat juga dipapar dengan mutagen agar berubah secara genetik, misalnya mutagen fisik seperti sinar gamma. Pada tahap itu, sel-sel juga bisa ditransformasi secara genetik yaitu dengan memasukkan secara langsung gen unggul ke dalam inti sel agar sel mempunyai karakter unggul. Pada tahap itu, sel-sel juga bisa dikenakan teknik pengeditan genom (*genome editing*) agar memiliki sifat-sifat unggul yang dikehendaki.

Embriogenesis somatik *in vitro* bisa merupakan solusi alternatif untuk mengatasi rendahnya produktivitas tanaman kopi di Lampung, walaupun Lampung adalah produsen kopi kedua terbesar di Indonesia. Hal ini dilakukan melalui fungsinya untuk memperbanyak tanaman secara klonal secara efisien, yaitu bisa digunakan untuk menghasilkan bibit tanaman kopi yang berkualitas dalam jumlah banyak dalam waktu relatif singkat. Yang diperbanyak adalah tanaman kopi hasil pemuliaan atau tanaman kopi yang menunjukkan sifat-sifat yang baik, yaitu terutama yang berproduksi tinggi dan menunjukkan cita rasa tinggi.

Sebagai kesimpulan, proses embriogenesis somatik *in vitro* berawal dari satu atau sekelompok sel tanaman, lalu sel-sel itu menjadi embrogenik, menjadi embrio, lalu berkecambah menjadi tanaman utuh. Proses ini dapat dimanfaatkan sebagai sarana untuk memperbanyak klonal dan pemuliaan untuk menghasilkan varietas unggul, yaitu melalui mutasi (misalnya mutasi karena variasi somaklon dan mutasi dengan iradiasi sinar gamma), rekayasa genetika, dan pengeditan genom, (misalnya dengan metode CRISPR/Cas-9).

Pada kasus tanaman kopi, embriogenesis somatik dapat dimanfaatkan untuk memperbanyak vegetatif kon-klon unggul kopi Robusta yang menunjukkan produktivitas tinggi dan cita rasa tinggi. Pada kasus tanaman kacang tanah, embriogenesis somatik dapat dimanfaatkan untuk pemuliaan tanaman untuk menghasilkan tanaman kacang tanah yang toleran terhadap serangan penyakit busuk pangkal batang yang disebabkan oleh cendawan *Sclerotium rolfsii*.

Kata Kunci: embriogenesis somatik, mutasi, pemuliaan, pengeditan genom, memperbanyak klonal, rekayasa genetika.

KATA PENGANTAR

Segala puji hanya milik Allah s.w.t. Alhamdulillah, akhirnya buku ini berhasil penulis selesaikan. Buku ini merupakan sebuah kajian mengenai embriogenesis somatik tanaman. Kajian dimulai dengan aspek teori dari embriogenesis somatik, yang merupakan benang merah dari bukti-bukti empiris dari penelitian-penelitian pada beragam tanaman yang dilaporkan para peneliti. Lalu kajian dilanjutkan dengan aspek praktis dari embriogenesis somatik, yaitu pemanfaatannya untuk perbanyakan dan pemuliaan tanaman. Aspek praktis yang lebih khusus juga dikemukakan, yaitu pemanfaatan embriogenesis somatik untuk perbanyakan tanaman kopi robusta dan regenerasi kacang tanah. Aspek praktis yang bersifat teknis di laboratorium, juga dikemukakan untuk memberikan informasi bagaimana embriogenesis somatik dapat dipraktikkan sampai level laboratorium.

Isi buku ini sebagian besar berasal dari isi pidato ilmiah pengukuhan sebagai guru besar dari penulis pertama, tetapi sudah lebih dielaborasi dan dilengkapi dengan informasi terbaru, serta ditambahkan aspek teknis untuk meningkatkan kemanfaatannya. Naskah pidato belum pernah diterbitkan secara resmi (tidak memiliki ISBN). Oleh karena itu dengan ditulisnya dan diterbitkannya buku ini, proses diseminasi diharapkan berjalan dengan lebih baik sehingga lebih banyak kalangan bisa memanfaatkannya.

Dalam kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada pihak-pihak yang karena peran mereka penulisan buku ini dapat diselesaikan. Terima kasih penulis sampaikan kepada Prof. Dr. Karomani, Rektor Universitas Lampung, yang telah memberi kesempatan kepada penulis untuk menulis naskah pidato ilmiah dalam rangka pengukuhan penulis sebagai guru besar tetap bidang bioteknologi pertanian. Terima kasih juga penulis sampaikan kepada Prof. Dr. Irwan Sukri Banuwa, yang dengan persetujuan Senat Fakultas Pertanian, mengusulkan penulis untuk menjadi guru besar. Terima kasih juga penulis sampaikan kepada Senat Fakultas dan Senat Universitas Lampung untuk persetujuan *professorship* penulis. Terkait isi buku, penulis menyampaikan terima kasih kepada para mahasiswa bimbingan yang melaksanakan penelitian di laboratorium yang telah menghasilkan data untuk sebagian dari isi buku ini.

Akhirnya semoga buku ini bermanfaat. Tetapi tiada gading yang tak retak, oleh karena itu saran dan kritik konstruktif sangat penulis harapkan.

Bandar Lampung, Mei 2022

Prof. Dr. Ir. Dwi Hapsoro, M.Sc.

Prof. Dr. Ir. Yusnita, M.Sc.

DAFTAR ISI

Ringkasan	v
Kata Pengantar	ix
Daftar Isi	xi
Daftar Tabel	xii
Daftar Gambar.....	xiii
1. Pendahuluan.....	1
2. Embriogenesis Somatik <i>In Vitro</i> : Proses dan Peranan Auksin.....	4
3. Embriogenesis Somatik <i>In Vitro</i> untuk Perbanyak Tanaman.....	12
4. Embriogenesis Somatik <i>In Vitro</i> untuk Pemuliaan Tanaman.....	15
5. Embriogenesis Somatik <i>In Vitro</i> untuk Meningkatkan Produktivitas dan Kualitas Kopi Robusta di Lampung.....	28
6. Embriogenesis Somatik <i>In Vitro</i> Kacang Tanah.....	35
7. Kesimpulan	41
Daftar Pustaka.....	43
Daftar Istilah.....	55
Indeks.....	61
Tentang Penulis	63

DAFTAR TABEL

3.1	Tanaman-tanaman yang diperbanyak secara vegetatif <i>in vitro</i> dengan embriogenesis somatik.....	13
4.1	Beberapa contoh tanaman yang menjadi sasaran pemuliaan mutasi melalui embriogenesis somatik.....	19
4.2	Beberapa contoh tanaman yang menjadi target pemuliaan melalui rekayasa genetika yang menggunakan embriogenesis somatik <i>in vitro</i>	23

DAFTAR GAMBAR

2.1 Tahap embriogenesis somatik secara tidak langsung dan langsung.....	9
2.2 Tahap perkembangan embrio somatik tanaman dikotil secara <i>in vitro</i>	10
2.3 Tahap perkembangan embrio somatik tanaman monokotil secara <i>in vitro</i>	10
4.1 Tahapan pemuliaan tanaman.....	15
4.2 Pengaruh dosis sinar gamma terhadap persen hidup kalus embriogenik tanaman tebu	17
4.3 Tahap-tahap pemuliaan mutasi tanaman tebu dengan mutagen sinar gamma	18
4.4 Respons tanaman kacang tanah (<i>Arachis hypogaea</i> L) hasil rekayasa genetika terhadap inokulasi dengan PStV....	22
4.5 Lokus CRISPR/Cas9 pada bakteri <i>Streptococcus thermophilus</i> dan mekanisme pemotongan DNA virus yang menginfeksi.....	27
5.1 Piagam penghargaan dari Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Jember yang diberikan dalam rangka Lomba Kopi Unggul Nasional 2015 kepada para petani Lampung atas prestasi mereka dalam menghasilkan klon-klon unggul kopi Robusta	31
5.2 Sosok tanaman kopi Robusta dari Lampung klon Tugino dan Siswanto	31

5.3 Tahapan embriogenesis somatik <i>in vitro</i> tanaman kopi Robusta (<i>Coffea canephora</i> Pierre ex A. Froehner) klon Komari.....	33
6.1 Embrio somatik (ES) kacang tanah dari berbagai kultivar kacang tanah.....	38
6.2 Perkembangan tanaman kacang tanah dari embrio Somatik.....	40

PENDAHULUAN 1

Embriogenesis adalah proses pembentukan embrio. Pada tanaman, ada dua jenis embrio, yaitu embrio zigotik dan embrio somatik. Embrio zigotik merupakan embrio hasil perkembangan dari zigot, yaitu hasil pertemuan antara sel kelamin (gamet) jantan dan betina (Bhatia dan Bera 2015). Jadi, embriogenesis zigotik adalah proses pembentukan embrio melalui pembentukan zigot. Adapun embrio somatik, dia bukan berasal dari perpaduan gamet jantan dan betina, tetapi berasal dari sel somatik (Bhatia dan Bera 2015). Jadi embriogenesis somatik adalah proses pembentukan embrio dari sel somatik. Baik embriogenesis zigotik maupun somatik dapat terjadi pada tanaman. Dua-duanya melalui tahapan yang kurang lebih sama (Dodeman et al. 1997; Mordhorst et al. 1997; Sahijram dan Bahadur 2015).

Pada tanaman, setelah gamet jantan dan betina bertemu, maka terbentuklah zigot. Melalui tahap-tahap tertentu, zigot kemudian berkembang menjadi embrio. Pada embrio zigotik, terdapat bagian yang akan berkembang menjadi bagian atas tanaman (tajuk) dan bagian bawah tanaman (akar). Bagian-bagian tersebut merupakan hasil proses diferensiasi sel. Diferensiasi adalah proses perubahan sel-sel untuk menjadi sel-sel yang memiliki bentuk dan fungsi tertentu.

Proses ini sangat penting pada perkembangan tanaman. Pada embriogenesis somatik, sel atau sejumlah sel somatik mengalami diferensiasi untuk berkembang menjadi embrio somatik. Pada embrio somatik juga terdapat bagian yang akan tumbuh dan berkembang menjadi tajuk dan terdapat bagian yang akan tumbuh dan berkembang menjadi akar.

Embrio zigotik akan tumbuh dan berkembang menjadi tanaman utuh yang secara genetik dapat berbeda dengan tanaman induknya sebab dia berasal dari perpaduan gamet jantan dan betina. Jika tanaman induknya homozigot, maka embrio zigotik secara genetik akan sama dengan induknya. Tetapi jika tanaman induknya heterozigot, maka embrio zigotik secara genetik tidak sama dengan induknya. Adapun embrio somatik, jika tidak mengalami mutasi, dia secara genetik akan menjadi tanaman yang sama dengan induknya sebab berasal dari sel somatik.

Embriogenesis somatik dapat terjadi baik secara alami maupun *in vitro*. Tetapi embriogenesis somatik banyak dipraktikkan secara *in vitro* bersamaan dengan berkembangnya teknik kultur jaringan tanaman. Hal ini dilakukan untuk memanfaatkan proses tersebut untuk beberapa keperluan. Pertama adalah untuk

mempelajari fisiologi pada embriogenesis zigotik (yang terjadi secara alami). Embriogenesis somatik dan embriogenesis zigotik kurang lebih melalui pola yang sama secara morfologis dan fisiologis (Solis-Ramos et al. 2012). Oleh karena itu, proses fisiologi pada embriogenesis somatik dapat digunakan untuk menduga proses fisiologi pada embriogenesis zigotik. Hal ini menjadi mudah dilakukan sebab pada embriogenesis somatik faktor lingkungan mudah dikontrol sehingga sejumlah faktor yang diperkirakan berpengaruh terhadap embriogenesis dapat leluasa digunakan sebagai perlakuan dalam penelitian.

Kedua adalah bahwa embriogenesis somatik *in vitro* dapat dimanfaatkan untuk memperbanyak tanaman secara klonal dan pemuliaan tanaman. Perbanyak klonal melalui embriogenesis somatik bertujuan untuk menghasilkan dalam jumlah banyak bibit-bibit tanaman yang secara genetik sama dengan induknya dalam waktu relatif singkat. Pada tulisan ini dikemukakan mengenai pemanfaatan embriogenesis somatik *in vitro* untuk memperbanyak dan pemuliaan untuk menghasilkan benih tanaman unggul.

EMBRIOGENESIS SOMATIK *IN VITRO*: 2 PROSES DAN PERANAN AUKSIN

Embriogenesis Somatik adalah Proses Pertumbuhan dan Perkembangan

Tanaman tumbuh dan berkembang. Pada waktu tumbuh, tanaman bertambah ukurannya yang tidak dapat balik (*irreversible*). Misalnya, bobot dan tingginya bertambah. Sel-selnya bertambah. Sel-selnya membesar. Pada waktu berkembang, tanaman menambah fungsi-fungsi baru. Misalnya yang sebelumnya tidak mempunyai kemampuan menghasilkan bunga, menjadi mampu menghasilkan bunga. Bunga pun dapat menjadi buah, suatu fungsi baru.

Sel-sel somatik juga tumbuh dan berkembang. Pada waktu tumbuh, sel membesar dan bertambah dengan membelah-belah diri (*cell division*). Sel-sel tersebut dapat saja terus tumbuh, misalnya membelah-belah diri secara terus menerus sampai ada suatu sinyal, lalu sel meresponsnya, lalu sel berkembang menjadi embrio somatik. Fenomena berkembang seringkali bersamaan juga dengan fenomena

tumbuh. Oleh karena itu, dalam kasus pembentukan embrio somatik, dikatakan bahwa sel atau kumpulan sel somatik tumbuh dan berkembang menjadi embrio somatik.

Proses embriogenesis somatik didefinisikan secara rinci oleh Solis-Ramos et al. (2012). Menurut mereka, embriogenesis somatik adalah suatu proses bagaimana sel-sel somatik, dalam kondisi terinduksi, menghasilkan sel-sel embriogenik yang kemudian mengalami perubahan morfologi dan biokimia menjadi suatu struktur bipolar yang tidak terhubung melalui pembuluh vaskuler dengan jaringan asalnya. Definisi mereka dapat diuraikan sebagai berikut. Ada sel-sel somatik. Pada waktu berada pada kondisi yang cocok maka sel-sel itu terinduksi menjadi sel-sel yang embriogenik, lalu mengalami perubahan morfologi dan biokimia, lalu berubah menjadi struktur yang bipolar yang tidak terhubung oleh pembuluh vaskuler dengan jaringan asalnya. Yang dimaksud dengan sel embriogenik adalah sel yang nasibnya akan menjadi embrio, yaitu mempunyai kemampuan untuk menjadi embrio. Struktur bipolar adalah struktur yang memiliki bakal tajuk dan bakal akar. Yang dimaksud struktur bipolar di sini adalah embrio somatik. Definisi tersebut mengemukakan bahwa embriogenesis somatik diawali dengan kondisi sel-sel somatik yang terinduksi. Terinduksi artinya berada dalam kondisi setelah merespons terhadap suatu sinyal, yang berujung pada terjadinya embriogenesis somatik.

Embriogenesis Somatik Terdiri dari Fase Induksi dan Fase Ekspresi

Sudah dikemukakan bahwa embriogenesis somatik adalah bentuk respons terhadap suatu sinyal, yaitu sinyal yang menyebabkan sel-sel yang meresponsnya menjadi embrio somatik, yaitu sinyal pembentukan embrio somatik (sinyal PES). Tetapi tidak semua sel mampu merespons sinyal itu. Hanya sel-sel yang kompeten saja yang mampu meresponsnya. Sel yang kompeten adalah sel yang mempunyai kondisi fisiologis yang menyebabkannya responsif terhadap suatu sinyal (von Arnold 2008). Jadi agar terjadi embriogenesis somatik pada suatu sel, maka sel itu harus kompeten terlebih dahulu, lalu merespons sinyal PES, lalu berubah menjadi sel yang embriogenik, lalu berkembang menjadi embrio somatik.

Sel-sel yang kompeten, akibat merespons sinyal PES, mengalami diferensiasi menjadi sel embriogenik, yaitu sel yang akan tumbuh dan berkembang menjadi embrio somatik jika berada dalam kondisi yang sesuai. Sel yang embriogenik, dikatakan sudah berada dalam kondisi *determined* (von Arnold 2008: Gahan dan George 2008). Artinya arah perkembangannya sudah jelas. Artinya sel seperti itu nasibnya sudah jelas akan menjadi embrio. Suatu fase yang dimulai dari sel menerima suatu sinyal sampai menjadi sel yang embriogenik disebut fase induksi (Gahan dan George 2008). Pada embriogenesis somatik, fase induksi selesai jika sel sudah berada pada kondisi embriogenik.

Sel yang embriogenik dapat mengalami pembelahan sel secara terus menerus sehingga jumlahnya semakin banyak. Ketika berada dalam kondisi yang sesuai, sekelompok sel embriogenik tersebut dapat tumbuh dan berkembang menjadi embrio somatik yang secara

fisiologi matang untuk siap berkecambah. Fase yang dimulai dari sel embriogenik sampai menjadi embrio somatik matang disebut fase ekspresi (Gahan dan George 2008).

Dalam praktik, proses embriogenesis somatik banyak didemonstrasikan secara *in vitro*, yaitu pada kultur *in vitro* tanaman. Kultur *in vitro* tanaman adalah kultur *in vitro* bagian tanaman secara aseptik atau aksenik pada media yang mengandung hara lengkap dan pada kondisi lingkungan terkontrol agar bagian tanaman itu tumbuh dan berkembang menjadi struktur tertentu yang dikehendaki (Hapsoro 2019; Hapsoro dan Yusnita 2018). *In vitro* secara harfiah artinya di dalam kaca atau di dalam tabung reaksi, maksudnya di luar tubuh organisme hidup (jika di dalam tubuh organisme hidup disebut *in vivo*). Secara aseptik artinya bebas dari mikroorganisme. Secara aksenik artinya bebas dari mikroorganisme yang tidak dikehendaki. Bagian tanaman itu dapat berupa protoplas, sel, jaringan, atau organ. Banyak praktik kultur *in vitro* menggunakan bagian tanaman untuk memulai kultur, misalnya potongan daun, potongan hipokotil, potongan bagian bunga, kotiledon, dan lain-lain. Bagian tanaman yang digunakan untuk memulai suatu kultur *in vitro* dinamakan eksplan.

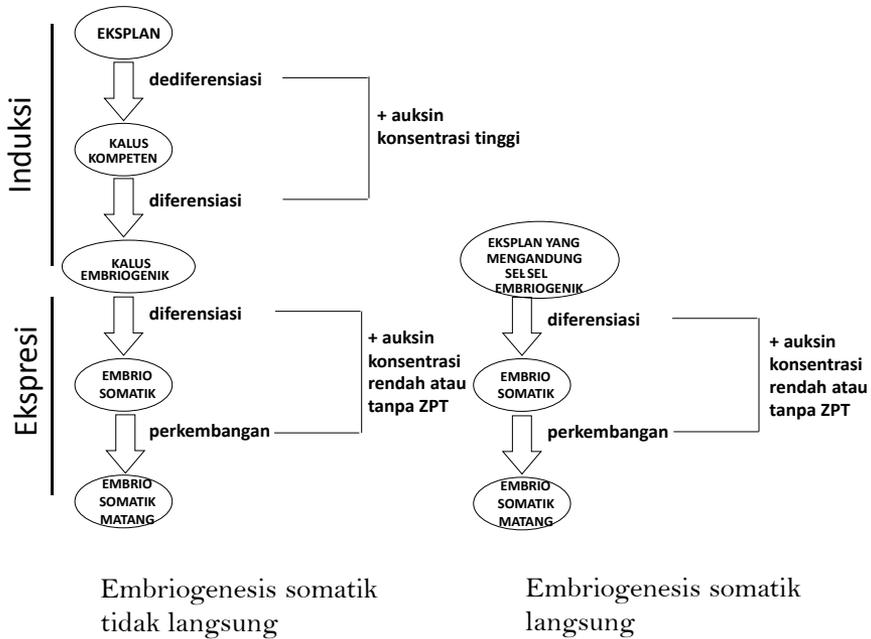
Embriogenesis somatik dapat terjadi secara tidak langsung dan secara langsung (Sharp et al. 1980). Pada embriogenesis tidak langsung, eksplan membentuk kalus lalu kalus menjadi embrio somatik. Pada embriogenesis langsung, eksplan langsung membentuk embrio somatik.

Dengan menggunakan konsep induksi-ekspresi sebagaimana diuraikan di atas, embriogenesis somatik tidak langsung dan langsung diuraikan pada Gambar 2.1 (Hapsoro dan Yusnita 2018).

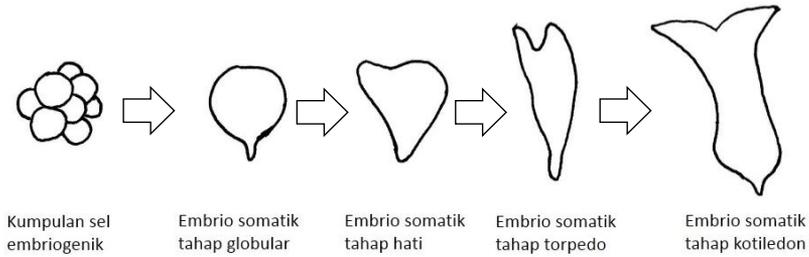
Pada fase induksi, pada embriogenesis somatik tidak langsung, eksplan merespons sinyal yang berupa zat pengatur tumbuh (ZPT) auksin. Respons tersebut berupa proses dediferensiasi membentuk kalus.

Kalus adalah kumpulan sel yang membelah-belah diri secara terus-menerus dengan cepat. Secara fisiologi sel-sel seperti ini belum jelas akan mengarah kemana pada proses pertumbuhan dan perkembangannya; dikatakan mereka berada pada *ground state* (Gahan dan George 2008). Lama-kelamaan kumpulan sel ini menjadi sel-sel embriogenik. Sampai di sini sel sudah pada tahap *determined* (Gahan dan George 2008), artinya sudah jelas kelak akan menjadi apa, dalam hal ini akan menjadi embrio somatik. Fase induksi berakhir ketika sel sudah menjadi embriogenik.

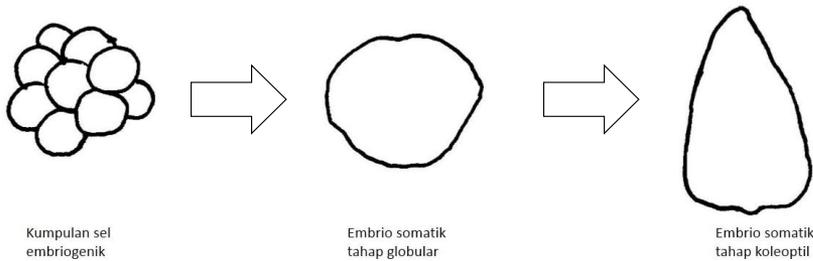
Pada fase ekspresi, kalus embriogenik mengalami diferensiasi menjadi embrio somatik ketika berada pada kondisi lingkungan yang sesuai. Kondisi yang sesuai ini utamanya terkait dengan ketersediaan ZPT auksin. Pada umumnya, agar berkembang menjadi embrio somatik, maka konsentrasi auksin dalam media adalah rendah atau tidak ada ZPT dalam media. Pada fase ini terjadi perkembangan embrio. Pada tanaman dikotil, tahapan morfologinya adalah: tahap globular, hati, torpedo, dan kotiledon (Gahan dan George 2008) (Gambar 2.2). Pada tanaman monokotil, tahapannya adalah: tahap globular, skutelum, dan koleoptil (Gahan dan George 2008) (Gambar 2.3). Selanjutnya embrio mengalami maturasi sampai matang fisiologi untuk siap berkecambah.



Gambar 2.1 Tahap embriogenesis somatik secara tidak langsung (kiri) dan langsung (kanan); diuraikan secara skematis berdasarkan von Arnold (2008) dan (Gahan dan George 2008). Pada embriogenesis tidak langsung, pada fase induksi, sel-sel pada eksplan mengalami dediferensiasi membentuk kalus dan menjadi kompeten, sebagai respons terhadap auksin konsentrasi tinggi. Selanjutnya sel-sel kompeten merespons auksin konsentrasi tinggi menjadi kalus embriogenik. Pada fase ekspresi, kalus embriogenik ini berkembang menjadi embrio somatik sebagai respons terhadap kondisi ZPT konsentrasi rendah atau tanpa ZPT, lalu berkembang menjadi embrio somatik matang. Pada embriogenesis somatik langsung, sebagian sel pada eksplan sudah melewati fase induksi, yaitu sudah embriogenik. Selanjutnya sel-sel embriogenik ini memasuki fase ekspresi, yaitu merespons kondisi ZPT rendah atau tanpa ZPT menjadi embrio somatik untuk berkembang menjadi embrio somatik matang.



Gambar 2.2 Tahap perkembangan embrio somatik tanaman dikotil secara *in vitro* (Hapsoro dan Yusnita 2018), diilustrasikan berdasarkan Gahan dan George (2008)



Gambar 2.3 Tahap perkembangan embrio somatik tanaman monokotil secara *in vitro*. (Hapsoro dan Yusnita 2018), diilustrasikan berdasarkan Gahan dan George (2008)

Pada embriogenesis somatik langsung, pada eksplan sudah terdapat sel-sel yang bersifat embriogenik (Gambar 2.1). Dengan kata lain sel-sel ini sudah dalam kondisi fisiologi yang *determined*. Jadi fase induksi sudah selesai. Atau, sudah terdapat sel-sel yang kompeten sehingga sudah siap untuk menerima sinyal yang berupa ZPT untuk menjadi embriogenik.

Embriogenesis Somatik Membutuhkan ZPT Auksin

Pada praktik di laboratorium, embriogenesis somatik adalah melalui tahapan sebagaimana yang disajikan pada Tabel 3.1, yaitu fase induksi (induksi kalus primer dan proliferasi kalus embriogenik) dan fase ekspresi (perkembangan embrio somatik). Studi pustaka mengenai embriogenesis somatik pada beragam tanaman menunjukkan bahwa pada fase induksi dibutuhkan auksin dalam konsentrasi relatif tinggi (Tabel 3.1). Pada beberapa tanaman, fase induksi membutuhkan campuran ZPT auksin dan sitokinin, tetapi konsentrasi sitokinin yang ditambahkan pada umumnya jauh lebih rendah daripada konsentrasi auksinnya. Atau digunakan campuran auksin dan sitokinin yang aktivitasnya rendah, misalnya 2iP (2-isopentenyl adenine) (Tabel 3.1).

Pada fase ekspresi, pada umumnya digunakan media tanpa ZPT atau media dengan sitokinin (Tabel 3.1). Namun demikian terdapat kasus khusus dimana pada fase induksi digunakan sitokinin, yaitu pada kasus embriogenesis somatik tanaman kopi (Ducos et al. 2007).

EMBRIOGENESIS SOMATIK *IN VITRO* 3 UNTUK PERBANYAKAN TANAMAN

Perbanyakan tanaman dapat dilakukan secara generatif dan vegetatif. Perbanyakan secara generatif dilakukan melalui pertemuan antara gamet jantan dan gamet betina. Dalam praktik, perbanyakan secara generatif pada umumnya dilakukan dengan menggunakan biji. Misalnya, tanaman padi diperbanyak secara generatif dengan biji.

Adapun perbanyakan secara vegetatif, hal ini dilakukan tanpa melalui pertemuan antara gamet jantan dan gamet betina, yaitu perbanyakan dilakukan dengan bagian vegetatif tanaman. Salah satu contoh populer perbanyakan secara vegetatif adalah perbanyakan dengan setek, misalnya setek batang. Misalnya, tanaman singkong diperbanyak secara vegetatif dengan setek batang.

Perbedaan hakiki antara perbanyakan generatif dan vegetatif adalah terletak pada sel-sel yang digunakan untuk memulai perbanyakan. Pada perbanyakan generatif, perbanyakan dimulai dari sel gamet (sel kelamin), yaitu dimulai dari pertemuan antara gamet jantan dan gamet betina. Kedua gamet dapat berasal dari tanaman yang sama, atau dari tanaman yang berbeda.

Jika gamet berasal dari tanaman yang sama maka dikatakan terjadi penyerbukan sendiri atau silang-dalam (*self pollination*), sedangkan jika berasal dari tanaman yang berbeda maka dikatakan terjadi penyerbukan silang (*cross pollination*).

Tabel 3.1 Tanaman-tanaman yang diperbanyak secara vegetatif *in vitro* dengan embriogenesis somatik

No.	Tanaman	Fase Induksi		Fase Ekspresi	Pustaka
		Induksi	Proliferasi	Perkembangan	
1	<i>Coriandrum sativum</i> L. Eksplan: akar	MS + 1,0 mg/l 2, 4-D dan 0,2 mg/l BA	MS + 1,0 mg/l 2, 4-D dan 0,2 mg/l BA	MS + 1,0 mg/l 2, 4-D dan 0,2 mg/l BA	Ali et al. 2017.
2	<i>Stewartia</i> . Eksplan: embrio zigotik	WPM + Picloram (0,05 atau 0,1 mg/L) atau WPM + 2,4-D (2 atau 4 mg/L)	WPM + Picloram (0,05 or 0,1 mg/L) dan WPM + 2,4-D (2 or 4 mg/L)	WPM + Picloram (0,05 or 0,1 mg/L) dan WPM + 2,4-D (2 or 4 mg/L)	Gladfelter et al. 2020.
3	<i>Theobroma cacao</i> L. Eksplan: bagian bunga	DKW+2 mg/L 2,4-D, 5 µg/L TDZ, dan 50 mg/l 2iP	MS+ 1 mg/L 2,4,5-T	MS	Guillou et al. 2018.
4	<i>Ledebouria revoluta</i> Eksplan: bulb	MS + 2,4-D 3,0 mg/L dan NOA 0,75 mg/L	MS + 2,4-D 3,0 mg/L + NOA 0,75 mg/L	MS + TDZ 3,0 mg/L, NAA 0,75 mg/L- dan 1,75 mM spermidine	Haque dan Ghosh. 2016.
5	<i>Chrysanthemum</i> . Eksplan: daun	MS + 2,4-D 2 mg/l + BA 2 mg/l	MS + 2,4-D 2 mg/l + BA 2 mg/l	MS + 2,4-D 2 mg/l + BA 2 mg/l	Hesami et al. 2020.
6	Tomat. Eksplan: daun	MS + 2,4-D 4 mg/L + BA 0,5 mg/L	MS + 2,4-D 4 mg/L + BA 0,5 mg/L	indirect regeneration: MS + IAA 0,5 mg/L + BAP 3 mg/L direct regeneration: IAA 0,5 mg/L + BAP 3 mg/L	Jan et al. 2015.
7	<i>Phalaenopsis</i> "Sogo Vivien" Eksplan: daun	NP + TDZ 10 mg/L + NAA 1 mg/L	NP + TDZ 10 mg/L + NAA 1 mg/L	NP + TDZ 10 mg/L + NAA 1 mg/L	Kasi dan. Semiarti. 2017.
8	<i>Coffea robusta</i> . Eksplan: daun	1/2 MS + 2,4-D 1 mg/l + TDZ 5 mg/l	1/2 MS + 2,4-D 1 mg/l + BAP 4 mg/l	1/2 MS + kinetin 2 mg/l	Ibrahim dan Hartati. 2017.
9	<i>Coffea robusta</i> . Eksplan: daun	1/2 MS + BA 1 mg/L	ECIM + BA 1 mg/L + 2,4D 4mg/L	1/2 MS + BA 1 mg/L	Hapsoro et al. 2020.
10	<i>Coffea arabica</i> Eksplan: daun	MS + 0,5 mg/L 2,4-D + 1 mg/L BA	MS + BA 1 mg/L	MS + BA 1 mg/L	Ardiyani dan Pancaningtyas. 2017.

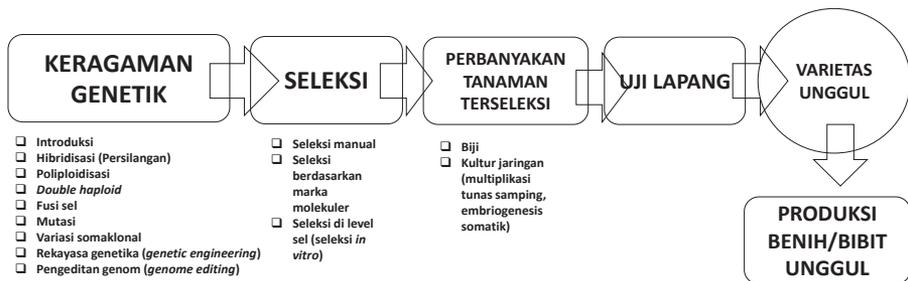
Masing-masing cara penyerbukan itu mempunyai implikasi penting pada keturunan yang dihasilkan oleh tanaman. Pada tanaman homozigot maka silang-dalam menghasilkan populasi keturunan yang seragam dan sama dengan induknya. Populasi keturunan seperti itu sering dinamakan *true-to-type*. Adapun pada tanaman heterozigot, silang-dalam menghasilkan keturunan yang tidak seragam dan tidak sama dengan induknya.

Perbanyak vegetatif akan menghasilkan populasi tanaman yang *true-to-type*, sebab yang diperbanyak adalah sel-sel somatik. Perbanyak tanaman yang dilakukan melalui embriogenesis somatik *in vitro* merupakan perbanyak vegetatif, jadi dihasilkan populasi turunan yang *true-to-type*, asalkan tidak terjadi mutasi. Perbanyak tanaman dengan embriogenesis somatik *in vitro* sudah diaplikasikan pada banyak tanaman, diantaranya disajikan pada Tabel 3.1.

Hasil penelitian pada beragam tanaman menunjukkan bahwa populasi tanaman hasil perbanyak dengan embriogenesis somatik menunjukkan tingkat keseragaman tinggi secara genetik pada antarindividu anggota populasi dan dengan induknya. Hal ini dilaporkan terjadi pada beragam tanaman, berdasarkan marka molekuler, misalnya bambu (Mehta et al. 2011), pisang (Nandhakumar et al. 2018), *Canna indica* (Mishra et al. 2015), *Chamaecyparis pisifera* (Hosoi et al. 2015), kelapa (Bandupriya et al. 2017), kopi (Muniswamy et al. 2017), jambu biji (Kamle et al. 2014), tebu (Kaur et al. 2018), *Gentiana kurroo* (Sharma et al. 2014), *Hibiscus sabdariffa* (Konar et al. 2018), *Magnolia dealbata*. (Chavez-Cortazar et al. 2020), dan *Curculigo orchioides* (Swati et al. 2011).

EMBRIOGENESIS SOMATIK *IN VITRO* 4 UNTUK PEMULIAAN TANAMAN

Pemuliaan tanaman adalah ilmu dan seni untuk menghasilkan populasi tanaman yang unggul. Populasi tanaman itu harus seragam untuk karakter-karakter yang memang menjadi ciri dari populasi itu. Bahkan populasi itu dapat seragam untuk semua karakter, karena secara genetik memang seragam. Populasi tanaman seperti itu, setelah didaftarkan di institusi yang berwenang, lalu disebut varietas unggul.



Gambar 4.1 Tahapan pemuliaan tanaman. Keragaman genetik dibuat, lalu dilakukan seleksi terhadap tanaman yang dikehendaki. Selanjutnya dilakukan uji lapang. Yang teruji unggul menjadi varietas unggul, lalu benih atau bibitnya diproduksi.

Secara prinsip, pemuliaan tanaman pada dasarnya adalah seleksi (Gambar 4.1). Karena seleksi, maka harus ada yang diseleksi, yaitu suatu populasi yang anggota-anggotanya beragam. Oleh karena itu, dalam prosesnya, kegiatan pemuliaan tanaman mensyaratkan adanya populasi tanaman yang secara genetik beragam sehingga dimungkinkan dilakukannya seleksi. Peningkatan keragaman genetik dapat dilakukan dengan introduksi, hibridisasi, mutasi, rekayasa genetika (*genetic engineering*), dan pengeditan genom (*genome editing*). Kemajuan dalam bidang pemuliaan tanaman meliputi di dua aktivitas itu, (yaitu metode peningkatan keragaman genetik dan metode seleksi). Metode termaju dalam peningkatan keragaman genetik dewasa ini adalah pengeditan genom, sedangkan dalam metode seleksi adalah digunakannya marka molekuler dan seleksi *in vitro*.

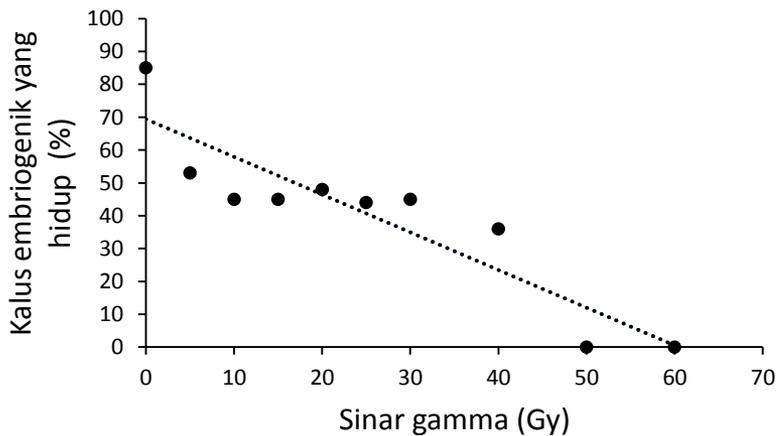
Pemuliaan Tanaman Mutasi

Pemuliaan tanaman yang memanfaatkan mutasi disebut pemuliaan mutasi (*mutation breeding*). Prinsipnya, keragaman genetik diinduksi dengan suatu mutagen, individu tanaman unggul diseleksi, lalu diperbanyak secara vegetatif. Pembentukan populasi tanaman yang beragam dapat dilakukan dengan memanfaatkan embriogenesis somatik.

Embriogenesis somatik, sebagaimana sudah dikemukakan, terdiri atas embriogenesis somatik langsung (*direct somatic embryogenesis*) dan tak langsung (*indirect somatic embryogenesis*). Pada embriogenesis somatik tak langsung, pembentukan embrio somatik didahului dengan pembentukan kalus embriogenik yang

kemudian mengalami proliferasi secara cepat. Saat itu adalah saat yang tepat untuk mendedahnya dengan suatu mutagen, misalnya sinar gamma. Dosis sinar gamma yang digunakan pada umumnya adalah sinar gamma LD₅₀, artinya dosis sinar gamma yang menyebabkan setengah dari kalus embriogenik itu mati. Yang hidup, yaitu 50%-nya, lalu diregenerasikan menjadi tanaman. Oleh karena itu sebelum sinar gamma diaplikasikan, perlu dilakukan studi radiosensitivitas untuk mendapatkan nilai LD50.

Hapsoro et al. (2018) melaporkan studi radiosensitivitas dari kalus embriogenik tanaman tebu untuk mendapatkan nilai LD50 dari sinar gamma. Hasilnya disajikan pada Gambar 4.2.



Gambar 4.2 Pengaruh dosis sinar gamma terhadap persen hidup kalus embriogenik tanaman tebu (Hapsoro et al. 2018)

Berdasarkan Gambar 5, dengan menggunakan analisis regresi, diperoleh nilai LD50 = 17 Gy. Nilai itu kemudian dipakai untuk pemuliaan mutasi pada tanaman tebu. Secara garis besar tahap pemuliaan mutasi tanaman tebu dengan menggunakan sinar gamma disajikan pada Gambar 4.3 (Hapsoro 2019).

Pertama-tama eksplan diinduksi membentuk kalus embriogenik (1), kalus embriogenik diiradiasi dengan sinar gamma (2), dilakukan seleksi terhadap kalus yang hidup (3), kalus diinduksi membentuk tunas (4), tunas-tunas diinduksi untuk membentuk akar (5), planlet-planlet diaklimatisasi (6) lalu tanaman-tanaman yang sudah teraklimatisasi dipelihara di polybag (7).



Gambar 4.3 Tahap-tahap pemuliaan mutasi tanaman tebu dengan mutagen sinar gamma (Hapsoro 2019). Penjelasan disajikan pada teks.

Beberapa contoh tanaman yang menjadi sasaran pemuliaan mutasi disajikan pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Beberapa contoh tanaman yang menjadi sasaran pemuliaan mutasi melalui embriogenesis somatik

No.	Tanaman	Fase Induksi		Fase Ekspresi	Mutagen	Pustaka
		Induksi	Proliferasi	Perkembangan		
1	Tebu (<i>Saccharum officinarum</i> L.). Eksplan: gulungan daun muda	MS+3 mg/L 2,4-D	MS + 3 mg/ L 2,4-D	MS + 2,5 mg /L BA	Sinar gamma	Hapsoro et al. 2018.
2	Kedelai. Eksplan: embrio	MS + 20 mg/L 2,4-D	MS + 10 mg/L 2,4-D	MS + 2,4-D 1 mg/L + kinetin 0,1mg/L	Sinar gamma dan etil metan sulfonat	Purnamaningsih et al. 2014.
3	<i>Coffea arabica</i> Eksplan: daun	1/2 MS + 1 mg/L 2,4-D + 3 mg/L TDZ	1/2 MS + 2,4-D 1mg/L + BA 4mg/L	1/2 MS + Kinetin 2mg/L	Sinar gamma	Ibrahim dan Randriani. 2020.
4	Agave tequilana. Eksplan: mata tunas samping	MS + 3 mg/ L 2,4-D + 2 mg/L BA + 2 mg/L TDZ	MS + 3 mg/ L 2,4-D + 2 mg/L BA + 2 mg/L TDZ	MS + 3 mg/ L 2,4-D + 2 mg/L BA + 2 mg/L TDZ	Sinar gamma	Valencia-Botín et al. 2020.
5	<i>Coffea robusta</i> Eksplan: daun	1/2 MS + 2,4-D 1 mg/L μ M + 2- iP 4 mg/L	1/2 MS + 2,4-D 1mg/L + BA 4mg/L	1/2 MS + Kinetin 2 mg/L	Sinar gamma	Ibrahim et al. 2019.
6	<i>Panax ginseng</i> Eksplan: kotiledon	MS	MS	1/2 MS	Sinar gamma	Lee et al. 2019.

Embriogenesis Somatik *In Vitro* untuk Memfasilitasi Rekayasa Genetika.

Rekayasa genetika tanaman adalah suatu teknik modifikasi sifat tanaman dengan memasukkan materi genetik ke dalam genom secara langsung. Metode yang paling banyak digunakan adalah metode *Agrobacterium* dengan bantuan *Agrobacterium tumefaciens* (*Agrobacterium-mediated transformation*) dan metode biolistik.

Metode *Agrobacterium* memanfaatkan mekanisme interaksi antara bakteri *Agrobacterium tumefaciens* dan tanaman yang menyebabkan penyakit puru pada tanaman. Bakteri ini mempunyai Ti-plasmid (*tumor-inducing plasmid*), plasmid penginduksi tumor. Plasmid adalah DNA berbentuk cincin dalam bakteri yang mampu memperbanyak diri secara independen dari DNA kromosom bakteri. Pada Ti-plasmid terdapat T-DNA (*transfer DNA*). Pada interaksi itu, bakteri melepaskan T-DNA untuk diintegrasikan pada genom sel tanaman yang diinfeksi. Akibatnya sel yang diinfeksi membelah-belah diri secara cepat dan menjadi sel tumor (puru). Sel-sel yang diinfeksi menjadi sel tumor, sebab mereka kini memiliki gen di T-DNA itu yang mengkode protein untuk sintesis zat pengatur tumbuh (ZPT) auksin dan sitokinin. Kedua ZPT ini menyebabkan sel-sel tersebut membelah-belah diri secara cepat. Dari interaksi ini disimpulkan bahwa *Agrobacterium tumefaciens* dapat mentransfer secara langsung bagian dari DNA-nya dan mengintegrasikannya ke genom sel tanaman. Kemampuan ini lalu dimanfaatkan untuk mentransfer gen ke genom tanaman. Prinsipnya dengan mengganti gen-gen yang mengkode protein untuk sintesis auksin dan sitokinin dengan *gene of interest*. Teknik ini sudah digunakan secara luas dalam rekayasa genetika tanaman.

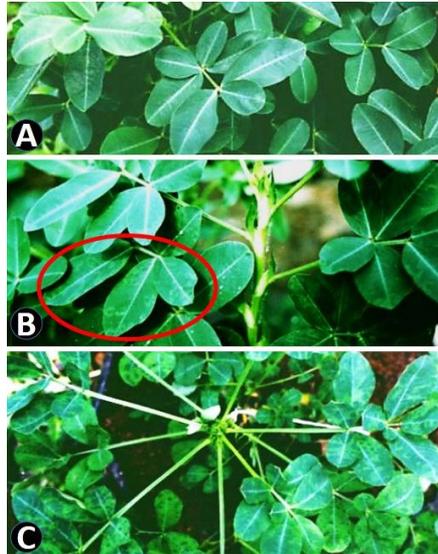
Metode lainnya, yang banyak digunakan, adalah metode biolistik. Metode ini disebut juga metode *particle bombardment*. Prinsipnya, partikel emas atau tungsten (ukuran kurang lebih 1 mikron) dibungkus dengan suatu gen, lalu ditembakkan ke jaringan atau kumpulan sel. Harapannya gen itu menjadi terintegrasi pada genom.

Kedua metode itu membutuhkan sistem regenerasi tanaman *in vitro* yang efisien. Artinya, bagian tanaman yang menjadi target transformasi harus mudah diregenerasikan menjadi tanaman utuh. Salah satu sistem regenerasi yang efisien adalah embriogenesis somatik *in vitro*. Pada rekayasa genetika tanaman kacang tanah untuk menghasilkan ketahanan terhadap penyakit bilur kacang tanah yang disebabkan oleh PStV (*peanut stripe virus*), Hapsoro et al. (2005) menggunakan embriogenesis somatik *in vitro*.

Pada penelitian itu resistensi terhadap virus PStV didasarkan pada fenomena terjadinya *post-transcriptional gene silencing* (PTGS) (Maine 2000). Pada prinsipnya, resistensi suatu tanaman terhadap suatu virus dapat terjadi jika ke dalam genom tanaman itu diintegrasikan gen pengkode protein dari virus itu. Pada kasus resistensi tanaman kacang tanah transgenik terhadap PStV, maka pada genom tanaman sudah terintegrasikan gen *cp* PStV (*cp=coat protein*, protein selubung) melalui proses transformasi genetik. Ketika PStV menginfeksi tanaman, maka RNA *cp* dari virus bertemu dengan RNA *cp* dari tanaman, yang dengan suatu mekanisme biokimia tertentu, menyebabkan kedua RNA *cp* itu mengalami degradasi sehingga PStV tidak dapat berkembang-biak dalam sel tanaman sehingga tanaman menjadi resisten terhadap virus itu.

Sifat resistensi transgenik ini sudah terbukti stabil, karena wewujud pada fenotipe tanaman, mewaris mengikuti Hukum Mendel, terbukti bertahan dalam pengujian tujuh silang-dalam, dan dapat digabungkan dengan sifat-sifat non-transgenik melalui hibridisasi (Hapsoro et al. 2005; 2007a; 2007b; 2008; 2010). Fenotipe tanaman transgenik kacang tanah yang resisten terhadap PStV dapat dilihat pada Gambar 4.4. Tabel 4.2 menyajikan sejumlah

tanaman yang menjadi target pemuliaan tanaman dengan rekayasa genetika yang difasilitasi menggunakan embriogenesis somatik *in vitro*.



Gambar 4.4 Respons tanaman kacang tanah (*Arachis hypogaea* L) hasil rekayasa genetika terhadap inokulasi dengan PSTV. Tanaman kacang tanah ini mengandung gen pengkode protein selubung (gen *cp*) dari PSTV (*peanut stripe virus*). (A) Tanaman resisten PSTV, (B) Tanaman resisten PSTV dengan gejala sembuh (*recovery*). Pada daun tampak gejala ringan bercak (lingkaran merah), lalu gejala itu tidak tampak pada daun yang tumbuh kemudian (sembuh). (C) Tanaman rentan PSTV.

Tabel 4.2 Beberapa contoh tanaman yang menjadi target pemuliaan melalui rekayasa genetika yang menggunakan embriogenesis somatik *in vitro*.

No.	Tanaman	Fase Induksi		Fase Ekspresi	Metode Transformasi	Pustaka
		Induksi	Proliferasi	Perkembangan		
1	<i>Musa textilis</i> Nee.	MS	MS + BAP 5 mg/L + TDZ 0,4 mg/L	MS + BAP 0,5 mg/L	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> -mediated	Purwati dan Sulistyowati 2012.
2	Anggur 'Shine Muscat' Eksplan: mata tunas bunga	liquid 1/2 MS + 1 μ M 2,4-D + 1 μ M 1,2,3-thiadiazol-5-yl	solid 1/2 MS + 1 μ M 2,4-D + 1 μ M 1,2,3-thiadiazol-5-yl	1/2 MS + 1 μ M 2,4-D	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> -mediated	Nakajima et al. 2020.
3	<i>Veratrum dahuricum</i> Eksplan: embrio muda	MS + 8 mg/L picloram	MS + 8 mg/L picloram	AA medium+ 4 mg/L 2,4-D	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> -mediated	Ma et al. 2020.
4	<i>Sorghum bicolor</i> L. Eksplan: embrio muda.	MS + 1 mg/L 2,4-D + 0,5 mg/L BA	MS + 1 mg/L 2,4-D + 0,5 mg/L BA	MS + 0,5 mg/L 2,4-D + 1 mg/L BA	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> -mediated	Belide et al. 2017.
5	<i>Cenchrus ciliaris</i> Eksplan: daun	MS + 3 mg/l 2,4-D + 0,5 mg/l BAP	MS + 2, 4-D 1 mg/l + BAP 1 mg/l	MS + 2, 4-D 1 mg/l + BAP 1 mg/l	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> -mediated	Laishram et al. 2020.
6	<i>Castanea mollissima</i> Eksplan: embrio muda	WPM + 2,4-D 0,4mg/L + 6-BA 0,3 mg/L	WPM + 2,4-D 0,4mg/L + 6-BA 0,3 mg/L	WPM + 2,4-D 0,4mg/L + 6-BA 0,3 mg/L	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> -mediated	Sun et al. 2020.
7	<i>Larix olgensis</i> Eksplan: biji muda	Medium dasar+ 1,5 mg/L 2,4-D + 0,5 mg/L 6-BA + 0,5 mg/L kinetin	Medium dasar + 0,15 mg/L 2,4-D + 0,05 mg/L 6-BA + 0,05 mg/L kinetin	Medium dasar+ 20 mg/L ABA	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> -mediated	Song et al. 2020.
8	<i>Musa acuminata</i> Eksplan: mata tunas infloresens bunga jantan	MS + arang aktif 0,03 g/L + NAA 1 mg/L + IAA 1 mg/L + 2,4-D 4 mg/L	MS + arang aktif 0,03 g/L + IAA 1 mg/L + 2,4-D 4 mg/L	MS + arang aktif 0,05 g/L + NAA 0,1 mg/L + BAP 1 mg/L	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> -mediated	Kusumastuti et al. 2017.

Embriogenesis Somatik *In Vitro* untuk Memfasilitasi Pengeditan Genom

Pada rekayasa genetika tanaman, terjadi modifikasi genom pada tanaman target. Tanaman hasil rekayasa genetika disebut tanaman transgenik. Tanaman ini sudah mengalami modifikasi pada genomnya, misalnya sudah tersisipi suatu gen yang sebelumnya tidak dimilikinya. Jika gen yang tersisipkan (disebut transgen) fungsional, maka tanaman transgenik itu memiliki tambahan sifat, yang merupakan ekspresi dari transgen.

Pada rekayasa genetika, integrasi transgen pada genom bersifat acak. Dengan perkataan lain modifikasi genetik tidak bisa diarahkan agar terjadi pada lokasi tertentu pada genom. Dewasa ini telah ditemukan teknologi modifikasi genom yang lebih akurat daripada rekayasa genetika. Teknologi ini disebut teknologi pengeditan genom (*genome editing*). Dengan teknologi ini suatu genom dapat diedit pada lokasi tertentu pada genom itu. Dalam hal ini di lokasi tertentu itu suatu segmen DNA bagian genom dapat dihilangkan (*deletion*) atau suatu segmen DNA tertentu disisipkan (*insertion*). Jika yang mengalami delesi itu adalah suatu gen yang fungsional, maka gen itu menjadi tidak berfungsi dan hal ini tentunya mempengaruhi fenotipe. Demikian juga, jika gen yang fungsional itu mengalami insersi oleh gen lain, maka gen yang sebelumnya fungsional itu menjadi tidak berfungsi, dan fungsinya digantikan oleh gen yang menyisipi. Atau, gen yang disisipkan menyebabkan munculnya sifat tambahan yang baru.

Teknologi terbaru pengeditan genom adalah yang menggunakan sistem CRISPR/Cas9. CRISPR adalah singkatan dari *clustered regularly interspaced palindromic repeats*. CRISPR pertama

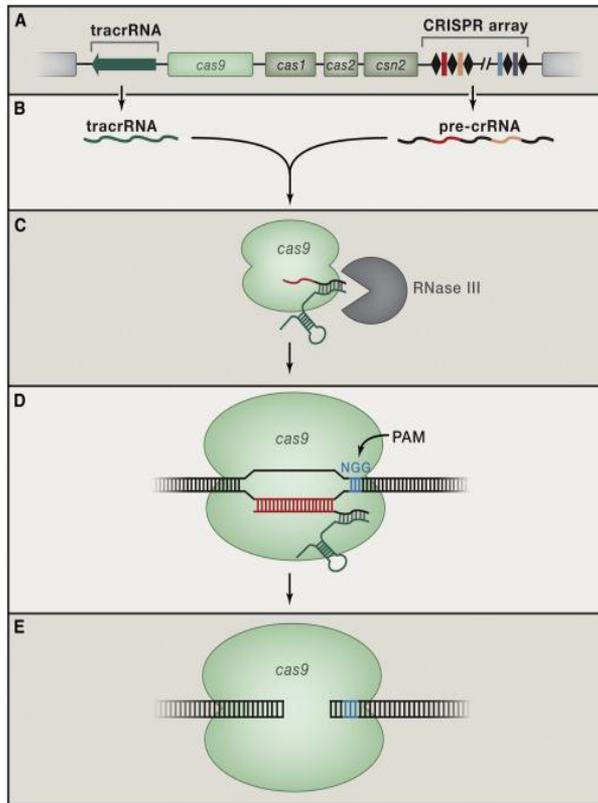
kali ditemukan pada organisme archaea, kemudian pada bakteri. CRISPR berupa sejumlah kopi dari suatu segmen DNA (30 basa) yang satu sama lain dipisahkan oleh suatu segmen DNA yang disebut segmen pemisah (*spacers*) yang ukurannya kurang lebih 36 basa (Mojica et al. 1993). Cas9 adalah singkatan dari CRISPR-associated protein 9. Dia adalah nuklease, suatu enzim yang memotong rantai DNA (*deoxyribonucleic acid*), salah satu bentuk nukleotida.

Pengeditan genom dengan sistem CRISPR/Cas9 bekerja dengan memanfaatkan sistem imunitas pada bakteri terhadap serangan virus. Pada bakteri *Streptococcus thermophilus*, sistem imunitas CRISPR/Cas9 bekerja sebagai berikut (Lander 2016)(Gambar 4.5). (A) Sistem CRISPR/Cas9 merupakan segmen DNA yang terdiri atas runutan CRISPR, 4 gen pengkode protein cas9, cas1, cas2, dan csn2 (masing-masing disebut gen *cas9*, *cas1*, *cas2*, dan *csn2*), dan segmen *tracrRNA*. Runutan CRISPR merupakan runutan berulang (*repeats*), yang dipisahkan satu sama lain oleh runutan sela (*spacer*). Protein cas9 adalah enzim nuklease pemotong DNA, sedangkan protein-protein cas1, cas2, dan csn2 berfungsi dalam mendapatkan runutan sela (*spacer*). (B) Hasil transkripsi segmen tersebut diantaranya adalah pre-crRNA, *tracrRNA*, dan RNA cas9 (yang mengalami translasi menghasilkan protein cas9). (C) Kedua RNA tersebut mengalami hibridisasi dan diproses sehingga menjadi lebih pendek oleh enzim cas9 dan RNase III. (D) Hasilnya adalah suatu kompleks yang tersusun atas enzim cas9, *tracrRNA*, dan crRNA. Kompleks tersebut lalu mencari runutan DNA yang cocok dengan runutan sela (*spacer*) pada crRNA. Protein cas9 membutuhkan *protospacer adjacent motif* (PAM) agar bisa berinteraksi dengan runutan DNA yang akan dipotong (DNA target).

(E) Begitu berinteraksi dengan DNA target, kompleks cas9-RNA memotong DNA target dari tiga basa dari lokasi PAM. DNA target terpotong, yang hasil potongannya merupakan ujung tumpul.

Sistem imunitas CRISPR/Cas9 pada *Streptococcus thermophilus* bekerja sangat spesifik dalam memotong DNA target. Setiap kali bakteri diserang suatu virus (*bacteriophage*), maka sebagian runutan DNA virus “direkam”-nya dengan cara mengintegrasikannya pada genomnya berupa *spacer* pada runutan CRISPR. Jika virus yang sama menyerang lagi, maka bakteri memanfaatkan sistem CRISPR/Cas9 dengan menggunakan *spacer* yang berupa RNA (crRNA) sebagai pembimbing untuk memotong DNA virus sehingga virus tidak bisa berkembang biak. Proses pemotongan itu juga membutuhkan RNA lain, yaitu tracrRNA.

Sistem imunitas tersebut dimanfaatkan untuk pengeditan genom dengan mentransformasikan gen *cas9* bersama-sama dengan guide RNA, yang disebut sgRNA (*single stranded RNA*). Single stranded RNA (sgRNA) merupakan hasil sambungan antara crRNA dan tracrRNA. Sistem transformasi sejauh ini sebagian besar menggunakan transformasi dengan bantuan *Agrobacterium* dan dengan *particle bombardment* (Chen et al. 2019).



Gambar 4.5 Lokus CRISPR/Cas9 pada bakteri *Streptococcus thermophilus* dan mekanisme pemotongan DNA virus yang menginfeksi (Lander 2016). Keterangan disajikan di teks.

EMBRIOGENESIS SOMATIK *IN VITRO* UNTUK MENINGKATKAN PRODUKTIVITAS DAN KUALITAS KOPI ROBUSTA DI LAMPUNG

5

Kopi adalah minuman paling populer di dunia. Kurang lebih dua milyar cangkir kopi diminum tiap hari ([https:// www.britishcoffeeassociation.org/coffee-in-the-uk/coffee-facts](https://www.britishcoffeeassociation.org/coffee-in-the-uk/coffee-facts)). Indonesia adalah produsen dan eksportir kopi keempat terbesar dunia. Berdasarkan data dari ICO (2021) pada tahun 2020 Indonesia adalah produsen kopi keempat terbesar setelah Brazil, Vietnam, dan Kolumbia. Pada tahun 2020 kontribusi Indonesia terhadap total produksi kopi dunia adalah 12,1 juta karung (6,9%)(1 karung=60 kg), sedangkan Brazil 69,0 juta karung (39,4%), Vietnam 29,0 juta karung (16,5%), dan Kolumbia 14,3 juta karung (8,2%). Pada periode Oktober-Maret 2020/2021, kontribusi Indonesia terhadap total ekspor kopi dunia adalah 3,8 juta karung (5,7%), sedangkan Brazil 24,7 juta karung (37,7%), Vietnam 12,6 juta karung (19,2%), dan Kolumbia 7,1 juta karung (10,8%).

Ada dua jenis kopi yang bernilai komersial tinggi di dunia yaitu kopi Arabika (*Coffea arabica* L.) dan kopi Robusta (*Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner). Berdasarkan data ICO (2021) kontribusi produksi kedua jenis kopi tersebut adalah bahwa kopi Arabika 64% dan kopi Robusta 36%. Indonesia adalah produsen kopi Robusta ketiga terbesar dunia yaitu 9,4 juta karung, setelah Vietnam 28,0 juta karung dan Brazil 20,1 juta karung (USDA 2021).

Di level nasional, Lampung adalah produsen kopi nomor dua terbesar setelah Sumatera Selatan. Pada tahun 2020, total produksi kopi Lampung 1,97 juta karung (1 karung = 60 kg), sedangkan Sumatera Selatan 3,18 juta karung (Direktorat Jendral Perkebunan 2020). Namun demikian produktivitasnya masih tergolong rendah, yaitu 0,78 ton/Ha (Republika.co.id. 2019). Di Lampung Barat, sebagai produsen terbesar kopi di Lampung, produktivitas kopi juga masih tergolong rendah yaitu 1,2 ton/Ha (rri.co.id. 2021). Bandingkan dengan produktivitas kopi di Vietnam, yaitu 2,3 ton/Ha (Antaraneews.com. 2021), hampir dua kali lipatnya. Kopi Lampung sebagian besar dihasilkan oleh perkebunan rakyat, yang sebagian besar menunjukkan kinerja produktivitas rendah. Hal ini selain disebabkan oleh faktor budidaya, juga oleh faktor benih.

Benih bermutu dihasilkan melalui pemuliaan tanaman (*breeding*). Melalui program pemerintah, sebagian petani Lampung melakukan seleksi individu-individu tanaman kopi yang tidak hanya berproduksi tinggi tetapi juga berkualitas tinggi, sebuah program pemuliaan yang sederhana. Mereka lalu melaksanakan sendiri program itu, yaitu dengan menyeleksi individu-individu tanaman berproduksi tinggi dengan kualitas biji kopi yang juga tinggi. Studi yang dilakukan Evizal et al. (2015) menunjukkan bahwa petani kopi di

Lampung membudidayakan 25 klon kopi Robusta yang mereka nilai unggul dan mereka mampu mendeskripsikan masing-masing klon. Sejauh ini setidaknya sudah dihasilkan tiga klon unggul kopi Robusta oleh petani Lampung, yaitu klon Tugino, klon Siswanto, dan klon Biyadi. Nama klon adalah nama petani pemulianya (*breeder*). Pada Lomba Kopi Unggul Nasional 2015, yang diadakan oleh Pusat Penelitian Kopi dan Kakao, Jember, klon Tugino meraih Juara I, klon Siswanto Juara II, sedangkan klon Biyadi meraih Juara Harapan Pertama Tingkat Nasional untuk kategori Kopi Robusta (Gambar 5.1). Sosok tanaman klon Tugino dan Siswanto disajikan pada Gambar 5.2.

Sebagian besar tanaman kopi yang dibudidayakan di Lampung adalah kopi Robusta (*Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner). Kopi Robusta adalah tanaman menyerbuk silang (*cross-pollinating plants*). Tanaman tidak bisa menyerbuk sendiri, disebabkan oleh *self-incompatibility*, yaitu kegagalan membentuk embrio jika menggunakan serbuk sari sendiri. Oleh karena itu sistem budidaya kopi Robusta mensyaratkan ditanamnya populasi yang terdiri atas genotipe atau klon yang berbeda-beda, yang jika mereka saling menyerbuki maka akan dihasilkan embrio dalam persentase yang tinggi, sehingga bermuara pada produksi kopi per hektar yang tinggi.



Gambar 5.1 Piagam penghargaan dari Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Jember yang diberikan dalam rangka Lomba Kopi Unggul Nasional 2015 kepada para petani Lampung atas prestasi mereka dalam menghasilkan klon-klon unggul kopi Robusta. Dari kiri ke kanan: Klon Tugino Juara I, Klon Siswanto Juara II, dan Klon Biyadi Juara Harapan Pertama pada Kategori Kopi Robusta.



Gambar 5.2 Sosok tanaman kopi Robusta dari Lampung klon Tugino (kiri) dan Siswanto (Kanan) yang masing-masing meraih Juara I dan Juara II pada kategori Kopi Robusta pada Lomba Kopi Unggul Nasional 2015, yang diadakan oleh Pusat Penelitian Kopi dan Kakao, Jember.

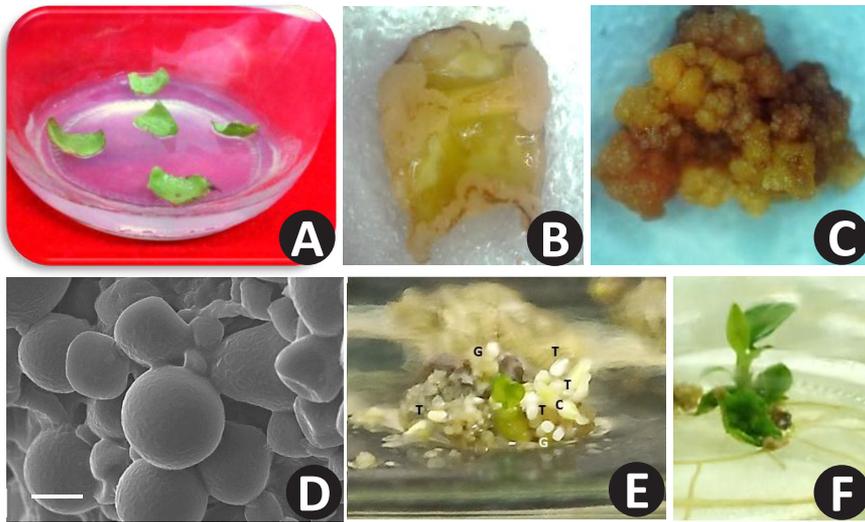
Di Lampung, kebanyakan petani melakukan seleksi terhadap individu-individu tanaman yang menunjukkan produktivitas dan mutu hasil tinggi, lalu menyambungkan cabang plagiotropiknya ke cabang dari tanaman kopi dewasa. Cara penyambungan ini disebut cara *tak-ent*. Cara ini sangat disukai oleh petani sebab tanaman cepat berbuah dengan produktivitas dan kualitas hasil seperti yang dikehendaki sebab cara ini adalah cara perbanyakan vegetatif yang menjamin bahwa hasil perbanyakan secara genetik adalah sama dengan induknya. Kelemahannya adalah bentuk tajuk tanaman tidak memungkinkan terbentuknya cabang ortotropik sebagai bahan tanaman untuk perbanyakan dengan setek. Kelemahan lainnya adalah individu tanaman terpilih, yang unggul, sebagai pohon induk, menjadi rusak sehingga tidak lagi dapat dimanfaatkan.

Untuk mengatasi masalah tersebut, salah satu alternatif solusi adalah dengan memperbanyak tanaman terseleksi secara vegetatif melalui setek. Cara ini sudah dilakukan oleh beberapa petani di Lampung dan perlu disosialisasikan ke para petani lainnya.

Namun demikian, sebagaimana cara *tak-ent*, cara perbanyakan dengan setek juga merusak pohon induk dan tidak dapat menghasilkan bibit tanaman kopi dalam jumlah besar. Alternatif solusi lainnya adalah perbanyakan melalui embriogenesis somatik. Perbanyakan kopi Robusta melalui embriogenesis somatik sudah menjadi proyek internasional untuk menghasilkan bibit kopi robusta dalam jumlah besar yaitu kurang lebih satu juta bibit per tahun (Ducos et al. 2007).

Unila sedang melakukan penelitian embriogenesis somatik beberapa klon kopi Robusta unggul Lampung (Hapsoro et al. 2020). Hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan respons dari

beberapa klon unggul Robusta dari Lampung terhadap media induksi kalus untuk embriogenesis somatik. Klon Komari adalah klon yang paling responsif di antara klon-klon yang diuji. Studi lebih lanjut dari klon ini bermuara sampai dihasilkannya planlet kopi Robusta (Hapsoro et al. 2020). Tahap regenerasi tanaman kopi Robusta melalui embriogenesis somatik dari eksplan daun secara garis besar disajikan pada Gambar 5.3.



Gambar 5.3 Tahapan embriogenesis somatik *in vitro* tanaman kopi Robusta (*Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner) klon Komari. (A) Potongan daun dikulturkan pada media induksi kalus primer (IKP). (B) Kalus primer muncul pada bekas potongan daun pada media IKP. (C) Subkultur kalus primer ke media induksi kalus embriogenik (IKE) menghasilkan kalus embriogenik. (D) *Scanning electron micrograph* dari kalus embriogenik. (E) Embrio somatik pada beberapa tahap perkembangan: *globular* (G), *torpedo* (T), dan *cotyledonary* (C) pada media perkembangan embrio somatik (PE). (F) Planlet tanaman kopi Robusta pada media regenerasi tanaman (RT).

Ekpslan berupa potongan daun (0,5 cm x 0,5 cm) dikulturkan pada media induksi kalus primer (IKP) selama 4 minggu. Kemudian kalus primer disubkultur ke media induksi kalus embriogenik (IKE) dan diinkubasi selama 12 minggu dengan subkultur ke media segar tiap 4 minggu. Kalus embriogenik yang terbentuk diseleksi dan dikulturkan pada media perkembangan embrio somatik (PE) selama 16 minggu dengan disubkultur ke media segar tiap minggu. Di media PE terbentuk embrio-embrio somatik pada tahap globuler (G), torpedo (T), dan kotiledon (C) (Gambar 5.3).

EMBRIOGENESIS SOMATIK **6** *IN VITRO* KACANG TANAH

Kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) adalah salah satu tanaman legum penghasil pangan yang penting, karena merupakan sumber protein dan lemak nabati yang berkualitas tinggi. Tidak seperti kedelai yang berasal dari daerah subtropis, tanaman kacang tanah berasal dari daerah tropis (FAO 2022) sehingga cocok ditanam di daerah tropis seperti Indonesia, mempunyai daya adaptasi lebih luas daripada kedelai, merupakan tanaman yang baik untuk rotasi tanaman, dan merupakan *cash crop* yang penting karena banyak dipakai dalam industri makanan. Indonesia pada tahun 2020 tercatat sebagai produsen kacang tanah terbesar ke-10 dunia dengan produksi 0,86 juta ton (Shahbandeh 2022). Produsen terbesar ke-1 sampai ke-9 berturut-turut adalah (juta ton) China (17,99), India (9,95), Nigeria (4,49), Amerika Serikat (2,78), Sudan (2,27), Sinegal (1,8), Myanmar (1,65), Argentina (1,29), dan Guinea (1,07) (Syahbandeh 2022). Meskipun menjadi salah satu produsen utama kacang tanah dunia, Indonesia belum dapat memenuhi permintaan kacang tanah dalam negeri. Kurang lebih satu juta ton kacang tanah harus diimpor dari luar negeri per tahunnya untuk memenuhi permintaan tersebut (Prisma 2022). Defisit produksi kacang tanah nasional antara lain

disebabkan oleh produktivitasnya yang masih rendah. Produktivitas kacang tanah di Indonesia pada tahun 2019 adalah 1,4 ton /ha (Kementerian Pertanian 2019), jauh lebih rendah dari potensi produksinya yaitu mencapai 2.5 - 3.0 ton/ha (Sumarno 1993). Produktivitas kacang tanah di beberapa negara lain lebih tinggi, misalnya (dalam ton/ha) Amerika Serikat 4,4, Korea Selatan 2,8, Jepang 2,0, Vietnam 2,5, Saudi Arabia 4,0, Australia 3,3, Spanyol 2,9, Malaysia 3,0, dan Taiwan 6,3 (<https://www.atlasbig.com/>)

Salah satu kendala dari faktor biotik yang secara signifikan dapat menurunkan produktivitas kacang tanah adalah serangan berbagai penyakit, salah satu yang terpenting adalah penyakit busuk pangkal batang yang disebabkan oleh cendawan *Sclerotium rolfsii*. Pemuliaan kacang tanah untuk mendapatkan tanaman yang resisten terhadap suatu penyakit terkendala oleh ketiadaan sumber gen resisten pada plasma nutfah yang ada. Pada kondisi demikian, sifat ketahanan terhadap suatu penyakit dapat dihasilkan melalui induksi keragaman somaklonal bersama dengan seleksi *in vitro* menggunakan filtrat cendawan pathogen penyebab penyakit tersebut. Penggunaan teknik induksi keragaman somaklonal dan seleksi *in vitro* tersebut mensyaratkan didapatkannya prosedur regenerasi tanaman yang efisien dan *reproducible* melalui embriogenesis somatik *in vitro*. Menggunakan teknik ini, Yusnita et al. (2006; 2010) berhasil mendapatkan beberapa galur kacang tanah yang resisten terhadap penyakit busuk batang *Sclerotium* pada kacang tanah.

Prosedur regenerasi kacang tanah melalui embriogenesis somatik *in vitro* telah ditemukan melalui hasil penelitian Edy (1998) dan Sulichantini (1998), yang menggunakan eksplan poros embrio

dan leaflet embrio pada biji masak fisiologis kacang tanah varietas Gajah. Embriogenesis kacang tanah dapat diinduksi dengan media MS dengan penambahan pikloram pada konsentrasi optimum 16-20 μM . Hasil tersebut belakangan ini sudah dikembangkan, tidak sebatas pada induksi embrio primer dan sekunder saja, tetapi meliputi pematangan embrio, pengecambahan, pemanjangan tunas dan pengakaran, serta aklimatisasi planlet ke rumah plastik.

Eksplan dan sterilisasinya

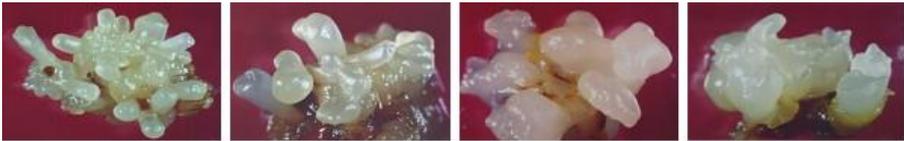
Eksplan yang digunakan adalah leaflet embrio pada biji masak kacang tanah dari varietas terpilih. Sterilisasi eksplan dilakukan dengan merendam-kocok benih (*mature seeds*) kacang tanah dalam larutan 5,25% NaOCl selama 10 menit, lalu dibilas dengan air steril tiga kali. Di dalam laminar *air-flow cabinet*, biji dibuka menggunakan pisau skalpel, lalu empat leaflet embrionya berukuran 1-1,5 mm diambil dan dikulturkan di media induksi kalus primer.

Induksi Kalus Primer, Induksi Kalus Embriogenik, dan Embriogenesis Somatik

Untuk menginduksi kalus primer, kalus embriogenik dan embriogenesis, eksplan leaflet embrio kacang tanah steril dikulturkan di media dasar dengan garam mineral makro dan mikro MS (Murashige dan Skoog 1962) yang diberi penambahan 20 g/l sukrosa, B5 vitamin (Gamborg et al. 1968) dan pikloram 16 μM . Larutan media ini diatur pH nya menjadi 5,8 sebelum ditambah bubuk agar 8 g/l sebagai pematat media. Larutan media dimasak hingga mendidih untuk melarutkan agar-agar, lalu dimasukkan ke

dalam botol-botol kultur berukuran 250 ml, sebanyak 30 ml per botol. Selanjutnya botol berisi media ditutup plastik dan disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121 °C dan tekanan 1,2 kg/cm² selama 15 menit.

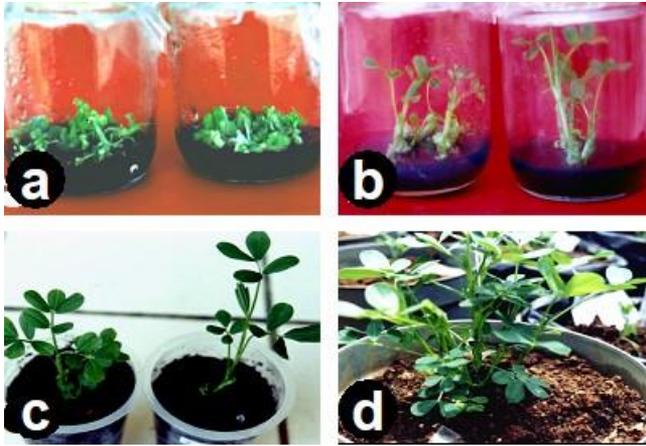
Kultur leaflet diinkubasi dalam kondisi gelap pada ruang bersuhu 26⁰ ± 2 °C selama 4 minggu. Subkultur ke media baru yang sama dilakukan setiap 4 minggu. Pada minggu ke 8, embrio somatic (ES) mulai terbentuk. Pembentukan ES sekunder terjadi jika clump ES disubkultur ke media yang sama setiap 4 minggu. Kultur ES ini memiliki kapasitas regenerasi yang tidak menurun walaupun disubkultur berkali-kali hingga lebih dari 12 bulan setelah inisiasi. Gambar 6.1 menunjukkan morfologi ES kacang tanah cv. Kelinci, Zebra, Badak dan Singa setelah dikulturkan selama 12 bulan.



Gambar 6.1 Embrio somatik (ES) kacang tanah (dari kiri-kanan) berbagai kultivar kacang tanah yaitu Kelinci, Zebra, Badak dan Singa setelah dikulturkan selama 12 bulan. Clumps ES disubkultur setiap 4 minggu dan diinkubasi dalam kondisi gelap pada ruang bersuhu 26⁰ ± 2 °C.

Regenerasi Planlet dari Embrio Somatik

Untuk meregenerasikan ES kacang tanah menjadi planlet, pertama dilakukan pendewasaan dan pengecambahan ES kacang tanah, dengan cara mensubkultur clump ES ke media MS tanpa ZPT dengan penambahan 2 g/l arang aktif (MSAC) selama 4 minggu. ES yang sudah berkecambah berwarna hijau. Kecambah yang masih pendek sekali ini selanjutnya disubkultur ke media MS yang diberi 2 mg/l benziladenin (BA) dan 2 mg/l kinetin + 2 g/l arang aktif selama 4 minggu (Gambar 6.2a), lalu disubkultur lagi ke media MSAC untuk perkembangan epikotil (Gambar 6.2b). Tunas-tunas kacang tanah berukuran sekitar 5 cm ini disubkultur lagi di media MSAC untuk pengakaran. Planlet atau tunas berakar yang sudah berakar 3-4 helai selanjutnya dapat diaklimatisasi di pot-pot plastik berisi media campuran pasir, arang sekam (1:1; v/v) dengan penyungkupan dengan plastik transparan untuk menjaga agar kelembabannya tinggi. Planlet yang sudah teraklimatisasi, yaitu sekitar 3-4 minggu di kondisi *ex-vitro*, selanjutnya dapat dipindah ke pot berisi media campuran tanah top-soil: kompos (1:1; v/v) diletakkan di rumah kaca hingga dewasa, berbunga dan berbiji (Gambar 6.2c dan d).



Gambar 6.2 Perkembangan tanaman kacang tanah dari embrio somatik. Embrio somatik yang sudah membentuk tunas dikulturkan pada media MSAC (Media MS plus arang aktif)(a). Tunas (5 cm) disubkultur ke media MSAC untuk pengakaran (b). Selanjutnya planlet diaklimatisasi (c dan d)

KESIMPULAN 7

1. Proses embriogenesis somatik *in vitro* berawal dari satu atau sekelompok sel tanaman, lalu sel-sel itu menjadi embrogenik, yaitu berpotensi untuk berkembang menjadi embrio. Sel-sel embriogenik dapat membelah-belah diri menjadi banyak, lalu berkembang menjadi embrio somatik matang dalam jumlah banyak yang siap untuk berkecambah dan menjadi tanaman.
2. Embriogenesis somatik dapat dimanfaatkan sebagai sarana untuk memperbanyak klonal dan pemuliaan untuk menghasilkan varietas unggul.
3. Sebagai sarana untuk pemuliaan, embriogenesis somatik dapat digunakan untuk pemuliaan mutasi, misalnya mutasi karena variasi somaklon, mutasi dengan iradiasi sinar gamma, rekayasa genetika, dan pengeditan genom, misalnya dengan metode CRISPR/Cas-9.
4. Pada kasus tanaman kopi, embriogenesis somatik dapat dimanfaatkan untuk memperbanyak vegetatif kon-klon unggul kopi Robusta untuk meningkatkan produktivitas dan kualitasnya.

5. Pada kasus tanaman kacang tanah, embriogenesis somatik dapat dimanfaatkan untuk pemuliaan tanaman untuk menghasilkan tanaman kacang tanah yang toleran terhadap serangan penyakit busuk pangkal batang yang disebabkan oleh cendawan *Sclerotium rolfsii*.

DAFTAR PUSTAKA

- Ali M, Mujib A, Tonk D, Zafar N. 2017. Plant regeneration through somatic embryogenesis and genome size analysis of *Coriandrum sativum* L. *Protoplasma*. 254(1):343-52.
- Antaraneews.com. 2021. Menristek: Indonesia bertekad salip Vietnam dalam produksi kopi. [https://www .antaranews. com/berita/1709294/menristek-indonesia-bertekad-salip-vietnam-dalam-produksi-kopi](https://www.antaraneews.com/berita/1709294/menristek-indonesia-bertekad-salip-vietnam-dalam-produksi-kopi) Diakses 31 Mei 2021.
- Ardiyani F, Pancaningtya S. 2017. Morphological variation of somatic embryos of *Coffea arabica* L. during some sub-culture periods. *Pelita Perkebunan (a Coffee and Cocoa Research Journal)*. 33(2):97-708.
- Bandupriya HD, Iroshini WW, Perera SA, Vidhanaarachchi VR, Fernando SC, Santha ES, Gunathilake TR. 2017. Genetic fidelity testing using SSR marker assay confirms trueness to type of micropropagated coconut (*Cocos nucifera* L.) plantlets derived from unfertilized ovaries. *The Open Plant Science Journal*. 10: 46-54.

- Belide S, Vanhercke T, Petrie JR, Singh SP. 2017. Robust genetic transformation of sorghum (*Sorghum bicolor* L.) using differentiating embryogenic callus induced from immature embryos. *Plant methods*.13(1):1-2.
- Bhatia S and Bera T. 2015. Somatic Embryogenesis and Organogenesis. In Bhatia et al. (eds.) *Modern applications of plant biotechnology in pharmaceutical sciences*. Academic Press.
- Breitler JC, Dechamp E, Campa C, Rodrigues LA, Guyot R, Marraccini P, Etienne H. 2018. CRISPR/Cas9-mediated efficient targeted mutagenesis has the potential to accelerate the domestication of *Coffea canephora*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*. 134(3):383-94.
- Chavez-Cortazar A, Mata-Rosas M, Oyama K, Samain MS, Quesada M. 2020. Induction of somatic embryogenesis and evaluation of genetic stability in regenerated plants of *Magnolia dealbata*. *Biologia plantarum*. 64:224-33.
- Chen K, Wang Y, Zhang R, Zhang H, Gao C. 2019. CRISPR/Cas genome editing and precision plant breeding in agriculture. *Annual review of plant biology* 29(70):667-97.
- Chib S, Thangaraj A, Kaul S, Dhar MK, Kaul T. 2020. Development of a system for efficient callus production, somatic embryogenesis and gene editing using CRISPR/Cas9 in Saffron (*Crocus sativus* L.). *Plant methods*.16 (47):1-10.
- Dodeman VL, Ducreux G, Kreis M. 1997. Zygotic embryogenesis versus somatic embryogenesis. *Journal of Experimental Botany*. 48(8):1493-1509.

- Direktorat Jendral Perkebunan. 2020. Produksi Kopi Menurut Provinsi di Indonesia, 2017-2021. file:///C:/Users/User/Downloads/206-Produksi-Kopi%20(1).pdf Diakses 31 Mei 2021.
- Ducos JP, Labbe G, Lambot C, Pétiard V. 2007. Pilot scale process for the production of pre-germinated somatic embryos of selected robusta (*Coffea canephora*) clones. *In vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*. 43(6):652-659.
- Dutt M, Mou Z, Zhang X, Tanwir SE, Grosser JW. 2020. Efficient CRISPR/Cas9 genome editing with Citrus embryogenic cell cultures. *BMC biotechnology* 20(1):1-7.
- Edy A. 1998. Induksi embrio somatik dari eksplan poros embrio pada beberapa kultivar kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) secara *in vitro*. Thesis Institut Pertanian Bogor.
- Evizal R, Sugiatno S, Prasmatiwi FE. 2015. Ragam kultivar kopi di Lampung. *Agrotrop* 5(1):80-8.
- FAO 2022. Biodiversity to nurture people. <https://www.fao.org/3/v1430e/v1430e04.htm> diakses 12 Mei 2022
- Gahan PB, George EF. 2008. Adventitious regeneration. In George et al. (Eds.) *Plant Propagation by Tissue Culture 3rd Edition*. Volume 1. The Background. Springer.
- Gamborg OL, Miller RA, Ojima K. 1968. Nutrient requirement of suspension cultures of soybean root cells. *Exp Cell Res* 50:151-158.

- Gladfelter HJ, Johnston J, Wilde HD, Merkle SA. 2021. Somatic embryogenesis and cryopreservation of *Stewartia* species. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*. 144(1):211-221.
- Guillou C, Fillodeau A, Brulard E, Breton D, Maraschin SD, Verdier D, Simon M, Ducos JP. 2018. Indirect somatic embryogenesis of *Theobroma cacao* L. in liquid medium and improvement of embryo-to-plantlet conversion rate. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*. 54(4):377-391.
- Hapsoro 2019. Kultur *in vitro* tanaman tebu dan manfaatnya untuk mutagenesis dengan sinar gamma. CV Anugrah Utama Raharja. Bandar Lampung. 106 hal.
- Hapsoro D, Aswidinnoor H, Suseno R, Jumanto, Sudarsono. 2005. Transformasi tanaman kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) dengan gen cp PStV dengan bantuan *Agrobacterium*. *Jurnal Agrotropika* 10: 85-93.
- Hapsoro D, Aswidinnoor H, Suseno R, Jumanto, Sudarsono. 2007. Transgene identity and number of integration sites and their correlation with resistance to PStV in transgenic peanuts carrying Peanut Stripe Virus (PStV) coat protein gene. *J. HPT.Tropika*. 7: 39-47.
- Hapsoro D, Aswidinnoor H, Suseno R, Jumanto, Sudarsono. 2007. Resistance to Peanut Stripe Virus (PStV) in Transgenic Peanuts (*Arachis hypogaea* L.) Carrying PStV cp Gene Was Stable up to Seven Generations of Selfing. *Biota* 12 (2): 83-91.
- Hapsoro D, Aswidinnoor H, Suseno R, Jumanto, Sudarsono. 2008. Inheritance of resistance to PStV in transgenic peanuts containing cp PStV gene. *J. HPT.Tropika*. 8(1): 31-38.

- Hapsoro D, Aswidinnoor H, Suseno R, Jumanto, Sudarsono. 2010. Pyramiding important disease-resistant characters by hybridization of transgenic and non-transgenic peanuts (*Arachis hypogaea* L.). *J. HPT.Tropika*. 10(2):91-99.
- Hapsoro D, Hamiranti R, Yusnita Y. 2020. *In vitro* somatic embryogenesis of superior clones of robusta coffee from Lampung, Indonesia: Effect of genotypes and callus induction media. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*. 21(8):3811-3817.
- Hapsoro D, Inayah T, Yusnita Y. 2018. Plant Regeneration of sugarcane (*Saccharum officinarum* L) calli *in vitro* and its response to gamma irradiation. *J. ISSAAS*. 24(1):58-66.
- Hapsoro D, Yusnita Y. 2018. *Kultur Jaringan: Teori dan Praktik*. Penerbit Andi. Yogyakarta. 167 hal.
- Hapsoro D. 2019. *Kultur In vitro Tanaman Tebu dan Manfaatnya untuk Mutagenesis dengan Sinar Gamma*. Penerbit AURA. Bandar Lampung. 106 hal.
- Haque SM, Ghosh B. 2016. High-frequency somatic embryogenesis and artificial seeds for mass production of true-to-type plants in *Ledebouria revoluta*: an important cardioprotective plant. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*. 127(1):71-83.
- Hesami M, Naderi R, Tohidfar M. 2020. Introducing a hybrid artificial intelligence method for high-throughput modeling and optimizing plant tissue culture processes: the establishment of a new embryogenesis medium for chrysanthemum, as a case study. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 104(23):10249-63.

Hosoi Y, Kuramoto N, Maruyama TE. 2015. Screening RAPD primers to assess clonal fidelity in somatic embryos of Sawara cypress (*Chamaecyparis pisifera* Sieb. et Zucc.) and field performance of somatic embryo-derived trees. *Plant Biotechnology*. 32: 149–155.

<https://www.britishcoffeeassociation.org/coffee-in-the-uk/coffee-facts> Diakses 1 Juni 2021.

<https://www.atlasbig.com/> Diakses 21 Maret 2022.

Ibrahim MS, Hartati RS. 2017. Peningkatan induksi kalus embriogenik dan konversi embrio somatik kopi robusta klon BP 308. *Jurnal Tanaman Industri dan Penyegar*. 4(3):121-132.

Ibrahim MS, Randriani E, Sari L, Nuraini A. 2019. Radiosensitivitas kalus embriogenik kopi robusta BP 436 terhadap iradiasi sinar gamma. *Jurnal Tanaman Industri dan Penyegar* 6(1):41-50.

Ibrahim MSD dan Randriani E. 2020. Pengaruh iradiasi sinar gamma terhadap pertumbuhan stek tunas apikal dan aksilar kopi arabika. *Jurnal Tanaman Industri dan Penyegar*. 7(3): 137-148.

ICO. 2021. https://www.ico.org/trade_statistics.asp?section=Statistics Diakses 1 Juni 2021.

Jan SA, Shah SH, Ali S, Ali GM. 2015. The effect of plant growth regulators on callus induction and somatic embryogenesis of hybrid tomato. *Pak J Bot*. 47:1671-1677.

Kamle M, Kumar P, Bajpai A, Kalim S, Chandra R. 2014. Assessment of genetic fidelity of somatic embryogenesis regenerated guava (*Psidium guajava* L.) plants using DNA-based markers. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*.42(1):1-9.

- Kasi PD, Semiarti E. 2017. Pengaruh thidiazuron dan naphthaleneacetic acid untuk induksi embriogenesis somatik dari daun anggrek Phalaenopsis “Sogo Vivien”. *Dinamika*. 7(1):31-40.
- Kaur A, Malhotra PK, Manchanda P, Gosal SS. 2018. Micropropagation and Somatic Embryogenesis in Sugarcane. In *Biotechnologies of Crop Improvement, Volume 1 2018* (pp. 57-91). Springer, Cham.
- Kaur N, Alok A, Kumar P, Kaur N, Awasthi P, Chaturvedi S, Pandey P, Pandey A, Pandey AK, Tiwari S. 2020. CRISPR/Cas9 directed editing of lycopene epsilon-cyclase modulates metabolic flux for β -carotene biosynthesis in banana fruit. *Metabolic engineering*. 59:76-86.
- Kementerian Pertanian. 2019. Laporan Tahunan Direktorat Aneka Kacang dan Umbi. Kementerian Pertanian Direktorat Jendral Tanaman Pangan Direktorat Aneka Kacang dan Umbi.
- Konar S, Karmakar J, Ray A, Adhikari S, Bandyopadhyay TK. 2018. Regeneration of plantlets through somatic embryogenesis from root derived calli of *Hibiscus sabdariffa* L.(Roselle) and assessment of genetic stability by flow cytometry and ISSR analysis. *PloS one*. 13(8):1-17.
- Kusumastuti TR, Esyantia RR, Dwivany FM. 2017. *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation of embryogenic callus and somatic embryos of the banana cv “Ambon Lumut”(Musa *acuminata*). *KnE Life Sciences*. 26:599-616.
- Laishram SD, Goyal S, Kulkarni VM, Kumar S, Bhat V. 2020. Assessment of biolistic and *Agrobacterium*-mediated genetic

transformation methods in *Cenchrus ciliaris*. The Nucleus. 63(3):303-12.

Lander ES. 2016. The Heroes of CRISPR. Cell 164:18-28

Lee JW, Jo IH, Kim JU, Hong CE, Bang KH, Park YD. 2019. Determination of mutagenic sensitivity to gamma rays in ginseng (*Panax ginseng*) dehiscent seeds, roots, and somatic embryos. Horticulture, Environment, and Biotechnology. 60(5):721-31.

Ma R, Yu Z, Cai Q, Li H, Dong Y, Oksman-Caldentey KM, Rischer H. 2020. Agrobacterium-Mediated genetic transformation of the medicinal plant *Veratrum dahuricum*. Plants. 9(2):1-12.

Maine EM. 2000. A conserved mechanism for post-transcriptional gene silencing?. Genome biology. 1(3):1-4.

Mehta R, Sharma V, Sood A, Sharma M, Sharma RK. 2011. Induction of somatic embryogenesis and analysis of genetic fidelity of *in vitro*-derived plantlets of *Bambusa nutans* Wall., using AFLP markers. European Journal of Forest Research. 130(5):729-36.

Mishra T, Goyal AK, Sen A. 2015. Somatic embryogenesis and genetic fidelity study of the micropropagated medicinal species, *Canna indica*. Horticulturae.1(1):3-13.

Mordhorst AP, Toonen MA, de Vries SC, Meinke D. 1997. Plant embryogenesis. Crit. Rev. Plant Sci.16: 535-576.

Muniswamy B, Kosaraju B, Mishra MK, Yenugula R. 2017. Field Performance and Genetic Fidelity of Micropropagated Plants of *Coffea canephora* (Pierre ex A. Froehner). Open Life Sci. 12: 1-11.

- Murashige T. and Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.*15: 473-497.
- Nakajima I, Endo M, Haji T, Moriguchi T, Yamamoto T. 2020. Embryogenic callus induction and *Agrobacterium*-mediated genetic transformation of 'Shine Muscat'grape. *Plant Biotechnology.* 37(2):185-94.
- Nanasato Y, Mikami M, Futamura N, Endo M, Nishiguchi M, Ohmiya Y, Konagaya KI, Taniguchi T. 2021. CRISPR/Cas9-mediated Targeted Mutagenesis in Japanese Cedar (*Cryptomeria japonica* D. Don). DOI: 10.21203/rs.3.rs-275612/v1
- Nandhakumar N, Kumar K, Sudhakar D, Soorianathasundaram K. 2018. Plant regeneration, developmental pattern and genetic fidelity of somatic embryogenesis derived *Musa* spp. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology.* 16(2):587-98.
- Prisma 2022. <https://aip-prisma.or.id/aip-rural/id/commoditiesdetail/27> Diakses 12 Mei 2022.
- Purnamaningsih R, Mariska I, Lestari EG, Hutami S, Yunita R. 2016. Pengaruh iradiasi gamma dan ethyl methan sulfonate terhadap pembentukan embriosomatik kedelai (*Glycine max* L.). *Jurnal Ilmiah Aplikasi Isotop dan Radiasi.* 10(1):71-80.
- Purwati RD, Sulistyowati L. 2020. Transfer gen $\beta\beta$ -1, 3-glucanase dari jamur *Trichoderma asperillum* pada kalus abaka untuk ketahanan terhadap penyakit layu *Fusarium*. *Jurnal Penelitian Tanaman Industri.* 18(1):24-30.

- Republika.co.id. 2019. Gubernur Lampung Berkomitmen Tingkatkan Produksi Kopi. <https://nasional.republika.co.id/berita/puk9wn384/gubernur-lampung-berkomitmen-tingkatkan-produksi-kopi> Diakses 31 Mei 2021.
- rri.co.id. 2021. Produksi Kopi Lambar Masih Rendah. https://rri.co.id/bandar-lampung/daerah/994292/produksi-kopi-lambar-masih-rendah?utm_source=terbaru_widget&utm_medium=internal_link&utm_campaign=General%20Campaign# Diakses 31 Mei 2021.
- Sahijram L, Bahadur B. 2015. Somatic Embryogenesis. In Bir Bahadur et al. (eds.), *Plant Biology and Biotechnology: Volume II: Plant Genomics and Biotechnology*. Springer India.
- Shahbandeh 2022. Leading producers of peanuts worldwide. <https://www.statista.com/statistics/1030846/major-producers-of-peanut-worldwide/> diakses 12 Mei 2022.
- Sharma A, Kaur R, Raina R. 2014. Study of Genetic Fidelity of Somatic Embryos-Derived Plants of *Gentiana kurroo* Royle from Western Himalayas-Plant of Great Medicinal Value. *Biotechnology Journal International*. 13:589-611.
- Sharp WR, Sondahl MR, Caldas L S, Maraffa SB. 1980. The physiology of *in vitro* asexual embryogenesis. *Horticult. Rev.* 2: 268-310. doi: 10.1002/9781118060759.ch6
- Solís-Ramos LY, Andrade-Torres A, Salín CM, de la Serna EC, Carbonell LA. 2012. Somatic embryogenesis in recalcitrant plants. INTECH Open Access Publisher.

- Sulichantini EDS. 1998. Induksi embrio dari eksplan poros embrio dan embryonic leaflet pada beberapa kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) komersial di Indonesia. [Tesis]: Institut Pertanian Bogor.
- Sumarno. 1993. Status kacang tanah di Indonesia. Dalam: Kacang Tanah. Monograf Balitan Malang 12:1-8.
- Sun ZL, Li X, Zhou W, Gao YR, Li XW, Sun JC, Fang KF, Zhang Q, Xing Y, Qin L, Cao QQ. 2020. Agrobacterium-mediated genetic transformation of Chinese chestnut (*Castanea mollissima* Blume). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*. 140(1):95-103.
- Swati P, Jasrai YT, Roshni A. 2011. Induction of somatic embryogenesis and genetic fidelity of endangered medicinal herb *Curculigo orchioides* Gaertn. *Research in Plant Biology*. 1(3):48-52.
- Valencia-Botín AJ., Ramírez-Serrano J, Virgen-Calleros G, Pimienta-Barrios E, Rodríguez-Guzmán E, Angeles-Espino A. 2020. Indirect somatic embryogenesis on mutants of *Agave tequilana* Weber cultivar Blue induced CO⁶⁰ gamma ray. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. 23: 1-9.
- von Arnold S. 2008. Somatic embryogenesis. In George et al. (Eds.) *Plant Propagation by Tissue Culture 3rd Edition*. Volume 1. The Background. Springer.
- USDA. 2021. <https://www.indexmundi.com/agriculture/?commodity=green-coffee&graph=robusta-production> Diakses 1 Juni 2021.

- Walton J. 2020. The 5 Countries That Produce the Most Coffee. The Investopedia Express Podcast. <https://www.investopedia.com/articles/investing/091415/5-countries-produce-most-coffee.asp>. Accessed 1 February 2021.
- Yusnita, Widodo, Megia R, Aswidinnoor H, Sudarsono. 2006. Identifikasi dini galur kacang tanah yang resisten terhadap infeksi *Sclerotium rolfsii* hasil seleksi *in vitro* dengan filtrat kultur *S. Rolfsii*. J. HPT Tropika. 6 (1): 41 – 49
- Yusnita, Aswidinnoor H, Megia R, Soeseno R, Sudarsono. 2010. Varian somaklonal kacang tanah resisten *Sclerotium rolfsii* hasil seleksi *in vitro* menggunakan filtrat kultur cendawan. J. HPT Tropika 10 (1): 35-46.

DAFTAR ISTILAH

<i>Agrobacterium-mediated transformation</i>	Transformasi tanaman dengan bantuan <i>Agrobacterium tumefaciens</i> .
Aseptik	Tidak terdapat mikroorganisme, seperti bakteri, cendawan, dll.
Biolistik	Metode transformasi genetik dengan menggunakan <i>gene gun</i> .
Coat protein	Protein selubung pada virus.
CRISPR/Cas9	<i>Clustered Regularly Interspaced Palindromic Repeats/CRISPR associated protein 9</i>
Cross-pollination	Penyerbukan silang
Delesi	Salah satu peristiwa mutasi kromosom yang dalam peristiwa itu terjadi pelepasan suatu segmen DNA pada kromosom.
Diferensiasi	Suatu proses berubahnya struktur dan fungsi sel atau jaringan.

Eksplan	Potongan kecil bagian tanaman yang dikulturkan <i>in vitro</i> . Misalnya, pada perbanyakan tanaman kopi <i>in vitro</i> , eksplan yang digunakan adalah potongan daun.
Embriogenesis somatik	Proses pembentukan embrio tanpa melalui pertemuan gamet jantan dan betina. Proses ini banyak didemonstrasikan dalam kultur <i>in vitro</i> tanaman.
Embriogenesis zigotik	Proses pembentukan embrio dari zigot (yang merupakan hasil pertemuan antara gamet jantan dan betina).
Embriogenik	Suatu sifat dari sel yang sudah dalam kondisi siap secara fisiologi untuk berdiferensiasi menjadi embrio.
Gamet	Sel kelamin. Terdiri dari n kromosom.
Generatif	Salah satu cara perbanyakan tanaman, yaitu melalui pertemuan antara gamet jantan dan betina. Misalnya perbanyakan tanaman dengan biji sering disebut sebagai perbanyakan tanaman secara generatif.
Genom	Seluruh DNA yang ada di dalam sel organisme. Jika sel itu adalah sel tanaman, maka genomnya adalah DNA yang berada di inti sel, mitokondria, dan kloroplas dari sebuah sel somatiknya.

Genome editing	Suatu teknologi bagaimana genom diedit untuk memodifikasi sifat organisme. Teknologi terbaru dalam <i>genome editing</i> adalah teknologi CRISPR/Cas9.
Haploid	n kromosom. Tanaman haploid adalah tanaman yang mengandung n kromosom dalam setiap selnya. Tanaman diploid adalah tanaman yang mengandung $2n$ kromosom dalam setiap selnya.
Heterozigot	Untuk lokus tertentu, suatu tanaman mempunyai genotipe Mm , maka dikatakan pada lokus tersebut adalah heterozigot. Homozigot, jika MM atau mm .
Homozigot	Lihat heterozigot
In vitro	Secara harfiah artinya 'dalam tabung'. Kultur <i>in vitro</i> tanaman, artinya tanaman ditumbuhkan dalam botol-botol kultur atau tabung-tabung kultur steril.
Inseri	Peristiwa tersisipinya untai DNA oleh suatu segmen DNA.
Kalus	Kumpulan sel yang membelah-belah diri secara cepat dan tidak terorganisasi.

Klonal	Misalnya pembiakan klonal. Artinya pembiakan vegetatif. Populasi tanaman hasil pembiakan sama persis secara genetik dan sama persis secara genetik dengan induknya.
Kompeten	Sel yang kompeten adalah sel yang siap untuk merespons suatu sinyal. Jika sinyal itu adalah ZPT benziladenin, maka sel itu akan merespons benziladenin jika terpapar benziladenin. Dalam kasus di atas, sel yang tidak kompeten tidak akan merespons jika terpapar benziladenin. Sel 'diam' saja.
LD₅₀	Banyak digunakan dalam toksikologi. Konsentrasi zat racun yang menyebabkan 50% dari populasi organisme (atau sel) mati. Digunakan juga dalam studi mutasi dengan radiasi sinar gamma, yaitu dosis sinar gamma (berapa Gy) yang menyebabkan 50% dari populasi(sel) mati.
Marka molekuler	Kata lain dari penanda molekuler (<i>molecular marker</i>). Contohnya adalah <i>restriction fragment length polymorphism (RFLP)</i> ; <i>randomly amplified polymorphic DNA (RAPD)</i> , dan <i>amplified fragment length polymorphism (AFLP)</i> .
Mutasi	Perubahan susunan nukleotida pada DNA akibat terpapar oleh mutagen.

Proliferasi	Kalus yang mengalami proliferasi adalah kalus yang berkembang biak. Sel-selnya memperbanyak diri karena terjadinya pembelahan.
PStV	<i>Peanut Stripe Virus.</i>
PTGS	<i>Post Transcriptional Gene Silencing</i>
Rekayasa genetika	<i>Genetic engineering.</i> Suatu teknologi untuk memodifikasi sifat makhluk hidup dengan cara memodifikasi gennya secara langsung.
Self-incompatible	Suatu tanaman dikatakan <i>self-incompatible</i> jika penyerbukan sendiri tidak menyebabkan terbentuknya embrio.
Self-pollination	Penyerbukan sendiri.
Sinyal	Dalam konsep <i>signal transduction</i> , sinyal dapat berupa zat pengatur tumbuh, bagian dari patogen, cahaya, dan lain-lain.
Subkultur	Dalam kultur jaringan, subkultur artinya propagul atau kalus dipindahkan ke media kultur yang baru.
T-DNA	<i>Transfer DNA.</i> Terdapat dalam Ti-plasmid dari <i>Agrobacterium tumefaciens</i> . Pada waktu bakteri ini menginfeksi tanaman, T-DNA terintegrasi dalam genom tanaman.
Ti-Plasmid	<i>Tumor-inducing plasmid</i> dari <i>Agrobacterium tumefaciens</i> .

Transformasi	Dalam rekayasa genetika tanaman, transformasi adalah proses mengintegrasikan DNA ke genom tanaman. Misalnya, transformasi bisa dengan bantuan <i>Agrobacterium tumefaciens</i> , dengan <i>gene gun</i> , dan <i>electroporation</i> .
Transgen	Gen yang terintegrasi ke dalam genom dalam rekayasa genetika
Transgenik	Organisme hasil rekayasa genetika
True-to-type	Secara genetik sama dengan induknya.
Zigot	Suatu struktur yang merupakan hasil perpaduan antara gamet jantan dan betina.
ZPT	Suatu zat organik bukan hara yang dalam konsentrasi rendah dapat mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan tanaman.

INDEKS

A

Agrobacterium tumefaciens,
19, 20, 49, 55, 59, 60
air-flow cabinet, 37
Arachis hypogaea L., 35, 45, 46,
47, 53
Auksin, 11

B

Biolistik, 55

C

Cas9, 25, 26, 27, 44, 45, 49, 51,
55, 57
Coat protein, 55
Coffea arabica L., 29, 43
Coffea canephora Pierre ex A.
Froehner, 29, 30, 33
CRISPR, 24, 25, 26, 27, 41, 44, 45,
49, 50, 51, 55, 57
CRISPR/Cas9, 24, 25, 26, 27, 44,
45, 49, 51, 55, 57
crRNA, 25, 26

E

Eksplan, 37, 56
Embriogenik, 37, 56

F

Fase Ekspresi, 6
Fase Induksi, 6
Fenotipe, 21

G

Gamet, 56
Generatif, 56
Genetic engineering, 59
Genom, 24, 56
Genome editing, 57

H

Heterozigot, 57
Homozigot, 57

K

Kalus embriogenik, 34
Kalus Primer, 37
Kelapa, 63, 65

Kompeten, 58
Kopi, 28, 29, 30, 31, 45, 52

L

LD₅₀, 17, 58

M

Marka molekuler, 58
Mendel, 21
Mutasi, 16, 58

P

PAM, 25
Pemuliaan, 15, 16, 36, 65
Pengeditan genom, 25
Pisang, 65
Plasmid, 20, 59
Proliferasi, 59
Protein selubung, 55
PStV, 21, 22, 46, 59
PTGS, 21, 59

R

Radiosensitivitas, 48

Rekayasa genetika, 19, 59
RNase, 25
Robusta, 29, 30, 31, 32, 33, 41

S

Sclerotium rolfsii, 36, 42, 54
sgRNA, 26
Sinyal, 59
Streptococcus thermophilus,
25, 26, 27

T

T-DNA, 20, 59
Tebu, 47, 64
Ti-plasmid, 20, 59
tracrRNA., 25, 26
Transgen, 60
Transgenik, 60
True-to-type, 60

Z

ZPT, 8, 9, 11, 20, 39, 58, 60, 64

TENTANG PENULIS



Prof. Dr. Ir. Dwi Hapsoro, M.Sc. adalah guru besar tetap bidang bioteknologi pertanian pada Program Studi Doktor Ilmu Pertanian, Magister Agronomi, Agroteknologi, dan Agronomi, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung (UNILA). Penulis lahir di Pematang, 2 April 1961, lulus sebagai sarjana pertanian dari Departemen Agronomi Institut Pertanian Bogor (*IPB University*) pada tahun 1985, lulus sebagai magister bidang fisiologi tanaman dari *University of Kentucky*, Lexington, USA, pada tahun 1991, dan lulus sebagai doktor bidang bioteknologi tanaman dari *IPB University* pada tahun 2005, dengan sebagian penelitian disertasinya dilaksanakan di *The University of Queensland*, Australia. Seluruh tugas akhir pada masa studinya adalah pada bidang kultur jaringan tanaman, atau penggunaan kultur jaringan tanaman untuk mempelajari aspek perbanyakan, fisiologi dan bioteknologi tanaman. Penelitian yang telah dan sedang dilakukan berfokus pada kultur jaringan untuk perbanyakan, yang meliputi tanaman-tanaman vanili, kacang tanah, kedele, anggrek, pisang, duku, melinjo, kelapa sawit, jarak pagar, nanas, semangka, krisan,

anthurium, tebu, dan kopi. Sejumlah penelitian adalah mengenai kultur jaringan untuk rekayasa genetika dan pemuliaan mutasi. Buku ini adalah buku keempat penulis di bidang kultur jaringan. Buku yang pertama berjudul Kultur Jaringan Untuk Perbanyak Klonal Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) (2016), Kultur Jaringan: Teori dan Praktik (2018); dan Kultur *In Vitro* Tanaman Tebu dan Manfaatnya untuk Mutagenesis dengan Sinar Gamma (2019).



Prof. Dr. Ir. Yusnita, M.Sc. lahir di Jombang, 3 Agustus 1961 merupakan guru besar tetap pada Program Studi Doktor Ilmu Pertanian, Magister Agronomi, Agroteknologi, dan Agronomi, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung (UNILA). Pendidikan sarjana diperoleh dari Departemen Agronomi Fakultas Pertanian Institut Pertanian

Bogor (*IPB University*), lulus tahun 1984. Pendidikan magister bidang hortikultura diperoleh dari *University of Kentucky*, Lexington, Amerika Serikat, lulus tahun 1990. Pendidikan doktor bidang bioteknologi tanaman diperoleh dari *IPB University*, lulus tahun 2005. Pengalaman penelitian meliputi kultur jaringan untuk perbanyak beragam tanaman, seperti vanili, anggrek, kacang tanah, stroberi, krisan, tebu, pisang, nanas, *anthurium*, melinjo, kelapa sawit, dan kopi. Penulis juga meneliti mengenai zat pengatur tumbuh (ZPT) dan pemanfaatannya untuk perbanyak vegetatif dan induksi pembungaan. Tanaman yang menjadi target diantaranya adalah anggrek (untuk induksi pengakaran, pembentukan keiki, dan induksi pembungaan) dan aglaonema (untuk induksi tunas).

Tanaman target lain untuk induksi pengakaran diantaranya adalah lada, sirih merah, jambu, dan kopi. Penulis juga memformulasikan sejumlah ramuan untuk perbanyak vegetatif dan induksi pembungaan, yaitu: *ShootMore*, *RootMore*, *BudBreaker*, *Vitamin and Rooting Starter*, dan *Flower Inducer*. Buku ini adalah buku ke-8 yang ditulisnya. Sebelumnya penulis telah menulis sejumlah buku yang berjudul *Kultur Jaringan: Cara Memperbanyak Tanaman secara Efisien* (2003), *Perbanyak In Vitro Tanaman Anggrek* (2010), *Pemuliaan Tanaman untuk Menghasilkan Anggrek Hibrida Unggul* (2012), *Kultur Jaringan Tanaman Pisang* (2015), *Kultur Jaringan Tanaman sebagai Teknik Penting Bioteknologi untuk Menunjang Pembangunan Pertanian* (2015), dan *Kultur Jaringan untuk Perbanyak Klonal Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.)* (2016) dan *Kultur Jaringan: Teori dan Praktik* (2018).

