

# BIOTEKNOLOGI PROPAGASI VEGETATIF TANAMAN HUTAN: KEUNTUNGAN DAN RISIKO

*(Benefit and risk biotechnology in forest tree vegetative propagation-a review)*

JAYUSMAN

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Hutan  
Jl. Palagan Tentara Pelajar Km. 15, Purwobinangun, Pakem, Sleman, Yogyakarta 55582  
Telp. (0274) 895954, 896080, Fax. (0274) 896080  
e-mail: jayusmansoemodihardjo@gmail.com

## Abstrak

Implementasi bioteknologi kehutanan mencakup tiga aspek penting yaitu (1) penggunaan penanda genetika molekuler, (2) produksi pohon rekayasa genetika dan (3) propagasi vegetatif. Bioteknologi propagasi telah banyak diterapkan pada berbagai spesies tanaman hutan dengan hasil yang sangat menjanjikan. Peran bioteknologi dalam propagasi vegetatif mikro berpotensi besar menghasilkan materi perbanyakan dalam waktu singkat dengan sifat-sifat tanaman yang diinginkan. Keberhasilan propagasi vegetatif mikro telah memberikan keberhasilan pada banyak tanaman hutan antara lain pada genus *Eucalyptus*, genus *Pinus*, Genus *Acacia*, Jati (*Tectona grandis*), Sengon (*Parasianthes mollucana*), Surian (*Toona sureni* Merr), Cendana (*Santalum album*) dan Bambu (*Dendrocalamus* sp.). Keberhasilan kultur bioreaktor telah dilaporkan pada spesies *Eucalyptus camaldulensis* dan *Tectona grandis*. Propagasi vegetatif terhadap materi genetik unggul hasil seleksi memiliki beberapa keuntungan antara lain (1) dapat diproduksi diluar musim berbuah, (2) mampu memproduksi bibit dalam kualitas dan jumlah sesuai target, (3) mampu menggandakan tanaman terancam punah dan (4) sifat unggul pohon induk dapat diwariskan. Terdapat beberapa risiko dalam propagasi vegetatif mikro antara lain (1) proses penuaan jaringan, (2) variasi somaklonal, dan (3) penyempitan genetik. Pengendalian terhadap potensi risiko tersebut menjadi prioritas yang harus diminimalisir pada kegiatan propagasi tahap lanjut. Metode kombinasi propagasi mikro dan makro melalui stek mini serta pemanfaatan teknologi bioreaktor dapat ditempuh untuk pengembangan materi genetik unggul dalam skala produksi masal. Mengacu konsep gradien bioteknologi maka penerapan bioteknologi propagasi tanaman kehutanan dipercaya memiliki potensi besar pada aspek peningkatan efisiensi tetapi dengan konsekuensi membutuhkan pembiayaan yang juga meningkat. Efisiensi dapat dilakukan dalam propagasi vegetatif mikro karena dapat dilakukan pada area yang lebih sempit, penggunaan tenaga kerja yang lebih terbatas, waktu yang lebih singkat serta penghematan sumber dana.

**Kata kunci:** Bioteknologi, kultur bioreaktor, kultur jaringan, propagasi vegetatif dan tanaman hutan.

## 1. PENDAHULUAN

Bioteknologi dapat diartikan sebagai upaya pemanfaatan prinsip-prinsip ilmiah dan rekayasa terhadap organisme, sistem atau proses biologis untuk menghasilkan dan atau meningkatkan potensi organisme maupun menghasilkan produk dan jasa bagi kepentingan hidup manusia. Area bioteknologi di bidang kehutanan sangat luas diantaranya mencakup transformasi genetik, tanaman transgenik, kultur invitro, RNA interference, *Abiotic stress*, *Biotic stress resistance*, modifikasi lignin, *Marker Assist Selection* (MAS) dan *Quantitative Trait Locus* (QTL), *biosafety* di *forestry*, *molecular biology tools* dan propagasi (Kumar *et al.*, 2015). Ditambahkan oleh Yanchuk (2002) menjelaskan tiga teknik dengan peran besar dalam bioteknologi kehutanan yaitu (1) penanda molekuler, (2) transgenik, dan (3) propagasi. FAO (2004) melaporkan besarnya persentase kegiatan bioteknologi kehutanan pada lingkup modifikasi genetik (19 %); karakterisasi keragaman genetik (26 %); genomik, peta genetik dan seleksi dengan bantuan penanda (MAS), 21 %; dan perbanyakan vegetatif atau mikropropagasi, 34 %.

Peran bioteknologi propagasi vegetatif dalam penyiapan materi perbanyakan tanaman hutan memiliki banyak keuntungan antara lain produksi bibit dapat dilakukan tanpa dibatasi musim berbunga dan berbuah tanaman dalam menghasilkan biji, selektif dilakukan untuk pengembangan pohon-pohon hasil seleksi dengan sifat-sifat unggul, target produksi bibit dapat dikelola sesuai kebutuhan, input teknologi dapat disesuaikan dengan kebutuhan dan karakter pohon, waktu produksi tidak dibatasi musim penghujan atau kemarau. Peran bioteknologi

dalam aspek propagasi vegetative yang paling banyak dilakukan adalah teknik perbanyakan vegetative mikro dengan dua kegiatan utama yaitu kultur jaringan dan kultur bioreaktor.

Risiko propagasi vegetatif tanaman hutan yang berpotensi menghambat keberhasilan produksi bibit untuk berbagai tujuan belum banyak diidentifikasi, dianalisis, dievaluasi dan dikendalikan. Pengendalian risiko dalam sistem manajemen mutu sebagai upaya tindakan pencegahan. Wu (2019) menyebutkan pentingnya identifikasi keuntungan dan risiko pada perbanyakan vegetatif untuk mendukung pengembangan hutan klonal.

Identifikasi risiko terhadap variasi somaklonal (De Klerk, 1990; Jain *et al.* 1998; Henry, 1998; Trembalay *et al.* 1999; Bairu *et al.* 2011), proses penuaan (Van Stevinninck, 1975; Smith *et al.* 1982; Gan, 2003; Mensuali-Sodi *et al.*, 2007; Finch, 2009; Thomas *et al.*, 2009, Thomas. 2013; Fridlyanskaya *et al.* 2015; Mondal & Bandu. 2021 dan variabilitas genetik (Phillips *et al.* 1994; Pinto *et al.* 2004; Yang *et al.* 2010).

Tujuan review adalah untuk (1) mengoptimalkan peran bioteknologi propagasi vegetatif mikro melalui pengendalian risiko untuk mengoptimalkan produksi bibit unggul dari spesies tanaman kehutanan sesuai target yang ditetapkan.

## 2. BAHAN DAN METODE

### 2.1. Prosedur Penelitian

Penelitian dilakukan melalui pendekatan meta analisis yaitu berupa review terhadap beberapa hasil penelitian dari beberapa sumber yang relevan dengan topik bahasan utamanya pada aspek bioteknologi yang diterapkan pada propagasi vegetatif tanaman hutan.

### 2.2. Tahapan meta analisis disusun sebagai berikut:

- a. Kriteria pemilihan (kriteria inklusi dan eksklusi) untuk artikel penelitian yang akan disertakan dalam meta-analisis. Tentukan apakah akan disertakan hasil penelitian yang tidak dipublikasi, bagaimana cara menemukan hasil penelitian yang tidak dipublikasi tersebut.
- b. Metode untuk menemukan atau menelusur penelitian, dan siapa yang akan melakukan penelusuran pustaka.
- c. Kriteria yang jelas untuk penilaian kualitas artikel penelitian yang mencakup aspek desain, pelaksanaan, serta analisis.
- d. Klasifikasi dan kodefikasi unit penelitian untuk digabungkan.
- e. Abstraksi kuantitatif hasil masing-masing penelitian.
- f. Rencana penggunaan model statistika yang sesuai untuk penggabungan hasil apabila diperlukan.
- g. Rencana interpretasi hasil.

### 2.3. Analisis Data

Hasil kajian disusun dalam beberapa sub bab pembahasan yang mencakup status bioteknologi propagasi vegetative mikro, peran bioteknologi propagasi vegetatif mikro, pengendalian risiko kegiatan propagasi vegetative mikro tanaman hutan dan optimalisasi propagasi kultur jaringan dan kultur bioreaktor.

## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 3.1. Status dan keuntungan bioteknologi propagasi vegetatif tanaman hutan

Operasional kegiatan propagasi hampir mencapai 34% dari kegiatan biotechnology di bidang kehutanan (Gilles & Olivier, 2004). Besarnya porsi kegiatan propagasi mengindikasikan bahwa propagasi (makro dan mikro) menjadi salah satu kegiatan penting untuk mendukung pembangunan hutan. Propagasi tanaman hutan yang memiliki keterkaitan dengan penerapan bioteknologi adalah propagasi vegetatif mikro karena menjadi salah satu kegiatan yang tidak hanya dipandang sebagai alternatif penyiapan bibit unggul semata, tetapi

telah menjadi prioritas dalam perbanyak materi genetik unggul sepanjang tahun dan tidak dibatasi periode berbunga dan berbuah tanaman.

Kumar *et al.*, (2015) mendeskripsikan prospek perbanyak vegetative antara lain (1) Sesuai dengan jenis tanaman induk, (2) Menghasilkan bibit bebas dari virus, jamur dan bakteri patogen, (3) Pertumbuhan seragam dan meningkatkan hasil (20-30%), (4) Tanaman lebih pendek rotasi dengan biaya budidaya minimum - penggunaan lahan maksimum dimungkinkan di negara dengan kepemilikan lahan sempit, (5) Varietas baru dapat diperkenalkan dan diperbanyak dalam waktu singkat, (6) Penanaman dimungkinkan karena bibit tersedia sepanjang tahun, (7) Tingkat penggandaan yang tinggi per unit luas, (8) Cara cepat untuk pemuliaan dan produksi tanaman berlebih, (9) Homogenitas dalam pertumbuhan tanaman dan waktu munculnya bunga dan buah, (10) Tidak ada pemanenan yang tersendat, (11) Difusi yang lebih cepat dari varietas unggul, dan (12) Pemindahan bibit yang mudah dan ketersediaannya selama bertahun-tahun.

Ketersediaan bibit unggul menjadi penentu perkembangan tanaman hutan untuk jangka Panjang. KEPMENLHK SK.396/MENLHK/PDASHL/DAS.2/8/2017 jo SK.548/MENLHK/PDASHL/DAS.2/10 /2017, Tentang Penetapan Jenis Tanaman Hutan Benihnya Wajib Diambil Dari Sumber Benih Bersertifikat. Permenhut P.3/Menlhk/Setjen/Kum.1/1/2020) menyebutkan bahwa Benih Tanaman Hutan yang selanjutnya disebut Benih adalah bahan tanaman yang berupa bahan generatif (biji, serbuk sari) atau bahan vegetatif yang digunakan untuk memperbanyak dan/atau mengembangbiakkan tanaman hutan. Berdasarkan Keputusan dan peraturan Menteri Lingkungan Hidup dan Kehutanan menunjukkan pentingnya status dan peran benih untuk kepentingan budidaya dan produktifitasnya. Pendekatan penyiapan benih ditempuh melalui berbagai teknik antara lain teknik generatif dan teknik vegetatif (makro dan mikro). Pemilihan teknik vegetatif makro dan teknik vegetatif mikro sangat ditentukan karakter spesies masing-masing tanaman hutan. Karakter pohon yang memiliki kemudahan berbunga rutin dan produksi biji melimpah akan diarahkan ke propagasi generatif sedangkan karakter pohon yang tidak menghasilkan biji secara rutin diarahkan ke propagasi vegetatif. Teknik propagasi vegetatif dapat ditempuh untuk tujuan pemuliaan untuk mendapatkan materi benih unggul dengan tingkat homogenitas tinggi walaupun tanaman berbiji secara rutin.

### 3.2. Peran Biotechnologi propagasi vegetatif mikro

Regenerasi tanaman hutan secara alami terkadang tidak dapat terjadi dengan baik sehingga membatasi terjadinya regenerasi. Kondisi tersebut menghendaki adanya campur tangan manusia untuk melakukan regenerasi secara buatan yang dapat dilakukan dengan manipulasi lingkungan maupun pembiakan secara vegetatif. pembiakan vegetatif pada tanaman hutan, awalnya digunakan sebagai salah satu teknik untuk mengatasi spesies yang sulit diperoleh benihnya, tidak mampu berbuah setiap tahun atau produksi biji yang sangat terbatas dan spesies tersebut belum dikuasai teknik pembiakan generatifnya. Aplikasi metode pembiakan vegetatif sangat bergantung pada karakteristik suatu spesies, kemudahan penanganannya dan tujuan yang dikehendaki. Hal ini dikarenakan tidak semua spesies dapat sesuai dengan teknik perbanyak yang tersedia, namun beberapa spesies hanya sesuai dengan teknik tertentu atau kombinasi beberapa teknik. Dengan kata lain, beberapa teknik pembiakan vegetatif hanya dapat dilakukan untuk spesies tertentu dan tujuan yang tertentu pula, sehingga terkadang suatu teknik hanya dapat diterapkan untuk suatu spesies pada siklus pemuliaan tanaman hutan tertentu.

Perkembangan teknologi budidaya tanaman menghendaki pembiakan vegetatif dapat dilakukan dengan teknik propagasi mikro atau kultur jaringan, yaitu suatu metode pembiakan tanaman dengan cara mengisolasi bagian tanaman yang aseptik, pada media dan lingkungan aseptik, sehingga bagian tanaman tersebut akan tumbuh dan berkembang membentuk

tumbuhan yang lengkap dan identik dengan induknya. Libby & Ahuja (1993) menyebutkan bahwa teknik propagasi mikro dapat diperuntukkan untuk melestarikan secara *ex situ* spesies-spesies yang masuk dalam kategori benih rekalsitran (*recalcitrant*), terancam punah (*endangered species*) atau rentan (*vulnerable species*) dan sulit diperbanyak secara generatif yang dikenal dengan konservasi *in vitro* (*in vitro conservation*), dan untuk memperbanyak secara masal klon unggul untuk program perhutanan klon.

Keunggulan teknik kultur invitro, antara lain sebagai metode yang efektif dan efisien untuk memperbanyak tanaman yang mempunyai nilai ekonomi tinggi secara masal, dapat disimpan pada lingkungan kultur dalam kurun waktu yang cukup panjang, dapat dijadikan bahan untuk menunjang transformasi genetik guna mendapatkan varietas baru dikarenakan propagasi invitro dapat dilakukan pada area yang lebih sempit, tenaga kerja yang lebih terbatas, waktu yang lebih singkat dan dana yang lebih hemat (Rodriguez & Vendrame, 2003).

### 3.2.1. Kultur Invitro

- a. Teknik propagasi invitro melalui kultur jaringan pada tanaman kehutanan telah banyak dilakukan dengan tingkat keberhasilan yang cukup menjanjikan. Terdapat berbagai teknik kultur invitro antara lain (1) kultur tunas aksiler (a. kultur pucuk dan b. kultur mata tunas), (2) kultur kalus, (3) embriogenesis somatik tidak langsung dan Embriogenesis somatik langsung.
- b. Keberhasilan propagasi kultur jaringan tanaman kehutanan diantaranya dilaporkan pada spesies Cendana/*Santalum album* (Revathy & Arumugam, 2011; Herawan *et al.*, 2014) ; Kemenyan/*Styrax benzoine* (Jayusman, 2017), Pinus/*Pinus radiata* (Reilly & Washer, 1977), *Pinus taeda* (Oliveira *et al.*, 2011); Sengon/*Paraserianthes mollucana* (Sunandar *et al.*, 2017), Jati/*Tectona grandis* (Singh, 2016), Surian merah & Surian Putih/*Toona sinensis* Roem & *Toona sureni* Merr ( Putri & Jayusman, 2012), Gaharu/*Aquilaria malaccensis* (Majid *et al.*, 2010), Malapari/*Pongamia pinnata* (Sujatha & Hazra (2007), Ekaliptus/*Eucalyptus pellita* (Herawan *et al.*, 2014), *Eucalyptus grandis* (Ikemori, 1987), dan *Eucalyptus hybrid /Eucalyptus benthamii x Eucalyptus dunnii* (Brondani *et al.*, 2011).

### 3.2.2. Kultur Bioreaktor

- a. Bio-Reaktor merupakan wadah/bejana (dapat terbuat dari kaca atau baja) tempat terjadinya suatu interaksi bagian makhluk hidup (tanaman) dengan lingkungan (medium cair, udara dll), di mana interaksi tersebut mampu mengkondisikan lingkungan yang terkendali (steril) dan bersifat aerob dengan tujuan mendapatkan propagul dalam jumlah besar.
- b. Tujuan utama dari penggunaan bioreaktor dalam kultur jaringan tanaman adalah (1) meningkatkan biomassa (baik berupa sel, organ, tunas, plantlet), (2) meningkatkan produksi senyawa aktif dan (3) meningkatkan multiplikasi.
- c. Alasan penggunaan bioreaktor untuk propagasi mikro adalah (1) kontrol satu sistem dan handling, (2) otomatisasi (mekanis dan pneumatis), (3) kebutuhan energi dan space kecil, (4) menghindari penanganan manual, (5) mengurangi biaya, (6) mengurangi waktu dan (7) peningkatan produksi.
- d. Pada saat ini pengujian teknik propagasi mikro melalui kultur bioreaktor pada tanaman kehutanan dilaporkan memiliki tingkat keberhasilan yang menjanjikan yaitu pada spesies *Tectona grandis* (Aguilar *et al.*, 2019) dan *Eucalyptus* (Mendonça *et al.*, 2016).

**Tabel 1.** Perbandingan efisiensi propagasi dengan kultur bioreaktor

Parameter	Konvensional Kultur Jaringan	Kultur Bioreaktor
Laju multiplikasi	1:3-5 1:10-15	1:3-5 1:80-120
Langkah (pengerjaan manual)	Inisiasi, 10 subkultur multiplikasi, pengakaran	Inisiasi, 3 subkultur multiplikasi, multiplikasi dengan <i>Temporary Immersion Bioreactors</i> (TIBs)
Siklus	12 bulan termasuk 10 kali subkultur multiplikasi	5 bulan termasuk 3 kali subkultur multiplikasi
Ekspektasi dalam 5 bulan diawali 10 eksplan	3000 unit	20000 unit
Konsumsi Medium kultur invitro untuk produksi 1 juta tanaman	100 %	30%
Total area untuk 1 juta tanaman	100%	40%
Biaya per unit	100%	25 – 30%

**Keterangan:** Propagasi mikro skala besar pada spesies *Saccharum officinarum* L. Dengan TIBs (Arecibia *et al.*, 2011)

### 3.3. Analisis dan pengendalian risiko

Bioteknologi propagasi mikro dengan aktifitas berbasis kultur jaringan memiliki beberapa faktor risiko diantara (1) kontaminasi eksternal dan kontaminasi internal, (2) *browning*/pencoklatan adalah suatu keadaan munculnya warna coklat atau hitam yang menyebabkan tidak terjadi pertumbuhan dan perkembangan atau bahkan menyebabkan kematian eksplan, (3) senescence dicirikan dengan menguningnya daun karena penurunan jumlah klorofil dan kloroplas, (4) eksplan dorman, terlihat tidak mampu merespon zat pengatur tumbuh tetapi dari fisik eksplan tersebut masih terlihat segar, (5) hiperhidrisitas atau yang biasa disebut dengan istilah vitrivikasi merupakan gejala pertumbuhan planlet yang tidak normal atau ketidak normalan morfologi dan fisiologis (6) variabilitas dan stabilitas genetik, dan (7) kerusakan eksplan.

Kerugian utama dari metode propgasi invitro adalah bahwa keterampilan tingkat lanjut diperlukan untuk keberhasilan operasi mereka. Diperlukan fasilitas produksi yang khusus dan mahal; metode yang cukup spesifik mungkin diperlukan untuk memperoleh hasil yang optimal dari setiap spesies dan varietas dan, karena metode saat ini padat karya, biaya perbanyakannya biasanya relatif tinggi .

Konsekuensi lebih lanjut dari penggunaan adaptasi invitro adalah walaupun dapat diproduksi dalam jumlah besar, planlet yang diperoleh awalnya berukuran kecil dan terkadang memiliki karakteristik yang tidak diinginkan. Untuk bertahan hidup secara invitro, eksplan dan kultur harus ditanam pada media yang mengandung sukrosa atau sumber karbon lainnya. Tanaman yang berasal dari kultur ini awalnya tidak dapat menghasilkan kebutuhan bahan organiknya sendiri melalui fotosintesis (yaitu tidak autotrofik) dan harus menjalani masa transisi sebelum mampu tumbuh secara mandiri. Teknik yang lebih baru telah diusulkan yang memungkinkan produksi tanaman foto-autotrofik secara invitro (Kozai dan Smith, 1995). Karena mereka dibesarkan di dalam gelas atau bejana plastik dalam kelembaban relatif tinggi, dan biasanya tidak mandiri secara fotosintesis, planlet muda lebih rentan terhadap kehilangan air di lingkungan luar. Oleh karena itu, mereka mungkin harus dikeraskan dalam atmosfer dengan kelembaban yang menurun secara perlahan dan peningkatan cahaya. Peluang untuk menghasilkan tanaman yang menyimpang secara genetik dapat meningkat.

Potensi risiko dalam propagasi invitro melalui kultur jaringan dan kultur bioreaktor dalam fokus review diarahkan pada tiga aspek potensi risiko yang mencakup variasi somaklonal, penuaan jaringan dan variabilitas genetik.

### 3.3.1. Proses penuaan jaringan (*Aging process*)

Proses penuaan invitro disertai dengan hilangnya potensi proliferasi, yang berakibat pada penurunan replikasi sel. Faktor-faktor yang terlibat dalam pengurangan ini masih belum banyak diketahui. Proses evaluasi penuaan, merupakan hal penting untuk merinci pertumbuhan dan melacak usia seluler dalam hal penggandaan populasi, atau berapa kali populasi sel berlipat ganda setelah periode waktu yang ditentukan sebelumnya. Umumnya, penggandaan populasi dapat dicatat dengan melapisi sejumlah sel tertentu dan kemudian menghitung sel-sel tersebut setelah periode pertumbuhan yang ditentukan.

Tanda morfologis penuaan ada bukti korelasi sel penuaan dalam kultur dengan penuaan sel *invivo*, terutama dalam kaitannya dengan peristiwa yang terjadi baik secara *invitro* maupun *invivo*. Kajian terhadap proses yang tumpang tindih, yang meliputi hilangnya potensi divisi, perubahan kromatin, hilangnya kapasitas untuk bermigrasi, peningkatan ukuran sel, volume, dan kandungan protein dan penurunan respon mitogenik terhadap faktor pertumbuhan.

Penuaan adalah respons terhadap komunikasi antara sumber dan penyerap di mana pensinyalan gula dan regulasi hormonal memainkan peran sentra (Thomas, 2013). Penelitian untuk 'proses penuaan' mengungkapkan terminologi maturiti, kematangan, senioritas dan umur panjang, tetapi asosiasi yang dominan adalah dengan pengertian tentang pembusukan, penurunan, gerontologi, morbiditas dan mortalitas.

### 3.3.2. Variasi Somaklonal

Bairu *et al.* (2011) melakukan identifikasi penyebab dan cara deteksi variasi somaklonal. De Klerk (1990) menyebutkan beberapa kerguan untuk mengenali dan menerima variasi somaklonal bahwa mitosis adalah proses konservatif. Misalnya, efek eksplan dan kondisi kultur perlu dibahas. Kontrol yang sesuai perlu dipertimbangkan. Contoh spesifik di berbagai spesies kejadian genetik yang terbukti penyebab utama atas variasi somaklonal. Hal ini termasuk perubahan jumlah kromosom, penataan ulang struktur kromosom, perubahan nomor salinan gen, mutasi gen tunggal, ekspresi keluarga multigen yang berubah, dan aktivitas elemen transposabel. Ketidaktahuan biologis dan agronomi dari peristiwa semacam itu termasuk aspek menarik untuk dibahas.

Masalah yang berkaitan dengan alasan dan prosedur penggunaan variasi somaklonal perlu dievaluasi dan dikaji secara rinci untuk pemanfaatan lebih luas. Hal ini terkait tidak semua variasi yang somaklonal menjadi target program pemuliaan pohon.

### 3.3.3. Variabilitas dan stabilitas genetik

Stabilitas genetik pada beberapa tanaman, perbedaan genetik antara tanaman yang berasal dari kalus dan kultur suspensi cukup besar dan cukup untuk menarik minat pemulia tanaman sebagai sumber baru dari variabilitas yang dapat dipilih. Namun, tanaman yang diperoleh dari galur kalus dengan kompetensi morfogenik tingkat tinggi, tampaknya jauh lebih seragam secara genetik. Stabilitas genetik tanaman dari kultur kalus yang sangat maju dapat dibantu oleh keberadaan meristem superfisial yang terus-menerus. Seperti disebutkan sebelumnya hal ini mungkin menekan pembentukan tunas dari sel-sel dalam massa kalus (Hussey, 1983).

Stabilitas genetik tanaman yang diregenerasi melalui embriogenesis somatik biasanya secara morfologis dan sitologis normal, tetapi kadang-kadang diperoleh proporsi tanaman yang menyimpang. Tanaman yang abnormal secara genetik lebih mungkin terjadi ketika embriogenesis dimulai dalam kultur kalus atau suspensi setelah periode pertumbuhan yang tidak teratur atau ketika kultur embriogenik dipertahankan selama beberapa bulan.

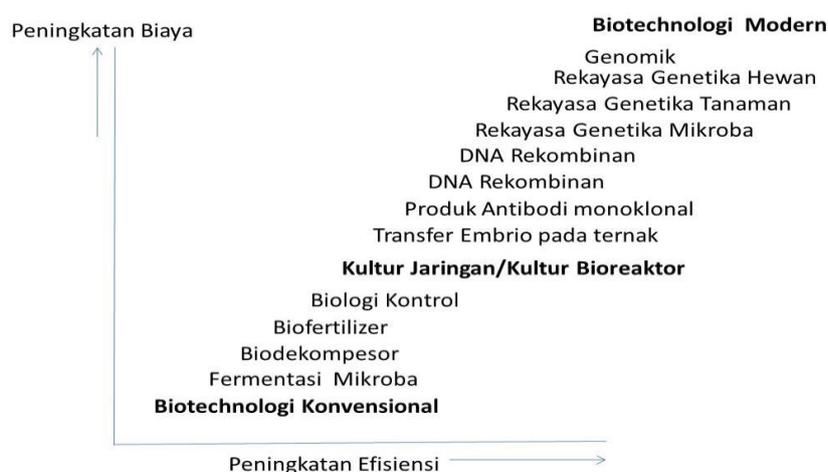
Proporsi tanaman albino yang kekurangan klorofil secara khas diproduksi dalam kultur antera pada sereal dan rerumputan (Sunderland dan Dunwell, 1977) dan selama embriogenesis dari tanaman monokotil lain. Aplikasi saat ini Beberapa spesies tanaman saat ini diperbanyak dalam skala besar melalui embriogenesis *invitro*. Namun metode morfogenesis ini

menawarkan keuntungan yang menunjukkan bahwa metode ini akan semakin banyak digunakan untuk kloning tanaman di masa depan.

### 3.4. Optimalisasi propagasi kultur jaringan dan kultur bioreaktor

Laboratorium menetapkan program optimasi dan pengujian terkait upaya mengatasi potensi risiko dalam kegiatan propagasi invitro. Peningkatan pemahaman terkait eksistensi proses penuaan jaringan dari setiap eksplan dan setiap spesies perlu dilakukan pengujian untuk pengendaliannya. Pembatasan frekwensi tahap multiplikasi dari setiap eksplan dapat ditempuh apabila hasil multiplikasi sudah mengalami tren penurunan. Variasi somaklonal dari perbanyakan invitro tidak selalu menjadi bagian dari pemuliaan pohon untuk mendapatkan karakter morfologi planlet, sehingga diperlukan upaya penanganan untuk mengeliminir serta mengurangi potensi besarnya variasi yang muncul. Variasi somaklonal akan menyebabkan penyimpangan fenotip dari sifat genetik tanaman induknya. Hal ini terjadi karena subkultur yang berlebihan serta organogenesis tidak langsung (perbanyakan dari kalus), konsentrasi zat pengatur tumbuh yang digunakan terlalu tinggi (Mariska *et al.*, 1992).

Stabilitas genetik eksplan dan planlet yang dihasilkan dapat dievaluasi periodik. Hal ini terkait peran penting status variabilitas eksplan dan stabilitas genetik planlet untuk tujuan budidaya secara luas di lapangan. Penyempitan variabilitas genetik dan rendahnya stabilitas genetik bibit hasil kultur invitro dengan tingkat keseragaman yang tinggi berpotensi rentan terhadap serangan hama dan penyakit pada hutan klonal (Wu, 2019). Perbaikan basis genetik eksplan sangat penting dan strategis sifatnya untuk menjamin keunggulan bibit hasil kultur invitro. Variasi respon setiap pohon induk untuk sumber eksplan serta tingkat respon dari setiap eksplan dalam media kultur juga sangat beragam dan sering mempengaruhi pengurangan jumlah target eksplan.



Gambar 1. Konsep Gradien Biotechnologi

Konsep gradien biotechnologi pada Gambar 1 menunjukkan bahwa kegiatan propagasi kultur invitro (kultur jaringan dan kultur bioreaktor) akan meningkatkan efisiensi tetapi dari pada sisi lain akan meningkatkan biaya operasional. Konsep tersebut menjadi dasar penentuan strategi yang dipilih dalam operasional penerapan biotechnologi konvensional hingga biotechnologi modern. Semakin tinggi status biotechnologi modern yang dipilih maka selaras dengan peningkatan pembiayaan investasinya.

## 4. SIMPULAN, SARAN, DAN REKOMENDASI

### 4.1. Simpulan

Potensi dan peran bioteknologi propagasi vegetatif tanaman hutan secara luas dilakukan melalui kultur jaringan dan dapat dioptimalkan melalui kultur bioreaktor. Peningkatan pemahaman terhadap potensi risiko dalam propagasi vegetatif dan upaya pengendaliannya difokuskan pada faktor (1) penuaan jaringan, (2) variasi somaklonal dan (3) penyempitan keragaman genetik serta beberapa potensi risiko lain yang mencakup kontaminasi, *browning*, eksplan dorman, hiperhidrisitas dan pengendalian kerusakan eksplan sebelum dikulturkan.

#### 4.2. Saran

Kegiatan kultur bioreaktor dan evaluasi potensi risiko hiperhidrisitas pada spesies tanaman hutan perlu dilakukan untuk efisiensi sumberdaya dan optimalisasi peningkatan produk bibit unggul.

#### 4.3. Rekomendasi

Optimasi pengendalian risiko perlu dilakukan secara periodik karena sejalan dengan tindakan pencegahan untuk menghindari kerugian jangka panjang serta sebagai upaya tindakan peningkatan atau improvement.

### 5. DAFTAR PUSTAKA

- Arencibia, A. D., Bernal, A., Cortegaza, L., Garcia, R., Nodarse, O., & Santana, I. (2011). Regulating Gene Expression in High-scale Plants Micropropagation. *Journal of Plant Sciences*, 6(6), 213.
- Bairu, M. W., Aremu, A. O., & Van Staden, J. 2011. Somaclonal variation in plants: causes and detection methods. *Plant Growth Regulation*, 63(2), 147-173.
- Brondani G.E., L. F. Dutra , I. Wendling, F. Grossi , F.A. Hansel & M. A. Araujo. 2011. Micropropagation of an Eucalyptus hybrid (*Eucalyptus benthamii* x *Eucalyptus dunnii*).
- Butiuc-Keul, A., Farkas, A., & Cristea, V. 2016. Genetic stability assessment of in vitro plants by molecular markers. *Studia Universitatis Babeş-Bolyai Biologia*, 61(1), 107-114.
- De Klerk, G. J. 1990. How to measure somaclonal variation. *Acta Botanica Neerlandica*, 39(2), 129-144.
- FAO. 2004. The state of food and agriculture (SOFA) 2003-2004. Agricultural biotechnology: meeting the needs of the poor? FAO Agriculture Series No. 35. Rome.
- Finch, C. E. 2009. Update on slow aging and negligible senescence—a mini-review. *Gerontology*, 55(3), 307-313.
- Fridlyanskaya, I., Alekseenko, L., & Nikolsky, N. 2015. Senescence as a general cellular response to stress: a mini-review. *Experimental gerontology*, 72, 124-128.
- Gan, S. 2003. Mitotic and postmitotic senescence in plants. *Science of Aging Knowledge Environment*, 2003 (38), 7.
- Gawlitta, D., Oomens, C. W., Baaijens, F. P., & Bouten, C. V. 2004. Evaluation of a continuous quantification method of apoptosis and necrosis in tissue cultures. *Cytotechnology*, 46(2-3), 139-150.
- Herawan, T., M. Na'iem, S. Indrioko, A. Indrianto. 2014. Somatic embryogenesis of sandalwood (*Santalum album* L.). Indonesian Journal of biotechnology. Dec, 2014. Vol.19, No.2, pp 161-168.
- Herawan, T., A.I. Putri, F. Ardhani, T.B. Widowati. 2014. Pertumbuhan dan perkembangan kalus embriogenik *Eucalyptus pellita* menggunakan teknik embriogenesis somatik. Seminar Nasional Benih Unggul untuk Hutan Tanaman, Restorasi Ekosistem, dan Antisipasi Perubahan Iklim. Yogyakarta 19 – 20 November 2014
- Henry, R. J. 1998. Molecular and biochemical characterization of somaclonal variation. In *Somaclonal variation and induced mutations in crop improvement* (pp. 485-499). Springer, Dordrecht.
- Ikemori Y. K. 1987. Epicormic shoots from the branches of *Eucalyptus grandis* as an explant source for in vitro culture. Plant tissue culture manual. Comm for rev 66 : 351-355
- Jain, S. M., Buiatti, M., Gimelli, F., & Saccardo, F. 1998. Somaclonal variation in improving ornamental plants. In *Somaclonal variation and induced mutations in crop improvement* (pp. 81-104). Springer, Dordrecht.
- Jayusman. 2017. Peran Media Dasar dan Konsentrasi Hormon Pertumbuhan terhadap Induksi dan Multiplikasi Tunas Pucuk Kemenyan. *Jurnal Penelitian Hutan Tanaman*, 3(1), 1-10.
- Kaeppler, S. M., Kaeppler, H. F., & Rhee, Y. 2000. Epigenetic aspects of somaclonal variation in plants. *Plant gene silencing*, 59-68.

- Krishna, H., Alizadeh, M., & Chauhan, N. 2013. Exploitation of somaclonal variations in improvement of fruit crops-A review.
- Kumar, V., Rout, S., Tak, M. K., Deepak, K. R., & Tech, P. 2015. Application of biotechnology in forestry: current status and future perspective. *Nature Environment and Pollution Technology*, 14(3), 645-663.
- Libby, W.j., M.R. Ahuja. 1993b. Clonal forestry in Clonal forestry II: Conservation and application ed. Ahuja & Libby. Springer-Verlag. Berlin Heidelberg New York
- Majid S.A., Z. Ahmad., M.R.A. Salam, N. Irwan, A.A. Hassan, R. Ibrahim. 2010. Propagation of *Aquilaria malaccensis* seedlings through tissue culture techniques. Research and Development Seminar 2010. Malaysian Nuclear Agency Document Delivery Centre. Bangi, Malaysia
- Mondal, M., & Bandhu, B. 2021. Mechanism of Biological Aging-A Review. *International Journal of Physiology*, 9(1), 23-29.
- Mensuali-Sodi, A., Lucchesini, M., Maltinti, S., Serra, G., & Tognoni, F. 2007. Leaf senescence in tissue culture of *Passiflora incarnata* L.: the role of ethylene. In *Advances in Plant Ethylene Research* (pp. 151-152). Springer, Dordrecht.
- Oliveira, L.F., L.L.F. Ribas, M. Quoirin, H.S. Koehler, A.R. Higa. 2011. Micropropagation of *Pinus taeda* L. via axillary buds. Published online 2011 Sep 13
- Peltola, S. M., Melchels, F. P., Grijpma, D. W., & Kellomäki, M. 2008. A review of rapid prototyping techniques for tissue engineering purposes. *Annals of medicine*, 40(4), 268-280.
- Phillips, R. L., Kaeppler, S. M., & Olhoft, P. 1994. Genetic instability of plant tissue cultures: breakdown of normal controls. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 91(12), 5222-5226.
- Pinto, G., Loureiro, J., Lopes, T., & Santos, C. 2004. Analysis of the genetic stability of *Eucalyptus globulus* Labill. somatic embryos by flow cytometry. *Theoretical and Applied Genetics*, 109(3), 580-587.
- Panda, M. K., Mohanty, S., Subudhi, E., Acharya, L., & Nayak, S. 2007. Assessment of genetic stability of micropropagated plants of *Curcuma longa* L. by cytophotometry and RAPD analyses. *Int J Integr Biol*, 1(3), 189-195.
- Putri, A.I. & Jayusman. 2012. Inisiasi Tunas Aksiler Serta Kalus *Toona sinensis* dan *Toona sureni* dengan Sumber Bahan Stek Cabang Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan Vol.6 No. 3, November 2012, 157 – 166
- Revathy, E., Arumugam, S., 2011. Somatic embryogenesis and plantlets regeneration from seedling explants of *Santalum album* L. (Santalaceae). *International Journal of Current Research*. Vol.3, Issue, pp.237-241, June, 2011
- Reilly, K. A. T. H. R. Y. N., & Washer, J. 1977. Vegetative propagation of radiata pine by tissue culture: plantlet formation from embryonic tissue. *NZJ For Sci*, 7(2), 199-206.
- Rodriguez, A.P.M., W.A. Vendrame. 2003. Micropropagation of tropical 118 woody species in Micropropagation of woody trees and fruits (eds. Jain & Ishi). Kluwer Academic Publishers. Netherland
- Smith, B. A., Reider, M. L., & Fletcher, J. S. 1982. Relationship between vital staining and subculture growth during the senescence of plant tissue cultures. *Plant physiology*, 70 (4), 1228-1230.
- Sunandar, A., Dorly, E.D.J. Supena. 2017. Induction of somatic embryogenesis in sengon (*Falcataria moluccana*) with thidiazuron and light treatments. *HAYATI Journal of Biosciences* 24 (2017) 105e108
- Sujatha, K., & Hazra, S. 2007. Micropropagation of mature *Pongamia pinnata* Pierre. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 43(6), 608-613.
- Singh P.K. 2016. An improved method of micropropagation of teak (*Tectona grandis*). *CIB Tech Journal of Biotechnology*. Vol. 5 (1) January-March, pp.1-5
- Thomas, H. 2013. Senescence, ageing and death of the whole plant. *New Phytologist*, 197(3), 696-711.
- Thomas, H., Huang, L., Young, M., & Ougham, H. 2009. Evolution of plant senescence. *BMC Evolutionary Biology*, 9(1), 1-33.
- Tremblay, L., Levasseur, C., & Tremblay, F. M. 1999. Frequency of somaclonal variation in plants of black spruce (*Picea mariana*, Pinaceae) and white spruce (*P. glauca*, Pinaceae) derived from somatic embryogenesis and identification of some factors involved in genetic instability. *American journal of botany*, 86(10), 1373-1381.
- Tyagi, R. K., Agrawal, A., Mahalakshmi, C., Hussain, Z., & Tyagi, H. 2007. Low-cost media for in vitro conservation of turmeric (*Curcuma longa* L.) and genetic stability assessment using RAPD markers. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 43(1), 51-58.

- Werner, S., Maschke, R. W., Eibl, D., & Eibl, R. 2018. Bioreactor technology for sustainable production of plant cell-derived products. *Bioprocessing of plant in vitro systems*, 413-432.
- Wu, H. X. 2019. Benefits and risks of using clones in forestry—a review. *Scandinavian Journal of Forest Research*, 34 (5), 352-359.
- Van Steveninck, R. F. 1975. The "washing" or "aging" phenomenon in plant tissues. *Annual Review of Plant Physiology*, 26 (1), 237-258.
- Yanchuk, A. 2002. The Role And Implications Of Biotechnology In Forestry1, 2. *Forest Genetic Resources No. 30*, 18.
- Yang, W. R., Zhang, Q. X., Pan, H. T., & Sun, M. 2010. In vitro regeneration of *Lilium tsingtauense* Gilg. and analysis of genetic variability in micropropagated plants using RAPD and ISSR techniques. *Propagation of Ornamental Plants*, 10(2), 59-66.