

Pemanfaatan Kultur *In vitro* untuk Konservasi Plasma Nutfah Teh

Utilization of In vitro Culture for Conservation of Tea Germplasm

M. Khais Prayoga*, Heri Syahrian, Vitria P. Rahadi, dan Dadan Rohdiana

Pusat Penelitian Teh dan Kina

* Korespondensi : mkhaisprayoga@yahoo.com

Received: 5 Februari 2020

Accepted: 19 Oktober 2020

Published: 14 Agustus 2022

Jurnal Sains Teh dan Kina
Pusat Penelitian Teh dan Kina
Desa Mekarsari, Kec. Pasirjambu,
Kab. Bandung, Jawa Barat 40972
redaksijptk@gmail.com
(022)

Abstract: Conservation of germplasm tea (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) is generally carried out under *ex-situ* optimal plant growth conditions in the field. This method has a weakness that is a very high risk of germplasm loss due to attacks of plant-disturbing organisms or the stress of the abiotic environment. The method of conservation in the field also requires extensive land. A more effective and efficient conservation alternative for tea plants is *in-vitro* culture. The success of *in vitro* culture is influenced by genotype factors of plant material, explant, composition of nutrients in the media, growth regulators and environmental factors including physical conditions of culture like temperature and light. Until today, the use of *in-vitro* culture for tea plant conservation activities in Indonesia has not been implemented. Studies have led to multiplication activities to produce uniform synthetic tea seeds. In contrast to Indonesia, research has also been carried out on the use of *in-vitro* culture techniques for the conservation of tea relatives in Spain. *In-vitro* germplasm conservation has been successfully carried out on plants such as coffee, strawberries, bananas and large oranges. *In-vitro* conservation basically focuses on slowing the growth rate of plants. In order for such *in-vitro* conservation for tea germplasm to be carried out, it is necessary to conduct researches on: 1) selection of the best tea plant as tissue culture explants; 2) sterilization process to prevent contamination; and 3) medium and environmental conditions that can inhibit growth rate but does not kill the plants.

Keywords: conservation, germplasm, and *in vitro*

Abstrak: Konservasi plasma nutfah teh (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) umumnya dilakukan dalam keadaan tanaman tumbuh optimal secara *ex situ* di lapang. Metode tersebut memiliki kelemahan yaitu risiko terjadinya kehilangan plasma nutfah akibat serangan organisme pengganggu tanaman atau cekaman lingkungan abiotik sangat besar. Selain itu metode konservasi di lapang diperlukan lahan yang cukup luas. Alternatif konservasi yang lebih efektif dan efisien untuk tanaman teh adalah kultur *in vitro*. Keberhasilan kultur *in vitro* dipengaruhi oleh faktor genotipe bahan tanaman, eksplan yang digunakan, komposisi nutrisi pada media, zat pengatur tumbuh yang digunakan, serta lingkungan yang meliputi kondisi fisik kultur seperti temperatur dan cahaya. Sampai saat ini pemanfaatan kultur *in vitro* untuk kegiatan konservasi tanaman teh di Indonesia belum dilakukan. Penelitian-penelitian mengarah pada kegiatan perbanyakan untuk memproduksi bibit teh sintetik yang seragam. Berbeda dengan di Indonesia, di Negara Spanyol telah dilakukan penelitian tentang pemanfaatan teknik kultur *in vitro* untuk konservasi tanaman kerabat teh. Konservasi plasma nutfah secara *in vitro* telah sukses dilakukan pada tanaman-tanaman seperti kopi, strawberry, pisang dan jeruk besar. Pada dasarnya konservasi secara *in vitro* berfokus pada pelambatan laju pertumbuhan tanaman. Agar konservasi secara *in vitro* untuk plasma nutfah teh bisa dilakukan maka perlu dilakukan penelitian terkait: 1) pemilihan bagian tanaman teh terbaik sebagai bahan eksplan kultur jaringan, 2) proses sterilisasi untuk mencegah terjadinya kontaminasi, dan 3) media dan kondisi lingkungan yang dapat menghambat laju pertumbuhan namun tidak mematikan tanaman.

Kata Kunci: konservasi, plasma nutfah, dan *in vitro*

1. Pendahuluan

Teh (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) adalah salah satu komoditas perkebunan yang memiliki peran strategis dalam perekonomian di Indonesia. Industri teh Indonesia pada tahun 1999 diperkirakan menyerap sekitar 300.000 pekerja dan menghidupi sekitar 1,2 juta jiwa. Selain itu, secara nasional industri teh menyumbang produk domestik bruto (PDB) sekitar 1,2 triliun (0,3 % dari total PDB nonmigas) dan menyumbang devisa bersih sekitar 110 juta dollar AS per tahun. Dari aspek lingkungan, budidaya dan pengolahan teh termasuk jenis usaha yang mendukung konservasi tanah dan air (Hasni, 2018).

Sebagai negara dengan kekayaan alam yang melimpah dan beraneka ragam (*mega biodiversity*), Indonesia memiliki plasma nutfah teh yang beragam (Rahadi *et al.*, 2016). Untuk menjamin ketersediaan teh di masa depan, usaha konservasi perlu dilakukan karena plasma nutfah teh dikhawatirkan menjadi punah, baik akibat dinamika alam maupun ulah manusia, seperti deforestasi, terjadinya pengembangan secara berlebihan terhadap suatu kultivar yang dianggap menguntungkan secara ekonomi, dan juga meningkatnya alih fungsi lahan seiring dengan meningkatnya pembangunan infrastruktur. Konservasi plasma nutfah teh umumnya dilakukan dalam keadaan tanaman tumbuh optimal secara *ex situ* di lapang atau field gene bank (Bramel dan Chen, 2018).

Metode konservasi secara *ex situ* di lapang memiliki kelemahan yaitu terjadinya kehilangan plasma nutfah akibat serangan organisme pengganggu tanaman seperti hama dan penyakit, juga akibat cekaman lingkungan abiotik (Withers, 2002). Kendala lain dari metode konservasi secara *ex situ* di lapang untuk plasma nutfah teh adalah perlunya lahan yang cukup luas mengingat morfologi tanaman teh yang tergolong tanaman perdu dengan akar tunggang yang panjang dan batang pohon yang lurus dan banyak (Bramel dan Chen, 2018). Oleh karena itu, perlu alternatif konservasi *ex situ* yang lebih efektif dan efisien melalui kultur *in vitro*.

Pengembangan koleksi plasma nutfah secara *in vitro* merupakan strategi alternatif sebagai cadangan plasma nutfah yang dikonservasi di lapang. Teknologi *in vitro* saat ini sudah menjadi kebutuhan dalam strategi pemeliharaan diversitas tanaman dalam bentuk koleksi aktif (*active collections*) dan koleksi dasar (*base collections*), terutama untuk spesies yang perbanyakannya dilakukan secara vegetatif (Keller *et al.*, 2006). Bagi negara berkembang seperti Indonesia dengan tingkat alih fungsi lahan yang cukup pesat, konservasi *in vitro* sangat diperlukan (Pence, 2002).

2. Metode In Vitro

Kultur *in vitro* merupakan suatu metode untuk menumbuhkan atau mengisolasi bagian tanaman seperti protoplasma, sel, sekelompok sel, jaringan dan organ tanaman pada lingkungan aseptik sehingga dapat tumbuh dan berkembang sempurna. Metode kultur *in vitro* di ilhami oleh konsep totipotensi dimana setiap sel dalam tanaman mengandung informasi genetik atau sarana fisiologis tertentu yang mampu membentuk tanaman lengkap jika ditempatkan pada lingkungan yang sesuai (Wetherel, 1982).

Keberhasilan kultur *in vitro* dipengaruhi oleh faktor genotipe bahan tanaman, eksplan yang digunakan, komposisi nutrisi pada media, zat pengatur tumbuh yang digunakan, serta lingkungan yang meliputi kondisi fisik kultur seperti temperatur dan cahaya (Okere dan Adegey, 2011). Pertumbuhan dan morfogenesis jaringan atau organ secara *in vitro* lebih banyak dipengaruhi oleh faktor genotipe namun demikian faktor lingkungan berkontribusi terhadap kualitas dan kuantitas yang dihasilkan, karena itu media dan lingkungan kultur seringkali bervariasi untuk spesies yang berbeda (Hussain *et al.*, 2012).

Eksplan yang digunakan menentukan laju pertumbuhan dan kualitas tanaman yang diregenerasikan, oleh karena itu dalam pengambilan eksplan harus diperhatikan sumbernya, umur dan perlakuan terhadap eksplan sebelum dikulturkan (Akin *et al.*, 2009). Eksplan yang bebas dari kontaminan merupakan hal yang sangat penting dalam kultur jaringan. Tingkat kontaminasi dari eksplan tergantung dari jenis tanaman, bagian dan morfologi permukaan tanaman yang dipergunakan, lingkungan tumbuh, umur tanaman, kondisi tanaman dan musim waktu mengambil tanaman (Armini *et al.*, 1991). Menurut Hussain *et al.*, (2012) ukuran eksplan sangat menentukan keberhasilan kultur *in vitro*. Ukuran yang semakin besar menyebabkan jaringan sukar untuk disterilkan, sedangkan ukuran yang terlalu kecil dapat menyebabkan rendahnya daya hidup eksplan. Ukuran eksplan yang disarankan adalah antara 0,5 – 1,0 cm, sedangkan bagian tanaman yang sering dijadikan eksplan perbanyakannya secara *in vitro* dapat berasal dari tunas terminal, tunas lateral, biji, daun, akar atau organ reproduksi (Okere dan Adegey, 2011).

Selain genotipe dan eksplan, faktor yang mempengaruhi kultur *in vitro* adalah media tanam. Media kultur yang memenuhi syarat adalah media yang mengandung hara makro dan mikro dengan kadar dan perbandingan tertentu. Media tumbuh juga seringkali mengandung satu atau dua macam vitamin dan zat pengatur tumbuh atau

hormon tanaman untuk merangsang terjadinya pertumbuhan (Garcia, 2010). Tiap tanaman membutuhkan enam unsur hara makro seperti Na, K, Mg, Ca, S dan P, tujuh hara mikro seperti besi (Fe), Mn, Zn, Cu, Bo, Mo, dan klor. Secara umum pembentukan tunas secara *in vitro* baik melalui morfogenesis langsung maupun tidak langsung sangat tergantung pada jenis dan konsentrasi yang tepat dari senyawa organik, anorganik dan zat pengatur tumbuh (Akin *et al.*, 2009).

Pada dasarnya strategi penyimpanan *in vitro* ditujukan agar kapan saja diperlukan, tanaman segera dapat diperbanyak dan didistribusikan (Towill, 2005). Penyimpanan tanaman secara *in vitro* untuk koleksi aktif umumnya dilakukan dalam keadaan tanaman tumbuh normal dengan menggunakan formulasi media untuk memperbanyak. Tanaman yang disimpan di media tersebut biasanya hanya dapat bertahan 2 – 3 bulan akibat kehabisan nutrisi dan diperlukan subkultur kembali ke media baru (Ramkhrisna *et al.*, 2005). Siklus subkultur akan berpengaruh terhadap lama penyimpanan dan biaya pemeliharaan yang diperlukan dalam konservasi plasma nutfah *in vitro*. Oleh karena itu, pada kegiatan konservasi plasma nutfah metode pertumbuhan lambat merupakan strategi untuk meminimalisir kegiatan subkultur dan mengurangi risiko terhadap hilangnya koleksi sebagai akibat dari penurunan vigor, kontaminasi atau terjadi kesalahan pelabelan.

Metode pertumbuhan lambat dilakukan melalui induksi penghambatan laju metabolisme tanaman, sehingga tanaman tumbuh lebih lambat dari pertumbuhan normalnya (Dewi *et al.*, 2014). Laju metabolisme tanaman *in vitro* dapat dihambat dengan dua cara, yaitu memodifikasi komponen media tumbuh dan lingkungan tumbuh. Kombinasi dari kedua cara tersebut dapat pula dilakukan (Garcia *et al.*, 2010).

2.1. Modifikasi Media Tumbuh

Modifikasi komponen media tumbuh salah satunya dengan penggunaan zat penghambat tumbuh. Zat penghambat tumbuh yang dapat digunakan untuk konservasi *in vitro* antara lain: paclobutrazol (PBZ), cycocel, ancymidol, dan asam absisat (ABA). PBZ merupakan senyawa organik sintetis yang menghambat urutan reaksi oksidasi dari ent-kaurene menjadi asam ent-kaurenoid dalam pembentukan asam giberelin (GA) dan sering ditambahkan ke dalam media kultur untuk memperpanjang masa simpan. Ketika pembentukan GA terhambat, walaupun pembelahan sel masih terjadi, sel tidak memanjang sehingga menyebabkan buku dan tunas menjadi pendek (Hussain *et al.*, 2011). PBZ juga berperan dalam menginduksi modifikasi morfologi, seperti menghambat pemanjangan sel pada meristem sub apikal, dan memperpendek ruas tanaman (Ikenganyia *et al.*, 2017).

Berbeda dengan PBZ, ancymidol menghambat pertumbuhan dengan menghalangi tahap pembentukan entkaurene menjadi entkaurenol dan oksidasi entkaurenol menjadi asam entkaurenoid pada lintasan biosintesis GA (Sarkar *et al.*, 2001). Di samping itu, ancymidol juga dapat menghambat sintesis selulosa sehingga menghambat sintesis dan pemanjangan dinding sel (Hofmannová *et al.*, 2008). Untuk memperpanjang masa simpan, peningkatan konsentrasi diduga dapat dilakukan karena ancymidol tidak menimbulkan toksisitas, namun hal ini tidak disarankan karena harga ancymidol relatif mahal (Roostika dan Sunarlim, 2001).

Zat lain yang dapat menghambat pertumbuhan tanaman adalah asam absisat (ABA). ABA merupakan hormon pertumbuhan yang berperan sebagai inhibitor sehingga dapat menghambat pembelahan dan pemanjangan sel. Penambahan ABA 5-20 mg/l ke dalam media dapat menghambat pertumbuhan eksplan. Walaupun demikian, dalam konservasi *in vitro* penggunaan ABA jarang dilakukan begitu pula dengan zat cycocel yang dapat menghambat pertumbuhan namun dapat bersifat toksik bagi tanaman pada konsentrasi yang lebih tinggi (Golmirzaie dan Toledo, 1999).

Cara lain dalam memodifikasi media tanam adalah dengan penggunaan regulator osmotik. Regulator osmotik (osmoregulator) adalah suatu senyawa organik yang dapat mempengaruhi tekanan osmotik dalam media kultur sehingga mengurangi serapan hara mineral dan air oleh sel atau jaringan yang mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan kultur (Dodds dan Roberts, 1985). Sukrosa, manitol, dan sorbitol yang merupakan produk fotosintesis utama banyak digunakan dan dilaporkan dapat memperpanjang masa simpan *in vitro* karena dapat berfungsi sebagai osmoregulator (Shawky dan Aly, 2007).

Pertumbuhan tanaman dalam kultur *in vitro* sangat tergantung pada konsentrasi sukrosa yang diberikan. Konsentrasi sukrosa dalam media dasar untuk mendapatkan pertumbuhan normal adalah 30 g/l (Murashige dan Skoog, 1962), sedangkan dalam konsentrasi yang sangat tinggi (90 g/l) sukrosa dapat berfungsi sebagai osmoregulator yang menghambat pertumbuhan tanaman (Pookmanee *et al.*, 2001). Dalam hubungannya sebagai sumber energi, penurunan konsentrasi sukrosa (< 30 g/l) dalam media kultur akan menyebabkan tanaman memperlambat siklus selnya sehingga pembelahan dan pembentukan sel yang berjalan lambat menyebabkan pertumbuhan terhambat.

Selain penggunaan zat penghambat tumbuh dan regulator osmotik, pelambatan laju pertumbuhan dengan memodifikasi komponen media tumbuh melalui metode pengenceran garam-garam mineral. Media dasar yang diencerkan antara setengah dan seperempat bagian dari formulasi dasar dapat memperlambat pertumbuhan tanaman. Pengenceran media menjadi setengah atau seperempat bagiannya menyebabkan berkurangnya unsur makro, terutama NH_4^+ dan NO_3^- , sehingga nitrogen (N) sebagai unsur yang penting untuk pertumbuhan menjadi berkurang dan berakibat pertumbuhan eksplan terhambat. Pengenceran garam mineral perlu diperhatikan, karena menurut George dan Sherington (1984) konsentrasi hara makro sangat rendah akan mendorong pertumbuhan kalus dan akar. Kondisi ini tidak direkomendasikan untuk konservasi *in vitro* karena pembentukan kalus cenderung menyebabkan variasi somaklonal.

2.2. Modifikasi Lingkungan

Laju tumbuh tanaman bisa diperlambat dengan memodifikasi lingkungannya melalui penurunan suhu dan pengurangan intensitas cahaya (Engelman, 1991). Menurunkan suhu lingkungan tumbuh hingga mendekati 0 °C untuk tanaman subtropis dan beberapa derajat di bawah normal untuk tanaman tropis dapat mengurangi kecepatan pertumbuhan pada banyak tanaman (Dodds dan Roberts, 1985). Hal ini disebabkan suhu rendah menginduksi akumulasi lemak tidak jenuh pada membran sel sehingga membran sel menjadi tebal dan akibatnya pembelahan dan pemanjangan sel terhambat (George dan Sherington, 1984). Umumnya, penggunaan suhu rendah untuk penyimpanan *in vitro* dikombinasikan dengan modifikasi media (Pookmanee, 2001).

Modifikasi lingkungan juga bisa dilakukan dengan cara mengurangi intensitas cahaya. Tumbuhan sangat tergantung kepada cahaya dalam proses fotosintesis. Gula hasil fotosintesis digunakan oleh tanaman sebagai sumber karbon begitu juga gula yang tersedia dalam media. Pengurangan intensitas cahaya dapat menghambat kecepatan tumbuh dengan mengurangi proses fotosintesis dan metabolisme sehingga masa simpan dapat diperpanjang (Ikenganyia *et al.*, 2017).

3. Faktor Pembatas

Faktor pembatas pada kegiatan konservasi *in vitro* adalah kontaminasi, baik yang berasal eksplan, media maupun peralatan yang dipergunakan (Hussain *et al.*, 2012). Eksplan dapat terkontaminasi oleh berbagai mikroorganisme seperti jamur, bakteri, serangga atau virus. Sumber utama kontaminasi adalah spora jamur dan bakteri yang membentuk bagian alami dari atmosfer. Sebagian besar spora dan bakteri tersebut bersifat non patogenik, artinya tidak menyebabkan bahaya bagi tanaman inang pada kondisi normal. Kontaminasi yang disebabkan oleh mikroorganisme endofilik (organisme yang hidup didalam sel atau antar ruang antar sel tanaman) merupakan biota dari tanaman sumber eksplan. Mikroorganisme endofilik sulit diatasi dengan sterilisasi permukaan, karena koloni bakteri baru terlihat pada beberapa minggu pasca penanaman eksplan. Bakteri tersebut tetap ada setelah disubkulturkan beberapakali, karena hidup secara epifit didalam jaringan tanaman (Pence dan Sandoval, 2002). Untuk meminimalisir tingkat kontaminasi, maka proses sterilisasi perlu dilakukan dengan baik. Eksplan tanaman serta peralatan yang akan dipergunakan harus disterilisasi sesuai dengan standar operasional prosedur.

Faktor pembatas lain pada konservasi *in vitro* adalah peluang terjadinya variasi somaklonal. Variasi somaklonal adalah variasi genetik tanaman yang dihasilkan melalui kultur jaringan atau kultur sel, yang meliputi semua variasi genetik yang terjadi pada tanaman yang diregenerasikan dari sel yang tidak berdifrensiasi protoplas, kalus ataupun jaringan. Variasi somaklonal tergantung dari variasi alami yang terkandung di dalam kumpulan sel, baik genetik ataupun epigenetik yang dapat diamati pada planlet yang telah mengalami regenerasi (Garcia *et al.*, 2010).

Dalam kegiatan konservasi secara *in vitro* pemeliharaan stabilitas genetik merupakan hal yang sangat penting diperhatikan untuk menjamin plasma nutfah yang disimpan tetap sesuai dengan identitas asalnya. Untuk menghindari ketidakstabilan genetik, biasanya digunakan bahan tanaman yang telah mengalami diferensiasi, seperti kultur embrio, tunas, dan planlet karena relatif stabil terhadap variasi somaklonal (Withers, 1991). Berbagai metode dapat digunakan untuk mengevaluasi kestabilan genetik dan kerusakan yang mungkin terjadi akibat konservasi *in vitro*, di antaranya analisis morfologi, histologi, sitologi, biokimia, dan molekuler (Benson *et al.*, 2011).

Analisis morfologi di lapang dapat dilakukan dengan menggunakan deskriptor tanaman yang diamati. Analisis dilakukan dengan membandingkan penampilan fenotipik tanaman hasil konservasi *in vitro* dengan tanaman asalnya. Untuk menjamin kepastian kestabilan genetik, analisis (karakterisasi) morfologi perlu dikombinasikan dengan analisis molekuler karena hasil analisis morfologi sangat dipengaruhi oleh lingkungan.

Kekurangan dari analisis morfologi adalah pengaruh lingkungan yang cukup kuat (Dewi *et al.*, 2014), karena menurut Prayoga *et al.* (2016) penampilan tanaman adalah hasil interaksi antara faktor genetik dan lingkungan.

Analisis histologi dan sitologi dapat dilakukan dengan mengamati integritas jaringan, analisis kromosom, dan tingkat ploidi. Analisis Histologi dilakukan dengan cara mempelajari struktur jaringan secara detail menggunakan mikroskop pada sediaan jaringan yang dipotong tipis. Analisis Histologi berguna dalam mempelajari fungsi fisiologi sel-sel tanaman. Berbeda dengan analisis histologi, analisis sitologi berfokus pada informasi genetik berdasarkan jumlah, ukuran dan susunan kromosom (Harrison dan Schwarzacher., 2011).

Analisis biokimia dapat dilakukan melalui analisis isoenzim. Isoenzim dapat digunakan untuk mengarakterisasi plasma nutfah karena pada umumnya bersifat polimorfik dan relatif lebih stabil terhadap lingkungan dari pada morfologi. Penggunaan analisis iso enzim cukup terbatas karena tidak dapat mendeteksi tingkat variasi yang sedikit (Shukla *et al.*, 2004). Analisis lain yang saat ini banyak digunakan untuk mendeteksi kestabilan genetik adalah analisis molekuler di tingkat DNA (*deoxyribonucleic acid*). Analisis molekuler dapat dilakukan antara lain dengan *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD), *Simple Sequence Repeat* (SSR), dan *Amplified Fragment Length Polymorphism* (AFLP). Analisis molekuler digunakan untuk menganalisis tanaman sampai pada tingkat DNA terhadap ada tidaknya perubahan genetik pada materi yang dikonservasi. Analisis berbasis DNA ini lebih disukai karena bersifat polimorfis dan tidak dipengaruhi lingkungan (Peredo *et al.*, 2008).

4. Peluang *In Vitro*

Sampai saat ini pemanfaatan kultur *in vitro* untuk kegiatan konservasi tanaman teh di Indonesia belum dilakukan. Penelitian-penelitian mengarah pada kegiatan perbanyakan untuk memproduksi bibit teh sintetik yang seragam. Hasil penelitian Calandry *et al.* (2017) menjelaskan bahwa Melalui kultur *in vitro* dengan bahan tanam embriosomatik yang dienkapsulasi menggunakan alginat 4% dapat menghasilkan benih sintetik dengan diameter 5,5 – 5,7 mm dan berat basah 260-290 mg, namun masih rentan rusak karena tekstur benih tidak terlalu keras.

Berbeda dengan di Indonesia, di Negara Spanyol telah dilakukan penelitian tentang pemanfaatan teknik kultur *in vitro* untuk konservasi tanaman kerabat teh. Penelitian yang dilakukan oleh Ballester *et al.* (1997) menjelaskan bahwa eksplan *C. japonica* dan *C. reticulate* yang disimpan pada suhu 2 – 4 °C dan disinari selama 16 jam per hari dengan intensitas cahaya 8 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ mengalami pelambatan pertumbuhan sampai satu tahun. Eksplan yang digunakan berasal dari tunas (*shoot cultures*).

Konservasi plasma nutfah secara *in vitro* telah sukses dilakukan pada tanaman-tanaman seperti kopi, stroberi, pisang dan jeruk besar (Tjokrokusumo, 2004). Planlet kopi yang ditanam menggunakan media standar MS (Murashige dan Skoog) pada temperatur 27 °C mengalami pelambatan pertumbuhan 6 – 12 bulan (Bertand, 1991). Setiap tanaman memiliki teknik modifikasi yang berbeda-beda untuk memperlambat laju pertumbuhan pada kultur *in vitro* (Tjokrokusumo, 2004). Planlet stroberi yang disimpan pada suhu 4 °C bisa bertahan sampai 6 tahun dengan penambahan beberapa tetes media nutrisi (Mullin dan Schegel, 1976), sedangkan pada tanaman pisang laju pertumbuhan bisa diperlambat dengan menggunakan media MS yang ditambahkan *paclobutrazol* dengan suhu ruangan kultur 15 °C (Banerjee dan de Langhe, 1985). Pada tanaman lain, hasil penelitian Jawak (2008) menjelaskan bahwa jeruk besar dapat dikonservasi secara *in vitro* dengan menginduksi pertumbuhan minimal melalui pemberian *paclobutrazol* 3 mg/l sehingga mungkin dapat disimpan sampai lebih dari enam bulan. Pemberian manitol 20 g/l tidak direkomendasikan walaupun mampu untuk menghambat laju pertumbuhan tanaman, karena tanaman mengalami *senescent* sehingga menjadi kuning kecoklatan.

Pada dasarnya konservasi secara *in vitro* berfokus pada pelambatan laju pertumbuhan tanaman. Agar konservasi secara *in vitro* untuk plasma nutfah teh bisa dilakukan maka perlu dilakukan penelitian terkait: 1) pemilihan bagian tanaman teh terbaik sebagai bahan eksplan kultur jaringan, 2) proses sterilisasi untuk mencegah terjadinya kontaminasi, dan 3) media dan kondisi lingkungan yang dapat menghambat laju pertumbuhan namun tidak mematikan tanaman. Apabila protokol tersebut diperoleh, maka proses konservasi *in vitro* untuk plasma nutfah teh dapat dikembangkan lebih lanjut.

5. Kesimpulan

Konservasi plasma nutfah teh secara *in vitro* merupakan alternatif konservasi yang menguntungkan mengingat ketersediaan lahan pertanian yang semakin sempit akibat alih fungsi lahan. Dalam kegiatannya konservasi secara *in vitro* untuk tanaman teh perlu memperhatikan pemilihan bagian tanaman untuk dijadikan eksplan, teknik sterilisasi eksplan dan peralatan kultur, serta modifikasi media dan kondisi lingkungan yang mampu memperlambat laju pertumbuhan.

Daftar Pustaka

- Akin, Idowu P. E., Ibitoye D. O., Ademoyegun O. T. (2009). Tissue culture as a plant production technique for horticultural crops. *Afr. J. Biotechnol* Vol 8 (16): 3782-3788.
- Armini, N. M., G. A. Wattimena dan L. W. Gunawan. (1991). Perbanyakan tanaman, hal 17-149. Dalam: G. A. Wattimena (Ed.). *Bioteknologi Tanaman*. Pusat Antar Universitas, IPB. Bogor.
- Ballester, A., Janeiro, L. V., Vieitez, A. M. (1997). Cold storage of shoot cultures and alginate encapsulation of shoot tips of *Camellia japonica* L. and *Camellia reticulata* Lindley. *Scientia Horticulturae* Vol. 71: 67-78.
- Benerjee, N. and De Langle E. (1985). A Tissue Culture Technique for Rapid Clonal Propagation and Storage Under Minimal Growth Conditions of *Musa* (Banana and pantain). *Plant Cell Rep* Vol 4: 351-354.
- Benson, E.E., K. Harding, D. Debouck, D. Dumet, R. Escobar, G. Mafia, B. Panis, A. Panta, D. Tay, I. Van den Huwe, and N. Roux. (2011). Global Public Goods Phase 2: Part I. Project landscape and general status of clonal crops *in vitro* conservation technologies. System- Wide Genetic Resources Program. Rome, Italy. 82 p.
- Bertrand, Desbrunais A. (1991). La Conservation des Ressources Genetiques des Cafeiers. PhD Thesis, University Paris 6.
- Bramel, Paula J. and Liang Chen. (2018). Strategy for The Conservation and Use of Tea Genetic Resources. Global Crop Diversity Trust. Bonn, Germany.
- Calandry, A. Widya, W. Muslihatin, dan Sutini. (2017). Produksi Benih Sintetik Teh *Camellia sinensis*. *Jurnal Sains dan Seni ITS* Vol 6 (2); 2337-3520.
- Cathey, H. M. (1975). Comparative plant growth-retarding activities of ancymidol with ACPC, phosfon, chlormequat, and SADH on ornamental plant species. *Hort. Sci.* Vol 10 (3): 204-215.
- Dewi, Nurwita, Iswari S. Dewi, Ika Roostika. (2014). Pemanfaatan Teknik Kultur *In vitro* untuk Konservasi Plasma Nutfah Ubi-ubian. *Jurnal AgroBiogen* Vol 10 (1): 34-44.
- Dodds, J. H. and L. W. Roberts. (1985). *Experiments in Plant Tissue Culture*. 2nd Edition. Cambridge University Press. Cambridge, UK. 232 p.
- Garcia, Gonzales R., Quiroz K., Carrasco B., and Caligari P. (2010). Plant tissue culture: Current status, opportunities and challenges. *Cien. Inv. Agr.* Vol 37 (3): 5-30.
- Golmirzaie, A. and J. Toledo. (1999). *In vitro* conservation of potato and sweet potato germplasm. CIP Program Report 1997-98. International Potato Center. Lima, Peru. p. 351-356.
- Ikenganyia, E. E. M. A. N. Anikwe, T. E. Omeje, and J. O. Adinde. (2017). Plant Tissue Culture Regeneration and Aseptic Techniques. *Asian Journal of Biotechnology and Bioresource Technology* Vol 1 (3): 1-6.
- Harrison, J. S. (Pat) Heslop and T. Schwarzacher. (2011). Organisation of the plant genome in chromosomes. *The Plant Journal* Vol 66 (1): 18-33.
- Hasni. (2018). Mendorong Kembali Kejayaan Ekspor Teh Indonesia. *Warta Pengkajian Perdagangan* Vol 1 (15): 6-9.
- Hussain A., Naz S., Nazir H., Shinwari Z. K. (2011). Tissue culture of black pepper (*Piper nigrum* L.) in Pakistan. *Pak. J. Bot.* Vol 43 (2): 1069-1078.
- Hussain, Altaf, Iqbal Ahmed Qarshi, Hummera Nazir and Ikram Ullah. (2012). *Plant Tissue Culture: Current Status and Opportunities*. Intech Open: London.
- Keller, E.R.J., A. Senula, S. Leunufna, and M. Grube. (2006). Slow growth storage and cryopreservation-tools to facilitate germplasm maintenance of vegetatively propagated crops in living plant collections. *Int. J. Refrig* Vol 29 (1): 411-417.
- Mullin, R. H. and Schlegel D. E. (1976). Cold Storage Maintenance of Strawberry Meristem Planlets. *HortSci* Vol 11: 100-101.

- Murashige, T. and F. Skoog. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant.* Vol 15: 473-397.
- Okere, A. U., and Adegey A. (2011). *In vitro* propagation of an endangered medicinal timber species *Khaya grandifoliola*. *Afr. J. Biotechnol* Vol 10 (17): 3335-3339.
- Pence, Valerie. (2002). *In vitro* collecting: a tool for wild or endangered species conservation. *IPGRI Technical Bulletin* Vol 7 (1): 26-29.
- Pence, Valerie and Jourge A. Sandoval. (2002). Controlling contamination during *in vitro* collecting. *IPGRI Technical Bulletin* Vol. 7 (1): 30-40.
- Pookmanee, T., R. Amphawan, N. Topoonyamont, and N. Wichit. (2001). *In vitro* germplasm preservation of *Amorphophallus oncophyllus*. *Proceeding of the 3rd Maejo University Annual Conference*. Maejo University, Chiang Mai, Thailand, pp. 145- 155.
- Prayoga, M. Khais, Meddy Rachmadi, dan Noladhi Wicaksana. (2016). Penampilan 15 Genotipe Kedelai Hitam (*Glycine soja* (L.) Merr) pada Pertanaman Tumpangsari 2:1 dengan Jagung. *Jurnal Agrikultura* Vol. 27 (2): 89-93.
- Rahadi, V. Puspitasari, H. S. Khomaeni, L. Chaidir, dan Budi Martono. (2016). Genetic Diversity and Relationships of Tea Germplasm Collection Based on Leaf Morphology Character and Yield Components. *Jurnal Tanaman Industri dan Penyegar* Vol 3 (2): 103-108.
- Ramkrishna, N. Khawale, and S.K. Singh. (2005). *In vitro* adventitive embryony in citrus: A technique for citrus germplasm exchange. *Curr. Sci.* Vol 88 (8): 1309-1311.
- Roostika, I. dan N. Sunarlim. (2001). Penyimpanan *in vitro* tunas ubi jalar dengan penggunaan paclobutrazol dan ancymidol. *J. Pen. Pert. Tan. Pangan* Vol 20 (3): 48-56.
- Sarkar, D., S.K. Chakrabarti, and P.S. Naik. (2001). Slow growth conservation of potato microplants: Efficacy of ancymidol for long-term storage *in vitro*. *Euphytica* Vol 117: 133-142.
- Shawky, B. and U.I. Aly. (2007). *In vitro* conservation of globe artichoke (*Cynara scolymus* L.) germplasm. *Int. J. Agri. Biol.* Vol. 9 (3): 404-407.
- Tjokrokusumo, Donowati S. (2004). Konservasi Plasma Nutfah Secara *In vitro*. *Jurnal Teknik Lingkungan* Vol 5 (2): 140-143.
- Towill, L. E. (2005). Germplasm preservation. p. 277-284. In R.N. Trigiano and D.J. Gray (eds.) *Plant Development and Biotechnology*. CRC Press. Boca Raton, USA.
- Wetherel, D. F. (1982). *Pengantar Propagasi Tanaman Secara In vitro*. Penerjemah: Koesoemardiyah. Avery Publishing Group. New Jersey. hal. 110
- Withers, Lyndsey. (1991). *In vitro* conservation. *Biol. J. Linnean Soc.* Vol 43: 31-42.
- Withers, Lyndsey. (2002). *In vitro* collecting: concept and background. *IPGRI Technical Bulletin* Vol. 7 (1): 16-25.