

Temporary Immersion System: **Teknologi Bioreaktor untuk Kultur Jaringan Kopi**

Fitria Ardiyani¹⁾

¹⁾Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia, Jl. PB. Sudirman 90 Jember 68118

Temporary Immersion System (TIS) merupakan salah satu aplikasi bioteknologi yang dapat diterapkan dalam perbanyakan tanaman secara *in vitro* terutama teknik yang dipakai dalam kultur cair. Prinsip teknik TIS ini hampir sama dengan teknik kultur *in vitro* lainnya hanya sistem durasi, interval dan volume media cair yang digunakan bisa dimanipulasi dan diatur sesuai kebutuhan tanaman. TIS sudah mulai digunakan untuk perbanyakan berbagai tanaman, antara lain kentang, wortel, jeruk, dan juga tanaman perkebunan seperti karet dan kopi. Pada kultur *in vitro* kopi, TIS digunakan untuk mempercepat pertumbuhan tunas, sehingga tahapan untuk mendapatkan planlet dapat dilakukan secara lebih cepat.

Kultur jaringan tanaman atau kultur *in vitro* adalah cara perbanyakan tanaman yang dilakukan dalam lingkungan steril untuk menghasilkan bibit tanaman dalam jumlah banyak, kualitas seragam, bebas penyakit yang pelaksanaannya tidak tergantung pada musim, dan bibit yang dihasilkan bersifat *true to type*. Namun demikian dalam pelaksanaannya dibutuhkan modal awal atau investasi yang besar sebab perlengkapan laboratorium dan kebutuhan sumber daya manusia yang terampil biayanya mahal.

Teknik kultur jaringan seringkali menggunakan media padat dengan pematat media berupa agar atau gel. Keuntungan kultur jaringan dengan media padat antara lain eksplan dapat tumbuh dengan tegak dan kokoh pada media tanam, dan membantu eksplan tumbuh seperti pada kondisi lingkungan *ex vitro*, namun di sisi lain terdapat beberapa kelemahan, yaitu tingkat

multiplikasi relatif rendah dan memerlukan peralatan dan tenaga kerja yang banyak. Teknik perbanyakan *in vitro* dengan media padat memerlukan proses subkultur berulang sehingga kebutuhan tenaga kerja, media tanam dan tempat inkubasi akan lebih besar.

Di samping menggunakan media padat, kultur *in vitro* juga dapat menggunakan media cair (kultur cair) atau media tanam *in vitro* yang tidak dilengkapi bahan pematat (agar-agar). Teknik media cair terutama untuk proses penanaman (inkubasi). Penggunaan media cair dalam kultur jaringan memiliki beberapa kelebihan dibandingkan media padat, antara lain kemampuan eksplan bermultiplikasi akan lebih banyak dan kemampuan penyerapan nutrisi oleh eksplan menjadi lebih baik. Meskipun demikian penggunaan media cair dalam kultur jaringan juga akan memberikan peluang terjadinya hiperhidrisiti dalam jaringan tanaman yang menyebabkan eksplan dapat tumbuh abnormal. Oleh karena itu penggunaan

media cair hanya dilakukan pada fase-fase pertumbuhan tertentu terutama pada fase multiplikasi atau pertunasan. Pada fase tersebut pemakaian media cair akan memberikan efek yang optimal terhadap pertumbuhan eksplan kultur *in vitro*.

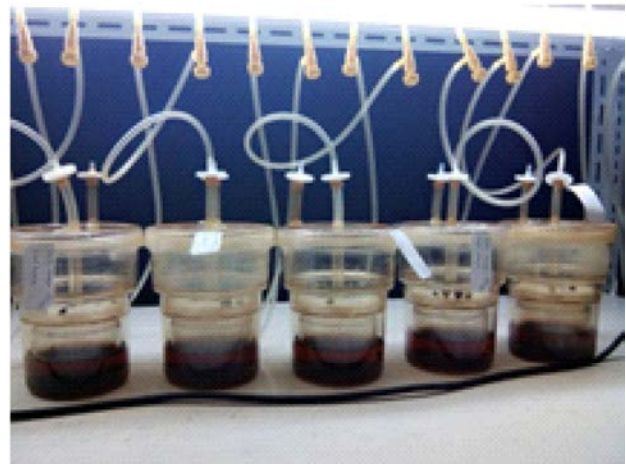
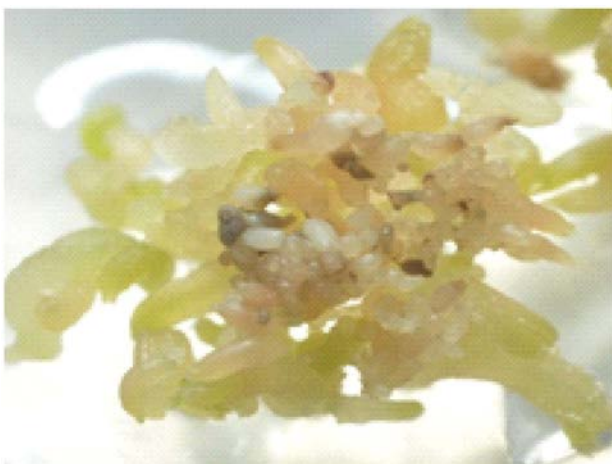
Perkembangan perbanyakan massal tanaman dengan teknik kultur jaringan telah memanfaatkan bioreaktor untuk percepatan multiplikasi eksplan. Istilah bioreaktor sebuah wadah untuk reaksi biologi atau sebagai wadah kultur sel secara aerobik. Pada awalnya bioreaktor telah digunakan dalam industri mikrobiologi dan industri metabolit sekunder tanaman. Bioreaktor untuk memproduksi metabolit sekunder mulai dikembangkan tahun 1956 yang awalnya ditujukan untuk memproduksi biomassa yang mengandung senyawa kimia bernilai ekonomi tinggi dalam skala industri. Dalam perkembangannya, bioreaktor tidak hanya digunakan untuk tujuan tersebut tetapi juga digunakan untuk perbanyakan massal tanaman yang pertama kali diprakarsai oleh Takayama tahun 1981 untuk perbanyakan tanaman Begonia. Sejak saat itu penggunaan bioreaktor untuk perbanyakan massal tanaman terus berkembang pada tanaman lain seperti Lili, Strawberry, Kentang dan Stevia.

Pemanfaatan teknologi bioreaktor untuk perbanyakan massal tanaman berkembang pesat sebab lebih menguntungkan karena dapat mengurangi biaya produksi (tenaga kerja, peralatan, dan bahan). Penggunaan bioreaktor dalam kultur media cair memberikan efek yang lebih baik karena media cair mendorong

terjadinya kontak yang lebih baik antara biomassa dengan media, tidak adanya hambatan dalam pertukaran udara, kemudahan dan pengontrolan komposisi media dan suplai gas serta kemampuan untuk memanipulasi biomasa tanaman sesuai dengan volume media^{1) & 4)}.

Pemanfaatan Bioreaktor dalam Kultur Jaringan Tanaman

Bioreaktor dalam kultur jaringan tanaman adalah sebuah sistem yang terdiri dari sebuah kontainer yang berisi media cair yang mensuplai nutrisi kepada sel, embrio, atau organ yang dibiakkan, yang dihubungkan dengan sumber udara dan menyalurkannya ke dalam kontainer²⁾. Selain sebagai alat untuk memproduksi metabolit sekunder dan alat untuk kultur cair, saat ini bioreaktor juga digunakan dalam perbanyakan tanaman dengan *somatic embryogenesis* (SE) Keberhasilan kultur cair dengan menggunakan bioreaktor telah banyak dilaporkan, antara lain pada tanaman wortel, ubi jalar, karet, dan kopi. Teknologi bioreaktor dapat diterapkan dalam kultur jaringan tanaman dengan beberapa keunggulan antara lain (1) dapat lebih baik dalam mengendalikan kultur suspensi sel skala komersial, (2) kondisi planlet yang stabil dan konstan pada berbagai tahap operasi bioreaktor, (3) penanganan kultur mulai dari inokulasi hingga panen lebih mudah dan cepat, (4) penyerapan nutrisi lebih tinggi karena keseragaman media dan kontak langsung sel dengan media dapat menstimulasi laju multiplikasi yang lebih tinggi,



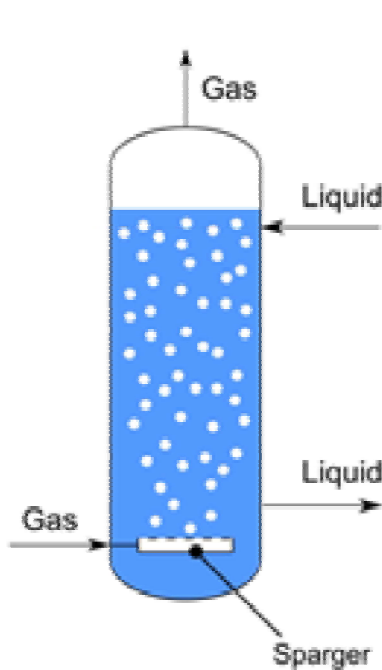
Teknologi TIS dalam kultur jaringan tanaman

dan (5) menghasilkan bibit bebas penyakit yang identik dengan sel induknya²⁾. Namun demikian dalam membuat sistem produksi massal dengan bioreaktor tidaklah mudah sebab diperlukan rekayasa alat yang cukup rumit, dan eksplan atau kultur sel dapat tumbuh apabila bioreaktor dalam kondisi yang optimal; gas dalam bioreaktor (oksigen, nitrogen, dan karbondioksida), temperatur, pH, serta komposisi unsur hara dalam media tanam harus terkendali.

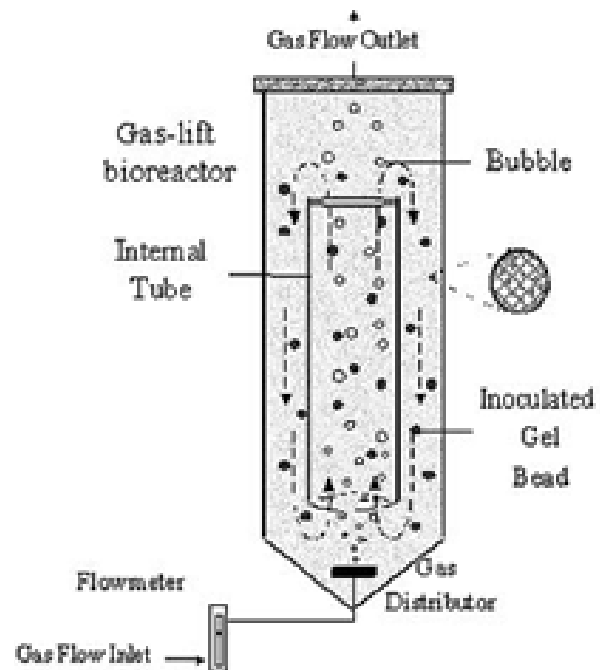
Berdasarkan tempat dan sistem kerjanya bioreaktor dibedakan menjadi (1) *Mechanically agitated bioreactors*, (2) *Pneumatically agitated bioreactors*, dan (3) *Non-agitated bioreactors*¹⁾. *Mechanically agitated bioreactors* terdiri dari beberapa jenis, antara lain *Aeration-agitation bioreactors*, *Rotating drum bioreactors*, dan *Spin filter bioreactors*. Bioreaktor tipe ini merupakan bioreaktor yang paling standar digunakan dalam industri maupun dalam kultur jaringan tanaman, sedangkan *Pneumatically agitated bioreactors* adalah bioreaktor yang hanya digunakan dalam kultur jaringan tanaman. Hal ini disebabkan bioreaktor tipe ini dapat mengurangi risiko kematian atau kerusakan eksplan yang disebabkan oleh pergerakan media cair dalam bejana seperti pada *Mechanically agitated bioreactors*. Selain

itu bioreaktor tipe ini memiliki sistem kerja yang paling tepat untuk pembentukan organ tanaman. *Pneumatically agitated bioreactors* terdiri beberapa tipe, yaitu *unstirred bubble bioreactor*, *bubble column bioreactor*, *airlift bioreactor*¹⁾. Kelebihan lain yang dimiliki bioreaktor tipe ini adalah mudah dalam pengoperasiannya sehingga besarnya putaran dan keseragaman gelembung dapat dikendalikan.

Dalam perbanyakan tanaman dengan menggunakan bioreaktor, bahan tanam (eksplan) yang biasa digunakan antara lain propagul calon tunas, PLB (*protocorm like bodies*), embrio, atau anakan dari bagian tanaman lain. Bahan tanam tersebut diinokulasi di dalam bioreaktor hingga berkembang menjadi planlet. Dari berbagai jenis eksplan yang digunakan, eksplan yang dapat tumbuh sempurna hingga aklimatisasi adalah eksplan yang memiliki cadangan makanan. Beberapa jenis eksplan yang telah berhasil dikembangkan dengan menggunakan bioreaktor antara lain tunas (tembakau, stevia), umbi (kentang), embrio (*Atropa belladonna*), dan *bubls* (lilium dan *Hippeastrum hybridum*). Keberhasilan pembentukan planlet juga dipengaruhi oleh komposisi unsur hara media tumbuh yang digunakan sebagai media tanam dan pemasok oksigen yang tersedia.



Bubble Column Bioreactor (sumber :Wikipedia)



Air Lift Bioreactor (sumber: afroditarcub.bg.ac.rs)

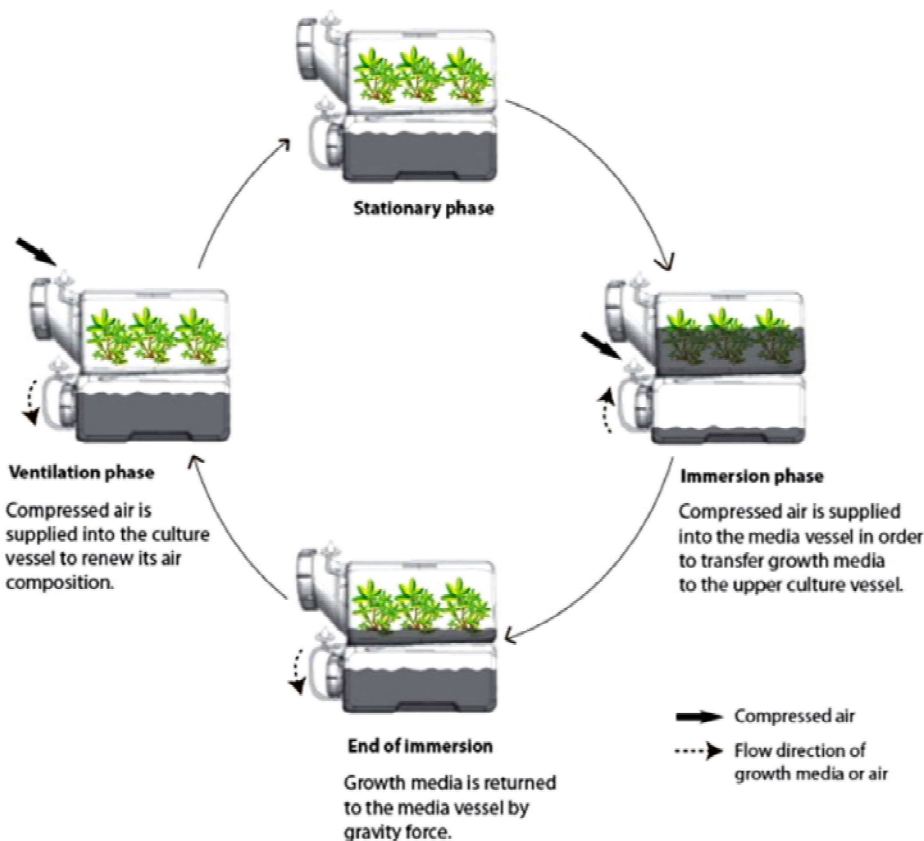
Pneumatically agitated bioreactors

Dalam teknologi bioreaktor, kendala yang sering dihadapi adalah hiperhidrisiti planlet. Hiperhidrisiti adalah suatu gangguan pertumbuhan yang dialami oleh eksplan/planlet yang diakibatkan kelebihan cairan yang diserap. Hal tersebut dapat terjadi akibat eksplan/planlet selalu terendam dalam media cair di dalam bioreaktor. Untuk mengurangi masalah tersebut maka dikembangkan teknik bioreaktor dengan prinsip perendaman sesaat yang disebut *Temporary Immersion System* (TIS). TIS adalah sistem bioreaktor untuk memperbanyak tanaman dengan memberikan media tanam (media cair) secara berkala dengan durasi dan interval waktu yang ditentukan. Metode ini telah dilakukan pada berbagai jenis tanaman dan telah menunjukkan hasil yang baik, antara lain untuk memperbanyak *Shorea replosula*, pisang kultivar Maca, kentang, *Eucalyptus*, ubi kayu, dan kopi. Dengan menggunakan TIS ini, maka hiperhidrisiti dan vitrifikasi yang terjadi pada eksplan dapat diminimalisasi.

TIS adalah suatu metode dalam bioreaktor dengan cara mengalirkan media tanam (cair) selama beberapa saat kemudian dikeluarkan

kembali dengan memanfaatkan gaya gravitasi sehingga tanaman tidak terendam dalam media secara terus-menerus. Sistem ini dirancang untuk selalu membasahi kemudian mengeringkan kembali tanaman pada periode waktu tertentu. Perbedaan antara TIS dengan sistem bioreaktor lain adalah teknik pemberian media pada eksplan. Dengan menggunakan TIS, lama waktu perendaman, interval waktu dan pengaturan udara dalam bejana kultur dapat diatur sesuai dengan kebutuhan eksplan.

Keuntungan penggunaan TIS adalah: mengurangi frekuensi hiperhidrisiti pada eksplan; durasi dan interval waktu perendaman dapat dikendalikan sesuai tujuan; eksplan dapat menyerap media dari seluruh bagian eksplan; Saluran udara dapat dikendalikan sehingga kontaminasi dapat dikendalikan; dan efek stres eksplan karena pergerakan media cair dalam bejana dapat diminimalkan. Respons menurunnya pengaruh hiperhidrisiti pada eksplan yang ditanam dengan menggunakan teknologi TIS ini telah dilaporkan pada beberapa tanaman³⁾



Temporary Immersion System (TIS) (Sumber : Afreen, 2006)

Aplikasi TIS untuk Perbanyak Kopi

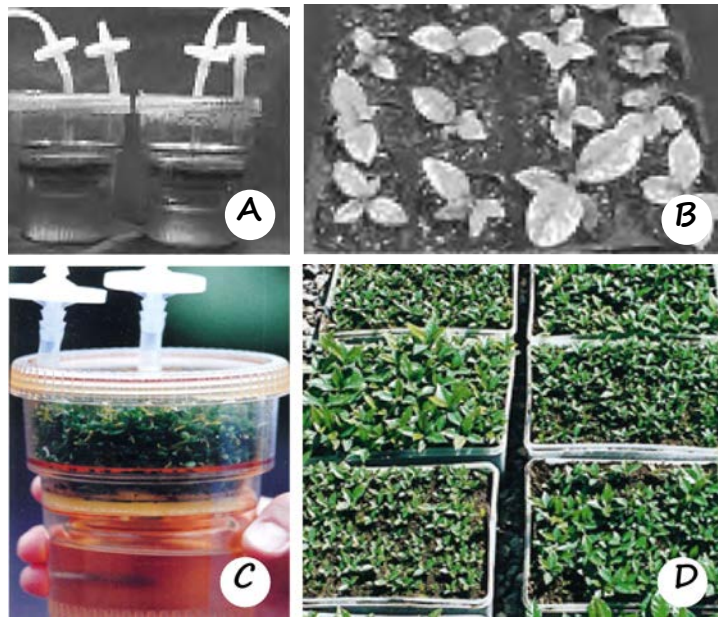
TIS telah berhasil digunakan untuk perbanyak tanaman kopi, baik jenis Arabika, Robusta maupun Arabusta. Eksplan yang digunakan berupa embrio yang berasal dari SE atau tunas dari embrio kopi. Pada TIS kopi Arabusta, eksplan yang digunakan adalah embrio tahap kotiledon dengan beberapa model TIS, antara lain dengan TRI-bioreaktor (*Temporary Root-zone Immersion system*) dan RITA-bioreaktor (*Receptient for Automated Temporary Immersion System*)¹⁾. Kotiledon yang dikulturkan dengan menggunakan TRI-bioreaktor akan tumbuh lebih baik karena dengan menggunakan TRI-bioreaktor hanya bagian akar yang akan terendam sehingga pertukaran udara tidak terganggu oleh media cair. Hal tersebut akan memudahkan kotiledon kopi untuk berfotosintesis dan menghasilkan makanan sendiri. Begitu pula dengan kotiledon kopi Arabusta yang dikulturkan dengan menggunakan RITA-bioreaktor. Kotiledon kopi yang ditanam dalam bioreaktor ini akan tumbuh menjadi planlet kopi yang normal. Hanya saja, untuk morfologi

planlet kopi yang dihasilkan akan lebih vigor dengan menggunakan TRI-bioreaktor. Hal ini disebabkan karena RITA-bioreaktor dirancang untuk mengembangkan eksplan dalam bentuk embrio asal SE.

Pada SE kopi Arabika, telah dilakukan aplikasi teknologi perbanyak dengan menggunakan RITA-bioreaktor³⁾. Dengan menggunakan RITA-bioreaktor akan diperoleh planlet kopi Arabika yang siap aklimatisasi dengan waktu yang lebih cepat. Bahan yang digunakan pada perbanyak dengan teknologi ini adalah embrio yang sudah sempurna. Embrio kopi Arabika hasil SE diinkubasi dalam TIS pada interval waktu 12 jam dengan waktu perendaman selama 1 menit. Dengan perendaman tersebut, eksplan dapat menyerap unsur hara secara optimal dari seluruh bagian embrio. Selain itu, durasi waktu perendaman yang tidak terlalu lama akan mengurangi risiko embrio mengalami hiperhidrisiti. Dengan demikian embrio kopi Arabika akan tumbuh menjadi planlet kopi Arabika dengan waktu yang lebih cepat dan vigor yang lebih baik dibandingkan dengan menggunakan kultur media padat.

Pemanfaatan TIS untuk perbanyak beberapa jenis tanaman

Spesies	Eksplan	Durasi perendaman	Hiperhidrisitas	Sumber
Anggrek (<i>Pottinera.spp</i>)	Tunas	5-10 menit/12 jam	Tidak terjadi	Tisserat & Vandercook (1985)
Kurma (<i>Phoenix dactylifera</i>)	Embrio	5-10 menit/12 jam	Tidak terjadi	Tisserat & Vandercook (1985)
Wortel (<i>Daucus carota</i>)	Embrio	5-10 menit/12 jam	Tidak terjadi	Tisserat & Vandercook (1985)
Pisang (<i>Musa acuminato</i>)	Tunas	30 menit/2 jam	Tidak terjadi	Alvard <i>et al.</i> (1993)
Kentang (<i>Solanum tuberosum</i>)	Umbi	60 menit/6 jam	Tidak terjadi	Akita & Takayama (1994)
Karet (<i>Hevea brasiliensis</i>)	Embrio	1 menit/12 jam	Tidak terjadi	Etienne <i>et al.</i> (1997)
Gula (<i>Saccharum spp.</i>)	Tunas	2 menit/9 jam	Tidak terjadi	Lorenzo <i>et al.</i> (1998)
Nanas (<i>Ananas comosus</i>)	Tunas	2 menit/3 jam	Tidak terjadi	Escalona <i>et al.</i> (1999)
Kopi Robusta (<i>Coffea canephora</i>)	Tunas mikro	15 menit/6 jam	Tidak terjadi	Berthouly <i>et al.</i> (1995)
Kopi Arabika (<i>Coffea arabica</i>)	Embrio	1 menit/12 jam	Tidak terjadi	Etienne-Barry <i>et al.</i> (1999)



Aplikasi TIS pada kopi Robusta (*Coffea arabusta*) (sumber: Afreen, 2008) (A-B) dan TIS pada kopi Arabika (*Coffea arabica*) (sumber: Etienne et al, 1999) (C-D)

Peningkatan teknologi untuk mendukung perbanyakan tanaman dengan TIS akan mempermudah dalam pendewasaan tanaman. Teknologi TIS, terutama pada perbanyakan tanaman kopi (Arabika, Robusta, dan Arabusta) telah digunakan untuk mendewasakan eksplan (embrio) sehingga bisa menjadi planlet kopi siap aklimatisasi dalam waktu yang lebih singkat dibandingkan dengan penggunaan media padat. Pendewasaan planlet dengan TIS hanya memerlukan waktu sekitar satu bulan sedangkan dengan menggunakan kultur padat, fase pendewasaan dapat memerlukan waktu sekitar tiga bulan. Selain itu teknologi TIS juga dapat menyebabkan planlet lebih vigor dan lebih kuat dibandingkan dengan planlet hasil kultur media padat. Penggunaan teknologi ini diharapkan dapat memperbaiki teknik perbanyakan kopi secara *in vitro*.

Penutup

Teknologi TIS merupakan teknologi yang dapat digunakan untuk mempermudah teknik kultur jaringan. Teknologi ini juga dapat menurunkan biaya produksi terutama komponen

biaya tenaga kerja. Keberhasilan penggunaan teknologi TIS pada beberapa jenis tanaman termasuk kopi, dapat dijadikan sebagai acuan dalam penerapan TIS untuk pengembangan metode perbanyakan tanaman kopi Arabika, Robusta dan Arabusta ataupun pada jenis tanaman lain. Dengan penerapan teknologi TIS ini diharapkan dapat memberikan kemudahan dalam pelaksanaan kultur jaringan dengan hasil yang lebih maksimal.

Sumber Pustaka

- ¹Afreen, F. (2006). Temporary Immersion Bioreactor. In: S.D. Gupta & Y. Ibaraki. *Plant Tissue Culture Engineering*. 187-192.
- ²Agisimanto, D. Yunimar & H. Arisah (2011). Biorektor dan Biopriming Mendukung Kemandirian Perbenihan Nasional Menjamin Keberlanjutan Produksi Tanaman. *Iptek Hortikultura*. 7, 8-11.
- ³Etienne, H. & M. Berthouly (2002). Temporary immersion systems in plant micropropagation. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 69, 215-231.
- ⁴Ziv, M. (2000). Bioreactor technology for plant micropropagation in J. Janick (Ed). *Horticultural reviews*, John Wiley & Sons Inc. 24, 1-25.

()*