

Laporan Pratikum Dasar-Dasar Bioteknologi Tanaman

Topik 1

**PEMBUATAN MEDIA KULTUR JARINGAN
TANAMAN**



Oleh :

Arya Widura Ritonga

(A24051682)

Agronomi dan Hortikultura

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Kultur jaringan merupakan salah satu cara perbanyakan tanaman secara vegetatif. Kultur jaringan merupakan teknik perbanyakan tanaman dengan cara mengisolasi bagian tanaman seperti daun, mata tunas, serta menumbuhkan bagian-bagian tersebut dalam media buatan secara aseptik yang kaya nutrisi dan zat pengatur tumbuh dalam wadah tertutup yang tembus cahaya sehingga bagian tanaman dapat memperbanyak diri dan bergenerasi menjadi tanaman lengkap. Prinsip utama dari teknik kultur jaringan adalah perbanyakan tanaman dengan menggunakan bagian vegetatif tanaman menggunakan media buatan yang dilakukan di tempat steril.

Media merupakan faktor penentu dalam perbanyakan dengan kultur jaringan. Komposisi media yang digunakan tergantung dengan jenis tanaman yang akan diperbanyak. Media kultur yang baik seharusnya menyediakan unsur hara baik makro maupun mikro, sumber vitamin dan asam amino, sumber karbohidrat, zat pengatur tumbuh, senyawa organik sebagai tambahan seperti air kelapa, ekstrak buah dll, bahan pematat: agar-agar dan gelrite dan juga menyediakan arang aktif untuk kasus tertentu untuk tanaman.

Unsur hara makro dan mikro diberikan dalam bentuk garam-garam anorganik. Pada umumnya biasa diberikan dalam komposisi tertentu seperti komposisi media MS, WPM, B5, White, dan lain-lain tergantung dari jenis tanaman yang akan dikulturkan. Vitamin yang banyak digunakan adalah vitamin B12 (thiamin), Nicotinic Acid, vitamin B6 (pyridoxine), dan vitamin E atau C yang digunakan sebagai antioksidan. Asam amino dipakai sebagai sumber N organik, yang biasa digunakan adalah glycine, asparagin, glutamin, alanin, dan threonin.

Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) sangat penting dalam pembuatan media kultur jaringan. Zat pengatur tumbuh adalah suatu persenyawaan organik yang dalam jumlah sedikit (1 mM) dapat merangsang, menghambat atau mengubah pola pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Dalam kultur jaringan ZPT penting: sitokinin (Kinetin, BA, Zeatin, 2iP, Thidiazuron), auksin (IAA, NAA, IBA, 2.4-D, 2.4.5-T, Dicamba, Picloram). Kedua ZPT ini mempunyai fungsi masing-masing yang berbeda, sitokinin mempengaruhi pembelahan sel serta pembentukan organ seperti pucuk dan pembentukan embrio somatik. Auksin dipakai untuk menginduksi pembentukan sel dan akar. Kombinasi antara auksin dan sitokinin berfungsi untuk menginduksi pertumbuhan kalus. Selain auksin dan sitokinin digunakan juga giberelin (menginduksi pemanjangan tunas dan perkecambahan embrio, dan menghambat pengakaran) dan retardan (untuk menghambat pertumbuhan tunas) seperti paclobutrazol.

Senyawa organik sering ditambahkan ke dalam media sebagai sumber pembentuk asam amino dan vitamin. Senyawa organik yang sering ditambahkan adalah air kelapa, ekstrak ragi, ekstrak buah, dan casein hidrolisat. Sebagai sumber energi ditambahkan dari senyawa-senyawa yang merupakan sumber karbohidrat, seperti sukrosa (paling baik pada tanaman umumnya), glukosa, fruktosa, dan maltosa. Penambahan arang aktif berfungsi untuk mengadsorpsi senyawa-senyawa fenolik dan untuk merangsang pertumbuhan akar.

Selain ditambahkan oleh senyawa-senyawa tersebut, media yang baik harus selalu berada dalam pH yang optimal yaitu 5,5-5,8. Selain itu, harus dibuat dalam tempat yang steril. Autoclave sering dipakai untuk sterilisasi dalam pembuatan media kultur jaringan.

Tujuan

Tujuan dari praktikum ini agar dapat mengetahui dan berlatih proses pembuatan media kultur jaringan tanaman komposisi MS yang baik dan benar.

BAHAN DAN METODE

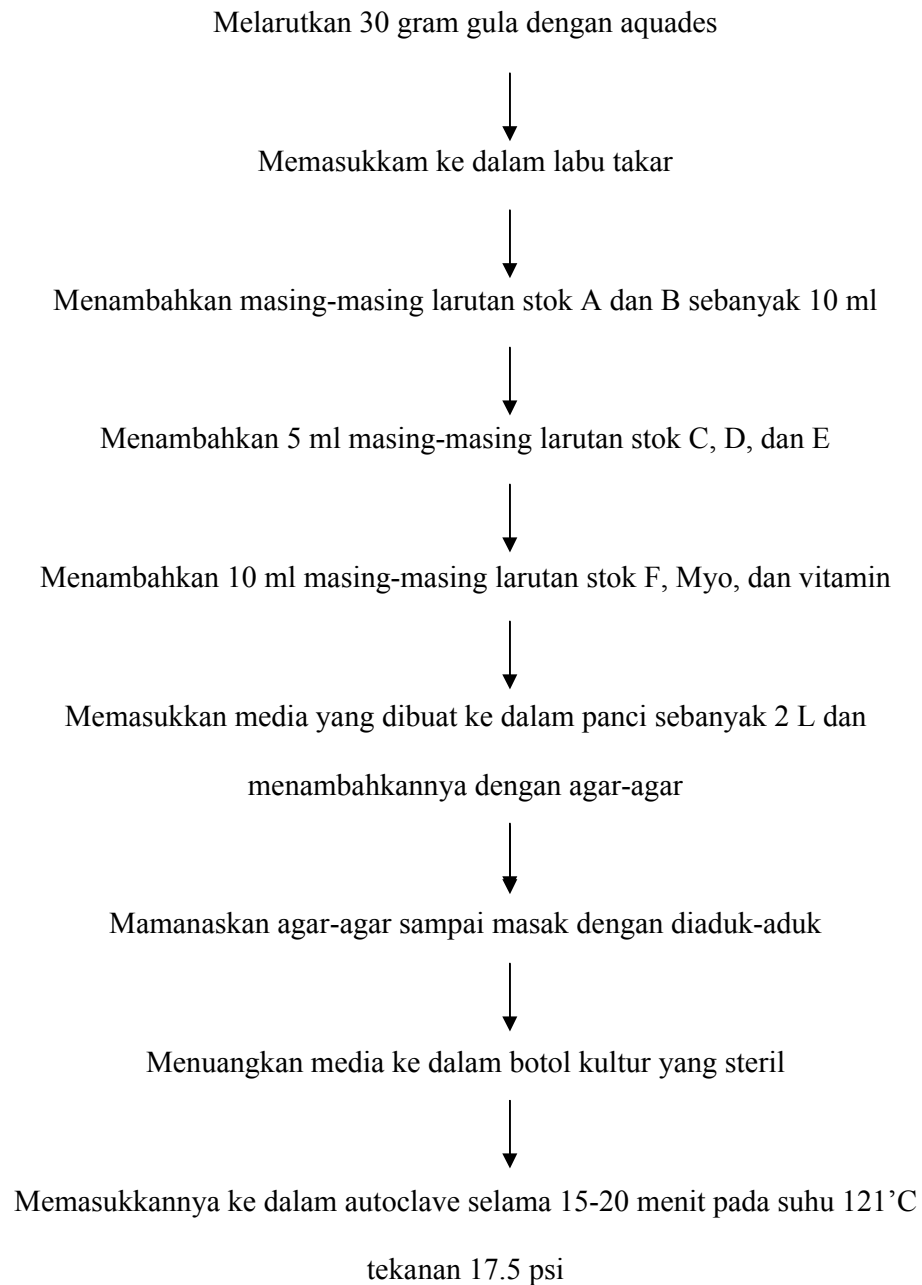
Pratikum ini dilakukan pada hari Rabu, 26 September 2007 di Lab Kultur Jaringan Tanaman Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor.

Bahan yang digunakan adalah larutan stok seperti tercantum Tabel 1.1, gula, aquades, dan agar-agar. Alat-alat yang dipakai adalah plastik penutup, karet gelang, labu takar, botol kultur, autoclave, dan alat pengukur PH..

Tabel 1.1 Tabel larutan stok

Stok	Bahan	Konsentrasi Larutan (g/liter)	Volume yang di pipet (ml/liter)	Pemakaian (mg/liter)
A	NH ₄ NO ₃	82.5	20	1650
B	KNO ₃	95	20	1900
C	KH ₂ PO ₄	34	5	170
	H ₃ BO ₃	1.24		6.2
	NA ₂ MOO ₄ .2H ₂ O	0.05		0.25
	COCL ₂ .H ₂ O	0.005		0.025
	KI	0.166		0.83
D	CaCl ₂ .2H ₂ O	88	5	440
E	MgSO ₄ .7H ₂ O	74	5	370
	MnSO ₄ .4H ₂ O	4.46		22.3
	ZnSO ₄ .7H ₂ O	1.72		8.6
	CuSO ₄	0.005		0.025
F	NaEDTA	3.73	10	37.3
	FeSO ₄ .7H ₂ O	2.78		27.8
Vitamin	Thiamine	0.01	10	0.1
	Niacin	0.05		0.5
	Pyridoxine	0.05		0.5
	Glycin	0.2		2
Myo	Myo inositol	10	10	2
Gula	Gula pasir	15		

Pratikum pembuatan media kultur jaringan tanaman komposisi MS diawali dengan penjelasan di kelas terlebih dahulu, baru kemudian melakukan praktek pembuatan media kultur jaringan tanaman di lab kultur jaringan. Berikut adalah skema pembuatan media dengan media dasar MS :



HASIL DAN PEMBAHASAN

Media kultur jaringan yang baik, selain dapat menyediakan semua keperluan tanaman juga harus steril dari kontaminasi. Hal ini bertujuan agar dapat diperoleh tanaman yang steril dari berbagai mikroorganisme pengganggu. Berikut adalah Tabel pengamatan kontaminasi pada media kultur jaringan:

Tabel pengamatan kontaminasi pada media kultur jaringan:

N0	Kelompok	Jumlah Awal Media	1 MST		2 MST		Keterangan
			Kontam	Steril	Kontam	Steril	
1	C1	10	0	10	0	10	
2	C2	10	0	10	0	10	
3	C3	10	0	10	0	10	
4	C4	10	0	10	0	10	
5	C5	10	0	10	0	10	
6	C6	10	0	10	0	10	
7	C7	10	0	10	0	10	
8	C8	10	0	10	0	10	
9	C9	10	0	10	0	10	
10	C10	10	0	10	0	10	
Rata-rata		10	0	10	0	10	
Standard deviasi		0	0	0	0	0	

Tabel tersebut memperlihatkan bahwa tidak terdapat media yang terkontaminasi, baik pada 1 MST maupun setelah 2 MST. Hal ini sangat terkait dengan terdapatnya proses sterilisasi yang dilakukan terhadap alat-alat yang dipakai dalam pembuatan media untuk kultur jaringan. Selain itu, sterilisasi yang juga dilakukan terhadap media sebelum disimpan ke dalam ruang kultur.

Proses sterilisasi, baik yang dilakukan terhadap peralatan pembuatan media maupun terhadap media itu sendiri dilakukan dengan menggunakan Autoklaf. Di dalam autoklaf tersebut peralatan dan media dipanaskan pada suhu 121 derajat Celcius dan diberi tekanan sebesar 17.5 psi dalam beberapa waktu tertentu. Perlakuan tersebut mengakibatkan berbagai mikroorganisme seperti bakteri ataupun cendawan tidak tahan dan akhirnya mati. Peralatan dan media pun menjadi steril.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Salah satu indikator keberhasilan dalam pembuatan media kultur jaringan tanaman yang baik adalah tingkat kontaminasi media yang kita buat. Semakin sedikit media yang terkontaminasi maka semakin baik tingkat keberhasilan kita. Autoklaf merupakan salah satu alat yang penting dalam pembuatan media kultur jaringan. Autoklaf dapat dipakai untuk membunuh mikroorganisme seperti bakteri dan cendawan, sehingga media yang kita buat dapat steril dari mikroorganisme-mikroorganisme tersebut.

Saran

Pada percobaan yang akan datang dapat dicoba pembuatan media kultur jaringan tanaman selain komposisi MS. Sterilisasi dapat juga dicoba dengan menggunakan Dry-heat sterilization atau Glass bead sterilization. Pengamatan dilakukan tidak hanya terhadap tingkat kekontaminan media, tapi dapat pula ditambahkan dengan bentuk media yang dibuat.

DAFTAR PUSTAKA

Coleman, J. O. D., Evans, D.E., and Kearns, A. 2003. **Plant Cell Culture**. New York: BIOS Scientific Publishers.