

**LAPORAN PRAKTIKUM
TEKNIK KULTUR JARINGAN**



Disusun Oleh :

Nama : Lucky Mirsadiq

NIM : H0711055

Kelas : AT-4B

Kelompok : 08

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS SEBELAS MARET
SURAKARTA
2013**

**LAPORAN PRAKTIKUM
TEKNIK KULTUR JARINGAN**



Disusun Oleh :

Nama : Lucky Mirsadiq

NIM : H0711055

Kelas : AT-4B

Kelompok : 08

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS SEBELAS MARET
SURAKARTA
2013**

HALAMAN PENGESAHAN

Laporan Praktikum Kultur Jaringan ini disusun guna melengkapi tugas mata kuliah Kultur Jaringan dan telah diterima serta disetujui serta disahkan oleh Co-Assisten Kultur Jaringan dan Dosen Kultur Jaringan pada tanggal 31 Mei 2013.

Disusun Oleh :
Lucky Mirsadiq
H0711055

Mengetahui,

Dosen Koordinator Praktikum
Kultur Jaringan

Co-Assisten

Dr.Ir. Endang Yuniastuti, MS
NIP. 197006091994022001

Dhani Dhyana C.
NIM. H0710030

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan atas kehadiran Allah Subhana Wa Ta'ala karena atas berkah, rahmat serta hidayah-Nya penulis dapat menyelesaikan Laporan Praktikum Kultur Jaringan seperti apa yang diharapkan penulis.

Laporan Praktikum Kultur Jaringan ini disusun untuk memenuhi tugas mata kuliah Kultur Jaringan dan untuk mempraktekkan teori-teori yang telah didapatkan dalam kegiatan perkuliahan. Laporan ini terselesaikan tidak terlepas dari bantuan dari berbagai pihak yang telah membantu penulis menyelesaikan laporan ini. Oleh karena itu, penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada :

1. Dekan Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret Surakarta
2. Tim Dosen pengampu mata kuliah Kultur Jaringan Fakultas Pertanian UNS
3. Co-Ass. yang telah banyak membimbing dan mengarahkan pratikum
4. Rekan-rekan dan semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu

Penulis menyadari bahwa Laporan Praktikum Kultur Jaringan ini tentu masih banyak kekurangan. Sehingga, penulis mengharapkan saran yang positif dan kritik yang membangun yang Insya Allah akan menjadi bahan perbaikan yang lebih lanjut. Akhir kata penulis berharap laporan ini dapat bermanfaat dan berguna bagi kita semua terutama mahasiswa Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret Sutakarta yang sedang menempuh mata kuliah ini.

Surakarta, 31 Mei 2013

Penyusun

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
Acara I Pembuatan Larutan Stok, Media Kultur, dan Sterilisasi Alat	1
A. Pendahuluan	1
1. Latar Belakang	1
2. Tujuan Praktikum	2
B. Tinjauan Pustaka	3
C. Metode Praktikum	4
1. Waktu dan Tempat Praktikum.....	4
2. Alat	4
3. Bahan	5
4. Cara Kerja	5
D. Hasil pengamatan dan Pembahasan	8
1. Hasil Pengamatan.....	8
2. Pembahasan	10
E. Kesimpulan dan Saran	13
1. Kesimpulan	13
2. Saran.....	14
Daftar Pustaka.....	15
Acara II Kultur Jaringan Sansivera	16
A. Pendahuluan	16
1. Latar Belakang	16
2. Tujuan Praktikum	17
B. Tinjauan Pustaka	17

C. Metode Praktikum	19
1. Waktu dan Tempat Praktikum.....	19
2. Alat	19
3. Bahan	19
4. Cara Kerja	19
D. Hasil pengamtan dan Pembahasan	21
1. Hasil Pengamatan.....	21
2. Pembahasan	21
E. Kesimpulan dan Saran	24
1. Kesimpulan.....	24
2. Saran.....	24
Daftar Pustaka.....	25
Acara III Kultur Jaringan Nanas	26
A. Pendahuluan	26
1. Latar Belakang	26
2. Tujuan Praktikum	27
B. Tinjauan Pustaka	27
C. Metode Praktikum	29
1. Waktu dan Tempat Praktikum.....	29
2. Alat	29
3. Bahan	29
4. Cara Kerja	29
D. Hasil pengamtan dan Pembahasan	31
1. Hasil Pengamatan.....	31
2. Pembahasan	31
E. Kesimpulan dan Saran	33
1. Kesimpulan.....	33
2. Saran.....	33
Daftar Pustaka.....	34

Acara IV Kultur Jaringan Mawar	35
A. Pendahuluan	35
1. Latar Belakang	35
2. Tujuan Praktikum	36
B. Tinjauan Pustaka	36
C. Metode Praktikum	37
1. Waktu dan Tempat Praktikum.....	37
2. Alat	38
3. Bahan	38
4. Cara Kerja	38
D. Hasil pengamatan dan Pembahasan	40
1. Hasil Pengamatan.....	40
2. Pembahasan	40
E. Kesimpulan dan Saran	43
1. Kesimpulan.....	43
2. Saran.....	43
Daftar Pustaka.....	44
Acara V Kultur Jaringan Wortel	45
A. Pendahuluan	45
1. Latar Belakang	45
2. Tujuan Praktikum	46
B. Tinjauan Pustaka	46
C. Metode Praktikum	47
1. Waktu dan Tempat Praktikum.....	47
2. Alat	47
3. Bahan	47
4. Cara Kerja	48
D. Hasil pengamatan dan Pembahasan	49
1. Hasil Pengamatan.....	49
2. Pembahasan	49

E. Kesimpulan dan Saran	52
1. Kesimpulan.....	52
2. Saran.....	52
Daftar Pustaka.....	53
Acara VI Sub Kultur	54
A. Pendahuluan.....	54
1. Latar Belakang	54
2. Tujuan Praktikum	55
B. Tinjauan Pustaka	55
C. Metode Praktikum	57
1. Waktu dan Tempat Praktikum.....	57
2. Alat	57
3. Bahan	58
4. Cara Kerja	58
D. Hasil pengamatan dan Pembahasan	59
1. Hasil Pengamatan.....	59
2. Pembahasan	59
E. Kesimpulan dan Saran	61
1. Kesimpulan.....	61
2. Saran.....	62
Daftar Pustaka.....	63

LAMPIRAN

DAFTAR TABEL

Tabel 1.1	Alat yang Digunakan dalam Pembuatan Media.....	08
Tabel 1.2	Pembuatan Larutan Stock	09
Tabel 2.1	Pengaruh BAP terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Eksplan Sansivera.....	21
Tabel 3.1	Pengaruh BAP terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Eksplan Nanas (<i>Ananas comosus</i>).....	31
Tabel 4.1	Pengaruh BAP Terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Eksplan Mawar (<i>Rosa sp.</i>).....	40
Tabel 5.1	Pengaruh BAP Terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Eksplan Wortel (<i>Daucus carota</i>)	49
Tabel 6.1	Hasil Pengamatan Sub Kultur Tanaman Krisan (<i>Chrysanthemum grandiflorum</i>).....	59

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.1	Botol kultur	08
Gambar 1.2	Bahan pembuatan media.....	08
Gambar 1.3	Timbangan analitik.....	08
Gambar 1.4	Alat-alat pembuatan media	08
Gambar 1.5	Alat pemanas.....	08
Gambar 1.6	Media.....	08
Gambar 1.7	Penambahan Aquadest pada Larutan Media.....	09
Gambar 1.8	Pengukuran pH Larutan Media	09
Gambar 1.9	Penambahan Gula pada Larutan Media.....	09
Gambar 1.10	Media Kultur Siap Digunakan.....	09
Gambar 1.11	Media Kultur Dalam Botol Kultur.....	09
Gambar 1.12	Media Kultur Akan Disterilisasi Dalam <i>Autoclave</i>	10
Gambar 2.1	foto awal eksplan Sansivera.....	21
Gambar 2.2	foto akhir eksplan Sansivera	21
Gambar 3.1	foto awal eksplan Nanas	31
Gambar 3.2	foto akhir eksplan Nanas	31
Gambar 4.1	foto awal eksplan Mawar.....	40
Gambar 4.2	foto akhir eksplan Mawar	40
Gambar 5.1	foto awal eksplan Wortel.....	49
Gambar 5.2	foto akhir eksplan Wortel	49
Gambar 6.1	foto awal plantlet Anggrek	59
Gambar 6.2	foto akhir plantlet Anggrek.....	59

LAMPIRAN

ACARA I
PEMBUATAN LARUTAN STOK, MEDIA KULTUR DAN STERILISASI
ALAT

A. Pendahuluan

1. Latar Belakang

Kultur jaringan merupakan salah satu perbanyakan tanaman secara vegetatif dengan cara menumbuhkan bagian-bagian tertentu dari tanaman, seperti sel, jaringan dan organ dalam kondisi yang aseptik dan secara in vitro. Kultur jaringan juga dapat didefinisikan sebagai suatu teknik menumbuh kembangbiakkan bagian tanaman dalam kondisi aseptik secara in vitro, yang dicirikan oleh kondisi kultur yang aseptik, penggunaan media kultur buatan dengan kandungan nutrisi yang lengkap dan zat pengatur tumbuh serta kondisi ruang kultur yang suhu dan pencahayaannya terkontrol.

Media yang umum digunakan dalam kultur jaringan adalah medium padat, medium semi padat dan medium cair. Keadaan fisik media akan mempengaruhi pertumbuhan kultur, kecepatan pertumbuhan dan diferensiasinya. Keadaan fisik media ini mempengaruhi pertumbuhan antara lain karena efeknya terhadap osmolaritas larutan dalam media serta ketersediaan oksigen bagi pertumbuhan eksplan yang dikulturkan.

Berbagai komposisi media kultur telah diformulasikan untuk mengoptimalkan pertumbuhan dan perkembangan tanaman yang dikulturkan. Unsur-unsur yang dibutuhkan pada media kultur jaringan antara lain seperti unsur mikro, unsur makro, gula, vitamin, zat pengatur tumbuh, dan agar-agar. Media yang digunakan pada praktikum ini adalah media MS (*Murashige and Skoog*). Media ini mempunyai konsentrasi yang tepat untuk semua jenis eksplan. Media yang sudah jadi ditempatkan pada tabung reaksi atau botol-botol kaca. Media yang digunakan juga harus disterilkan dengan cara memanaskannya dengan autoklaf.

Komposisi dan konsentrasi hormon pertumbuhan yang ditambahkan dalam media sangat mempengaruhi arah pertumbuhan dan regenerasi eksplan yang dikulturkan. Komposisi dan konsentrasi hormon pertumbuhan yang ditambahkan ke dalam media kultur sangat tergantung dari jenis eksplan yang dikulturkan dan tujuan pengkulturannya. Konsentrasi hormon pertumbuhan optimal yang ditambahkan ke dalam media tergantung pula dari eksplan yang dikulturkan serta kandungan hormon pertumbuhan endogen yang terdapat pada eksplan tersebut. Komposisi yang sesuai ini dapat diperkirakan melalui percobaan-percobaan yang telah dilakukan sebelumnya disertai percobaan untuk mengetahui komposisi hormon pertumbuhan yang sesuai dengan kebutuhan dan arah pertumbuhan eksplan yang diinginkan.

2. Tujuan Praktikum

Pada praktikum acara Pembuatan Larutan Stok, Media Kultur Dan Sterilisasi Alat mempunyai tujuan yaitu :

- a. Mengetahui langkah-langkah pembuatan larutan stok
- b. Mengetahui langkah-langkah dalam pembuatan media kultur jaringan
- c. Mengetahui prosedur sterilisasi alat-alat penanaman

B. Tinjauan Pustaka

Kultur jaringan merupakan metode untuk mengisolasi bagian tanaman seperti jaringan serta menumbuhkannya dalam kondisi aseptik sehingga dapat menjadi tanaman lengkap. Dengan kultur jaringan dapat diperoleh perbanyakan mikro atau produksi tanaman dalam jumlah besar dan waktu yang diperlukan relative lebih singkat (Susila 2006).

Media adalah tempat bagi jaringan untuk tumbuh dan mengambil nutrisi yang mendukung kehidupan jaringan. Media tumbuh menyediakan berbagai bahan yang diperlukan jaringan untuk hidup dan memperbanyak dirinya. Ada dua penggolongan media tumbuh yaitu media padat dan media cair. Media padat umumnya berupa padatan gel seperti agar, nutrisi dicampurkan pada agar. Media cair adalah nutrisi yang dilarutkan di air. Media cair dapat bersifat

tenang atau dalam kondisi selalu bergerak tergantung kebutuhan (Hemawan dan Na'iem 2006).

Masalah pada kegiatan *in vitro* bukan hanya dari penanaman eksplan saja, pertumbuhan dan perkembangannya dalam botol saja tetapi juga sangat bisa dipengaruhi oleh persyaratan kegiatan prapelakuan. Pada kasus ini masalah akan muncul bila kegiatan prapelakuan tidak dilakukan. Praperlakuan dilakukan umumnya untuk tujuan-tujuan tertentu, secara umum adalah dalam rangka menghilangkan hambatan. Hambatan dapat berupa hambatan kemikalis, fisik, biologis. Hambatan berupa bahan kimia penanganannya harus dimulai dari pengenalan senyawa aktif, potensi gangguan, proses reaksi dan alternatif pengelolaannya (Anjar 2008).

Sel-sel yang heterogen dari jaringan yang kompleks menunjukkan pertumbuhan yang berbeda. Dengan mengubah komposisi media, terjadi seleksi sel-sel yang mempunyai sifat khusus. Hal ini berarti bahwa media tumbuh menentukan komposisi kalus. Sel yang jumlahnya paling banyak merupakan sel-sel yang paling cepat membelah dan sel yang paling sedikit adalah sel yang paling lambat pertumbuhannya. Media seleksi dapat berdasarkan unsur-unsur hara atau zat pengatur tumbuh yang ditambahkan ke dalam media (Luri 2009).

Ada tiga cara utama yang umum dipakai dalam sterilisasi yaitu dengan penggunaan panas, menggunakan bahan kimia dan dengan cara penyaringan (filtrasi). Bila panas digunakan bersama-sama dengan uap disebut sterilisasi panas lembab atau sterilisasi basah. Bila tanpa kelembaban maka disebut sterilisasi panas kering atau sterilisasi kering. Dari pihak lain, sterilisasi kimiawi dapat dilakukan dengan menggunakan gas atau radiasi atau bahan kimiawi. Pemilihan metode didasarkan pada sifat bahan yang akan disterilkan. Yang umum digunakan secara rutin di laboratorium adalah menggunakan panas (Hadioetomo 2006).

Pembuatan media pada prinsipnya dilakukan dengan melarutkan semua komponen media dalam air sesuai dengan konsentrasinya pada formulasi yang diinginkan. Namun, penimbangan satu persatu komponen media untuk setiap

pembuatan media kultur adalah tidak praktis dan hanya dapat dilakukan jika jumlah zatnya cukup besar. Masalah tersebut dapat diatasi dengan pembuatan larutan stok. Larutan stok adalah larutan berisi satu atau lebih komponen media yang konsentrasinya lebih besar dari konsentrasi komponen tersebut dalam formulasi media akan dibuat (Torres 2005).

C. Metode Praktikum

1. Waktu dan Tempat Praktikum

Praktikum acara Pembuatan Larutan Stok, Media Kultur Dan Sterilisasi Alat dilaksanakan pada hari Jumat, 05 April 2013 pukul 13.00 s/d 15.00 WIB yang bertempat di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan dan Bioteknologi Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret Surakarta.

2. Alat

a. Alat

- 1) *Laminar Air Flow Cabinet* (L AFC), lengkap dengan lampu Bunsen yang berisi spirtus
- 2) Petridish dan botol-botol kultur
- 3) peralatan diseksi, yaitu pinset besar/kecil, pisau pames dan gunting eksplan
- 4) Erlemeyer

b. Alat pembuatan media tanam

- 1) Timbangan analitik
- 2) Botol-botol kultur
- 3) Magnetik stirrer
- 4) pH meter
- 5) Gelas piala
- 6) Pipet
- 7) Plastik pp 0,3 mm
- 8) Karet gelang
- 9) Kertas label

3. Bahan

- a. Aquadest
- b. Larutan stok, terdiri dari hara makro dan mikro, vitamin serta ZPT (Zat Pengatur Tumbuh)
- c. Agar-agar
- d. Gula
- e. NaOH 1 N dan HCL 1 N

4. Cara Kerja

a. Pembuatan Larutan Stok

Bahan-bahan kimia komponen media dibutuhkan dalam jumlah yang relatif kecil, oleh karena itu bahan-bahan tersebut disediakan dalam bentuk larutan yang disebut sebagai larutan stok.

Larutan stok merupakan larutan bahan-bahan komponen media yang besarnya telah dikalikan menjadi beberapa konsentrasi. Sehingga larutan stok ini berfungsi untuk memudahkan penimbangan dan menghindari kesalahan penimbangan bahan-bahan yang diperlukan dalam jumlah yang relatif kecil.

Langkah-langkah pembuatan larutan stok, meliputi :

1) Larutan stok media

- a) Menimbang bahan-bahan kimia yang telah dikalikan menjadi beberapa kali konsentrasi, misalnya untuk unsur hara makro dikalikan 20 dan unsur hara mikro dikalikan 100 kali konsentrasi.
- b) Melarutkan bahan-bahan kimia tersebut ke dalam aquadest dengan volume tertentu, misalnya 500 ml.
- c) Memasukkan masing-masing larutan ke dalam botol dan menyimpannya ke dalam refrigerator.

2) Larutan stok zat pengatur tumbuh

Zat pengatur tumbuh hanya diperlukan dalam jumlah sedikit sekali. Biasanya zat pengatur tumbuh ini dibuat dengan kepekatan 1-10 mg/ml. cara membuat larutan stok masing-masing ZPT adalah sebagai berikut :

- a) Menghitung kebutuhan bahan BAP 100 ppm sebanyak 300 ml adalah sebagai berikut :

$$\begin{aligned} 100 \text{ ppm} &= 100 \text{ mg/l} \\ &= 30 \text{ mg}/0,3 \text{ l} \\ &= 30 \text{ mg}/300 \text{ ml} \end{aligned}$$

- b) Menghitung kebutuhan bahan IBA 100 ppm sebanyak 100 ml adalah sebagai berikut :

$$\begin{aligned} 100 \text{ ppm} &= 100 \text{ mg/l} \\ &= 10 \text{ mg}/0,1 \text{ l} \\ &= 10 \text{ mg}/100 \text{ ml} \end{aligned}$$

- c) Melarutkan bahan dengan alkohol atau NaOH 1 N kemudian ditambah dengan aquadest sampai 300 ml untuk BAP dan 100 ml untuk IBA.

- d) Memasukkan masing-masing larutan tersebut ke dalam botol dan menyimpannya ke dalam refrigerator.

b. Pembuatan Media Kultur

Media kultur merupakan salah satu faktor penentu keberhasilan perbanyakan tanaman secara kultur jaringan. Berbagai komposisi media kultur telah diformulasikan untuk mengoptimalkan pertumbuhan dan perkembangan tanaman yang dikulturkan. Contohnya komposisi Knudson C (1946), Heller (1953), Nitsch dan Nitsch (1972), Gamborg dkk. B5 (1976), Linsmaier dan Skoog-LS (1965), Murashige dan Skoog-MS (1962) serta woody plant medium-WPM (Lloyd dan McCown, 1980). Komponen media kultur yang lengkap sebagai berikut :

- 1) Air distilata (aquadest) atau air bebas ion sebagai pelarut atau solven.
- 2) Hara-hara makro dan mikro
- 3) Gula (umumnya sukrosa) sebagai sumber energi
- 4) Vitamin, asam amino dan bahan organik lain
- 5) Zat pengatur tumbuh
- 6) Suplemen berupa bahan-bahan alami, jika diperlukan
- 7) Agar-agar atau gelrite sebagai pematat media.

Langkah-langkah pembuatan media (1 liter) adalah sebagai berikut :

- 1) Mengambil masing-masing larutan stok sesuai dengan ukuran yang telah ditentukan dan memasukkannya ke dalam gelas piala.
- 2) Mengambil larutan stok ZPT sesuai dengan perlakuan, misalnya :
- 3) Menambah aquadest sampai 1000 ml.
- 4) Menambah gula sebanyak 30 gram.
- 5) Mengatur pH dalam kisaran 5,8-6,3 dengan menambahkan beberapa tetes NaOH untuk menaikkan pH atau HCL untuk menurunkan pH. Pada saat pengukuran pH, larutan media diaduk dengan magnetik stirer.
- 6) Menambahkan agar-agar 8 gram kemudian dididihkan
- 7) Menuangkan larutan media ke dalam botol-botol kultur kurang lebih 25 ml tiap botol
- 8) Menutup botol berisi larutan media dengan plastik
- 9) Memasukkan botol-botol berisi media ke dalam autoklaf untuk proses sterilisasi pada tekanan $1,5 \text{ kg/cm}^2$ selama 45 menit
- 10) Menyimpan media pada rak penyimpanan media yang bertujuan untuk mengantisipasi ada tidaknya kontaminasi pada media sehingga dapat dicegah penggunaan media yang telah terkontaminasi pada saat penanaman.




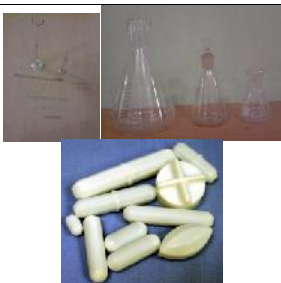


c. Media Penanaman

Dalam praktikum ini, media yang digunakan adalah media Murashige dan Skoog (MS) yang dimodifikasi dengan penambahan ZPT BAP 2 ppm dan IAA 0,5 ppm. Media kultur tersebut digunakan untuk penanaman 4 macam eksplan dengan masing-masing eksplan diulang sebanyak 2 kali untuk setiap mahasiswa / praktikan.

D. Hasil Pengamatan dan Pembahasan






1. Hasil Pengamatan

Tabel 1.1 Alat yang Digunakan dalam Pembuatan Media

Gambar	Langkah Kerja
 Gambar 1.1 Botol kultur	Menyiapkan botol kultur yang telah dicuci dengan bersih.
 Gambar 1.2 Bahan pembuatan media	Menyiapkan bahan-bahan yang dibutuhkan untuk pembuatan media mencakup nutrisi-nutrisi yang dibutuhkan oleh tanaman.
 Gambar 1.3 Timbangan analitik	Menimbang komposisi media pada timbangan analitik sesuai dosis media yang akan dibuat.
 Gambar 1.4 Alat-alat pembuatan media	Mencampurkan media yang telah disiapkan ke dalam tabung erlenmeyer lalu mengukur pH dengan pH meter.
 Gambar 1.5 Alat pemanas	Memanaskan media dengan alat pemanas hingga warna media cukup bening.
 Gambar 1.6 Media	Memindahkan media dari tabung erlenmeyer ke dalam botol kultur \pm 25 ml pada setiap botol kultur.

Sumber: Laporan Sementara

Tabel 1.2 Pembuatan Larutan Stock

Gambar	Langkah Kerja
 <p data-bbox="516 569 946 632">Gambar 1.7 Penambahan Aquadest pada Larutan Media</p>	<p data-bbox="997 428 1295 562">Menambahkan aquadest pada larutan media yang telah disiapkan sampai 1000 ml</p>
 <p data-bbox="509 848 951 911">Gambar 1.8 Pengukuran pH Larutan Media</p>	<p data-bbox="980 674 1312 877">Mengukur pH larutan, pH harus 6,3. Apabila kurang dari 6,3 maka ditambahkan NaOH, apabila pH lebih dari 6,3 maka ditambahkan HCl</p>
 <p data-bbox="513 1129 951 1192">Gambar 1.9 Penambahan Gula pada Larutan Media</p>	<p data-bbox="997 1024 1295 1096">Menambahkan gula 30 gram pada larutan media</p>
 <p data-bbox="537 1413 927 1476">Gambar 1.10 Media Kultur Siap Digunakan</p>	<p data-bbox="987 1308 1305 1379">Media kultur yang telah di stirrer dapat digunakan</p>
 <p data-bbox="532 1696 950 1759">Gambar 1.11 Media Kultur Dalam Botol Kultur</p>	<p data-bbox="987 1591 1305 1663">Tuang media kultur dalam botol kultur</p>



Sumber: Laporan Sementara

2. Pembahasan

Dari hasil praktikum yang telah kami lakukan pada kultur jaringan, dimulai dengan sterilisasi alat yang akan digunakan sehari sebelum pelaksanaan praktikum agar alat steril dan tidak terjadi kontaminasi pada saat melakukan praktikum kultur jaringan. Alat-alat yang digunakan harus dalam keadaan steril. Karena kondisi yang seteril akan menentukan berhasil tidaknya suatu kegiatan kultur jaringan. Karena jika kondisinya tidak steril, maka akan mudah terkena kontaminasi sehingga kemampuan ttipotensi sel akan terhambat. Alat-alat logam dan gelas yang digunakan pada saat penanaman dapat disterilkan dalam autoklaf. Alat tanam seperti: pinset dan gunting dapat juga disterilkan dengan pembakaran atau dengan pemanasan dalam bacticinerator ataupun pembakar bunsen.

Pada prinsipnya, sterilisasi autoclave menggunakan panas dan tekanan dari uap air. Temperature sterilasi biasanya 121°C , tekanan yang biasa digunakan antara 15-17,5 psi (*pound per square inci*) atau 1 atm. Lamanya sterilisasi tergantung dari volume dan jenis. Alat-alat dan air disterilkan selama 1 jam, tetapi media antara 20-40 menit tergantung dari volume bahan yang disterilkan.

Zat kimia yang digunakan umumnya alkohol 70% karena fungsinya dalam menyeterilkan bahan tanam lebih aman. Penambahan bahan-bahan kimia lain yaitu Menurut Lay dan Hastowo (1992), bahan yang menjadi rusak bila disterilkan pada suhu yang tinggi dapat disterilkan secara kimiawi dengan menggunakan gas.

Umumnya jaringan dikulturkan pada media padat yang dibuat seperti gel dengan menggunakan agar (dari rumput laut) atau pengganti agar seperti Gelrite atau Phytigel (bersumber dari bakteri). Konsentrasi agar yang digunakan berkisar antara 0.7-1.0%. Pada konsentrasi tinggi agar menjadi sangat keras, sedikit sekali air yang tersedia, sehingga difusi hara ke tanaman sangat buruk. Agar dengan kualitas tinggi seperti Difco BiTek mahal harganya tapi lebih murni, tidak mengandung bahan lain yang mungkin mengganggu pertumbuhan. Pengganti lain seperti gelatin kadang-kadang digunakan pada lab komersial. Gel sintetis diketahui dapat menyebabkan *hyperhidration* (vitrifikasi) yang merupakan problem fisiologis yang terjadi pada kultur. Untuk mengatasi masalah ini, produk baru bernama Agargel telah diproduksi oleh Sigma. Produk ini merupakan campuran agar dan gel sintetis dan menawarkan kelebihan kedua produk sekaligus mengurangi problem vitrifikasi. Produk ini dapat dibuat di lab dengan mencampurkan 1 g Gelrite (Phytigel) dengan 4 g agar sebagai agen pengental untuk 1 L media (Sihotang 2009).

Cara pembuatan 1 L media campuran 50 ml stok makro, 2 ml stok mikro, 10 ml NaFeEDTA, 10 ml vitamin, ditambah 100 mg myoinositol dan gula/sukrosa 40 g. dilarutkan dalam 1 L air. tambahkan ZPT yang kita pakai (sitokini/auksin). kemudian di pH 5,8. selanjutnya ditambah agar-agar 8,5 g. larutan lalu dimasak sampai mendidih. masukkan dalam botol kultur lalu di autoclaf (sterilisasi), dinginkan dan media siap dipakai (David 2008).

Sebagai pelengkap nutrisi di tambahkan asam glisin, myoinositol, asam nikotinal, tiamin HCl (Vitamin B1), pirodoksin HCl (Vitamin B6), niasin dan sukrosa (Rahardja 2004). Vitamin yang paling sering digunakan dalam media kultur jaringan tanaman, adalah thiamine (vitamin B1), nicotinic acid (niacin) dan pyridoxine (vitamin B6). Thiamine merupakan vitamin yang esensial dalam kultur jaringan tanaman. Nicotinic acid, penting keberadaannya di dalam media kultur akar tomat, ercis dan lobak, begitu juga pyroxidin diperlukan dalam kultur akar tomat (Anonim 2009).

pH media biasanya diatur 5.5 pada saat persiapan. pH media dapat mempengaruhi kelarutan hara, pengambilan hara oleh tanaman dalam kultur dan pembekuan agar atau pengaruh terhadap morfologi. Satu hal yang seringkali diabaikan adalah perubahan pH pada media akibat proses pemanasan dengan autoklaf (Udayana 2008).

Pada praktikum kali ini, untuk mensterilisasi media dan alat-alat untuk penanaman eksplan menggunakan metode sterilisasi pemanasan basah dengan menggunakan autoklaf. Sedangkan eksplan yang akan dikulturkan pada praktikum ini disterilkan secara kimiawi yaitu dengan merendam eksplan dalam larutan Dithane M-45 3 mg/l yaitu sebagai fungisida yang berfungsi untuk mencegah timbulnya jamur. Setelah itu dilanjutkan dengan merendam eksplan dalam larutan Chlorox 5,25% selama kurang lebih 2 menit atau lebih tergantung dari tanaman yang disterilkan. Tidak hanya media dan eksplan saja yang harus steril, alat-alat yang digunakan seperti pinset dan pisau juga harus direndam dalam larutan alkohol 70% atau dengan dibakar pada nyala api bunsen. Hal tersebut bertujuan untuk menghindari kontaminasi dalam media kultur.

Proses sterilisasi memungkinkan dapat terjadi kegagalan sterilisasi seperti ketidak berhasilan sterilisasi media akibat adanya salah satu atau beberapa kunci pada autoklaf yang tidak menutup dengan sempurna sehingga tekanan yang timbul dari autoklaf bocor ke luar. Selain itu, kegagalan sterilisasi akibat sebelum tekanan dalam autoklaf menurun dan semua air yang ada di autoklaf belum habis autoklaf sudah terbuka sehingga dapat menimbulkan ledakan atau kerusakan klep pengatur tekanan pada autoklaf.

Tahap-tahap pembuatan media selama praktikum pembuatan stok yang pertama yaitu dilakukan pengukuran bahan-bahan kimia yang akan digunakan sebagai bahan pembuatan media, setelah itu ditambahkan aquadest sampai volume mencapai 1500 ml, dan ditambahkan gula sekaligus campuran larutan tadi diletakkan diatas *magnetic stirrer* biarkan sampai homogen, setelah itu dilakukan pengukuran pH menggunakan pH

meter, media yang akan digunakan harus mempunyai pH netral tidak boleh terlalu asam maupun basa. Setelah larutan media yang sudah homogen dan kadar pH netral larutan siap dimasukkan ke dalam botol kultur ± 2 cm, botol-botol kultur yang sudah terisi media ditutup rapat-rapat menggunakan plastik dengan bantuan karet gelang, kemudian siap disterilisasi dengan autoklaf dengan tekanan 1 atm untuk membunuh mikroorganisme yang tidak diinginkan untuk menghindari kontaminasi.

E. Kesimpulan dan Saran

1. Kesimpulan

Berdasarkan pengamatan yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

- a. kondisi yang steril akan menentukan berhasil tidaknya suatu kegiatan kultur jaringan.
- b. Media adalah tempat bagi jaringan untuk tumbuh dan mengambil nutrisi yang mendukung kehidupan jaringan karena media menyediakan berbagai bahan yang diperlukan jaringan untuk hidup dan memperbanyak dirinya
- c. Ada dua penggolongan media tumbuh: media padat dan media cair.
- d. Media *Murashige dan Skoog* (MS) sering digunakan karena cukup memenuhi unsur hara makro, mikro dan vitamin untuk pertumbuhan tanaman.
- e. Hara makro tersebut meliputi, Nitrogen (N), Fosfor (P), Kalium (K), Kalsium (Ca), Sulfur (S) dan Magnesium (Mg).
- f. Faktor yang perlu diperhatikan dalam penggunaan ZPT adalah konsentrasi, urutan penggunaan dan periode masa induksi dalam kultur tertentu.
- g. Sterilisasi terhadap alat – alat, media dan bahan tanam dilakukan agar bersih dari kontaminan.

2. Saran

Saran yang diberikan selama praktikum ini adalah:

- a. Pembuatan larutan stok mikro dan stok mikro dalam media MS harus dilakukan dengan teliti agar eksplan dapat tumbuh dengan baik.
- b. Sterilisasi media harus dilakukan dengan baik, agar tidak terjadi kontaminasi

DAFTAR PUSTAKA

- Anjar 2008. Masalah-masalah dalam Kultur Jaringan. *www.anjarborneo.blogspot.com*. Diakses tanggal 05 Mei 2013.
- Anonim 2009. Vitamin, Asam Amino, Dan Senyawa N Organik. (On-line). *http://e-learning.unram.ac.id/KulJar/BAB%20III%20MEDIA/III3%20Komposisi%20VIT%20%20&%20AS%20AMINO.htm*. Diakses pada tanggal 09 Mei 2013.
- David 2008. Pembuatan Media MS Untuk Kultur Jaringan. (On-line). *http://agla08.multiply.com/journal/item/3/Pembuatan_Media_MS_Untuk_Kultur_Jaringan*. Diakses pada tanggal 09 Mei 2013.
- Hadioetomo P S 2006. *Mikrobia Dasar Dalam Praktek, Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium*. Jakarta: Gramedia.
- Hemawan T dan Na'iem 2006. Pengaruh Jenis Media dan Konsentrasi Zat Pengatur Tumbuh Terhadap Perakaran pada Kultur Jaringan Cendana (*Santalum album* Linn.). *Jurnal Agrosains*. Vol 19 (2) : 103-109.
- Luri 2009. Kultur Kalus. *http://kultur-jaringan.blogspot.com*. Diakses pada tanggal 09 Mei 2013.
- Sihotang 2009. Pengertian Kultur Jaringan (Kultur In Vitro). (on-line). *http://www.benss.co.cc/budidaya-tanaman/140-perbanyak-tanaman-dengan-kultur-jaringan?tmpl=component&print=1&page*. Diakses pada tanggal 09 Mei 2013.
- Susila Anas 2006. *Panduan Budidaya Tanaman Sayuran*. Bogor : IPB.
- Torres K C 2005. *Tissue Culture techniques for Horticultural Crops*. New York: Von Hostrand Reinheld.
- Udayana 2008. Pembentukan Kultur Aseptik. (On-line). *http://www.fp.unud.ac.id/biotek/kultur-jaringan-tanaman/5-pembentukan-kultur-aseptik/*. 09 Mei 2013.

ACARA II

KULTUR JARINGAN SANSEVIERA (*Sansevieria trifasciata*)

A. Pendahuluan

1. Latar Belakang

Sansevieria atau lidah mertua adalah marga tanaman hias yang cukup populer sebagai penghias bagian dalam rumah karena tanaman ini dapat tumbuh dalam kondisi yang sedikit air dan cahaya matahari. Sansevieria memiliki daun keras, sukulen, tegak, dengan ujung meruncing. Warna daun Sansevieria beragam, mulai hijau tua, hijau muda, hijau abu-abu, perak, dan warna kombinasi putih kuning atau hijau kuning. Motif alur atau garis-garis yang terdapat pada helai daun juga bervariasi, ada yang mengikuti arah serat daun, tidak beraturan, dan ada juga yang zig-zag. Keistimewaan lidah mertua adalah memiliki daya adaptasi yang tinggi terhadap lingkungan. Penelitian NASA bekerja sama dengan ALCA telah menemukan bukti-bukti bahwa tanaman ini secara alami mampu mengurangi polusi tersebut. Ditinjau berdasarkan jenisnya sansevieria ada dua jenis yakni yang pertama yaitu sansevieria keturunan asli/spesies sedangkan yang kedua adalah jenis hasil persilangan/hibridasi yang bisa disebut dengan jenis sansevieria hibrid.

Melalui kultur jaringan tanaman dapat diperbanyak setiap waktu sesuai kebutuhan karena faktor perbanyakannya yang tinggi. Bibit dari varietas unggul yang jumlahnya sangat sedikit dapat segera dikembangkan melalui kultur jaringan. Pada tanaman perbanyak melalui kultur jaringan, bila berhasil dapat lebih menguntungkan karena sifatnya akan sama dengan induknya (seragam) dan dalam waktu yang singkat bibit dapat diproduksi dalam jumlah banyak dan bebas penyakit.

Kultur jaringan merupakan metode perbanyak vegetatif dengan menumbuhkan sel, organ atau bagian tanaman dalam media buatan secara steril dengan lingkungan yang terkendali. Kultur jaringan memiliki teknik perbanyak 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.

Metode kultur jaringan dikembangkan untuk membantu memperbanyak tanaman, khususnya untuk tanaman yang sulit dikembangbiakkan secara generatif. Bibit yang dihasilkan dari kultur jaringan mempunyai beberapa keunggulan, yaitu mempunyai sifat yang identik dengan induknya, dapat diperbanyak dalam jumlah yang besar sehingga tidak terlalu membutuhkan tempat yang luas, mampu menghasilkan bibit dengan jumlah besar dalam waktu yang singkat, kesehatan dan mutu bibit lebih terjamin, kecepatan tumbuh bibit lebih cepat dibandingkan dengan perbanyakan konvensional.

2. Tujuan Praktikum

Pada praktikum acara Kultur Jaringan Sansivera mempunyai tujuan yaitu :

- a. Mengetahui teknik kultur jaringan Sansivera
- b. Mengetahui pengaruh BAP terhadap pertumbuhan dan perkembangan eksplan Sansivera.

B. Tinjauan Pustaka

Kultur jaringan dalam bahasa asing disebut sebagai *tissue culture*, *weefsel cultuus* atau *gewebe kultur*. Kultur adalah budidaya dan jaringan adalah sekelompok sel yang bentuk dan fungsi sama. Maka kultur jaringan berarti membudidayakan suatu jaringan tanaman menjadi tanaman kecil yang mempunyai sifat seperti induknya. Pelaksanaan kultur jaringan berdasarkan teori sel seperti yang telah dikemukakan oleh Schleiden dan Schwann, yaitu bahwa sel mempunyai kemampuan autonom, bahkan mempunyai kemampuan totipotensi. Totipotensi yaitu kemampuan setiap sel, dari mana saja sel tersebut diambil, apalagi diletakkan dalam lingkungan yang sesuai akan dapat tumbuh menjadi tanaman yang sempurna (Suryowinoto 1996).

Perbanyak tanaman secara kultur jaringan bertujuan untuk mendapatkan tanaman dalam jumlah banyak dan seragam pertumbuhannya. Seiring dengan permintaan bibit sansivera yang semakin meningkat, cara perbanyak secara konvensional menggunakan stek, anakan, dan cabut pucuk tidak lagi bisa mencukupi. Satu-satunya cara perbanyak yang sanggup memenuhi kebutuhan permintaan bibit dalam jumlah besar itu hanyalah kultur jaringan. Eksplan yang digunakan adalah jaringan yang masih muda. Jaringan muda ini tersusun atas sel-sel yang masih muda dan aktif membelah sehingga diharapkan bisa menghasilkan tanaman yang sempurna (Purwanto 2008).

Menurut Gunawan (1988), arah pertumbuhan dan perkembangan atau regenerasi eksplan ditentukan oleh beberapa faktor yaitu: komposisi media serta jenis dan konsentrasi zat pengatur tumbuh, bagian tanaman yang digunakan sebagai eksplan dan lingkungan tempat eksplan dikulturkan. Medium yang digunakan untuk membiakan potongan jaringan tersebut mengandung makanan berupa unsur – unsur hara makro dan mikro. Penggunaan eksplan dari jaringan muda lebih sering berhasil karena sel-selnya aktif membelah, dinding sel tipis karena belum terjadi penebalan lignin dan selulose yang menyebabkan kekakuan pada sel. Gunawan (1995) menyatakan bagian tanaman yang dapat digunakan sebagai eksplan adalah : pucuk muda, batang muda, daun muda, kotiledon, hipokotil.

Pelaksanaan teknik kultur jaringan memerlukan berbagai prasyarat untuk mendukung kehidupan jaringan yang dibiakkan. Yang paling esensial adalah wadah dan media tumbuh yang steril. Media adalah tempat bagi jaringan untuk tumbuh dan mengambil nutrisi yang mendukung kehidupan jaringan. Media tumbuh menyediakan berbagai bahan yang diperlukan jaringan untuk hidup dan memperbanyak dirinya. Ada dua penggolongan media tumbuh: media padat dan media cair. Media padat pada umumnya berupa padatan gel, seperti agar. Nutrisi dicampurkan pada agar. Media cair adalah nutrisi yang dilarutkan di air. Media cair dapat bersifat tenang atau dalam kondisi selalu bergerak, tergantung kebutuhan (Willadsen 1979).

Struktur kalus dari berbagai varietas yang digunakan berbeda-beda tergantung kepada formulasi yang digunakan. Biasanya struktur kalus menggambarkan daya regenerasinya membentuk tunas dan akar. Kalus yang berbentuk globular (nodul-nodul) dan berwarna bening biasanya mempunyai kemampuan lebih tinggi untuk membentuk tunas daripada kalus yang bersifat kompak dan berwarna coklat-kehitaman. Dalam hal ini media yang digunakan untuk memacu regenerasi kalus akan sangat menentukan. Keseimbangan nutrisi dalam media tumbuh sangat mempengaruhi pertumbuhan kalus maupun diferensiasinya membentuk tunas (Purnamaningsih 2006).

C. Metode Praktikum

1. Waktu dan Tempat Praktikum

Praktikum acara Kultur Jaringan Sansivera dilaksanakan pada hari Jumat, 19 April 2013 pukul 13.00 s/d 15.00 WIB yang bertempat di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan dan Bioteknologi Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret Surakarta.

2. Alat

- a. *Laminar Air Flow Cabinet* (L AFC), lengkap dengan lampu Bunsen yang berisi spirtus.
- b. Petridish dan botol-botol kultur
- c. Peralatan diseksi yaitu pinset besar/kecil dan pisau pemes.

3. Bahan

- a. Eksplan : Daun Sansivera (*Sansevieria trifasciata*)
- b. Media kultur
- c. Alkohol 70 %
- d. Aquadest steril
- e. Spirtus
- f. Chlorox (Sunclin).

4. Cara Kerja

- a. Persiapan eksplan
- b. Sterilisasi eksplan (dilakukan dalam L AFC)

- 1) Merendam eksplan dalam larutan pencuci piring \pm 12 jam, dilanjutkan dengan chlorox 5,25 % (Sunclin 100 %) selama \pm 3 menit.
 - 2) Membilas eksplan dengan aquadest steril.
 - 3) Sedikit melakukan pembakaran pada eksplan
- c. Penanaman eksplan
- 1) Membuka plastik penutup botol media kultur .
 - 2) Mengambil eksplan dan menanamnya di media kultur dengan pinset. Setelah digunakan, pinset harus selalu dibakar di atas api.
 - 3) Selama penanaman, mulut botol harus selalu dekat dengan api untuk menghindari kontaminasi.
- d. Pemeliharaan
- 1) Botol-botol media berisi eksplan ditempatkan di rak-rak kultur.
 - 2) Lingkungan di luar botol harus dijaga suhu, kelembaban dan cahayanya.
 - 3) Penyemprotan botol-botol kultur dengan spirtus dilakukan 2 hari sekali untuk mencegah kontaminasi.
- e. Pengamatan selama 5 minggu, yang diamati :
- 1) Saat muncul akar, tunas, daun dan kalus (HST), diamati setiap hari.
 - 2) Jumlah akar, tunas dan daun, diamati 1 minggu sekali.
 - 3) Deskripsi kalus (struktur dan warna kalus), dilakukan pada akhir pengamatan.
 - 4) Persentase keberhasilan, dilakukan pada akhir pengamatan.

D. Hasil Pengamatan dan Pembahasan

1. Hasil Pengamatan

Tabel 2.1 Pengaruh BAP Terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Eksplan Sansivera (*Sansevieria trifasciata*)

Eksplan	Tanggal Pengamatan	Saat Muncul (HST)				Jumlah			Keterangan
		akar	tunas	daun	kalus	akar	tunas	daun	
Sansivera	19 April	-	-	-	-	-	-	-	Sehat
	26 April	-	-	-	-	-	-	-	Kontaminasi Jamur
	03 Mei	-	-	-	-	-	-	-	Kontaminasi Jamur dan bakteri
	04 Mei	-	-	-	-	-	-	-	Kontaminasi Jamur dan bakteri
	07 Mei	-	-	-	-	-	-	-	Kontaminasi Jamur dan bakteri

Sumber: Laporan sementara



Gambar 2.1 Kultur Jaringan Sansivera (Awal Pengamatan)



Gambar 2.2 Kultur Jaringan Sansivera (Akhir Pengamatan)

2. Pembahasan

Penanaman eksplan dilakukan di LAF (*Laminar Air Flow*). Penggunaan alat sebelumnya sudah dalam keadaan steril. Penanaman dilakukan dengan cara mencelupkan scalpel dan pinset ke dalam alcohol 70% lalu dibakar pada nyala api Bunsen. Setelah itu alat baru bisa digunakan untuk menanam. Pada setiap botol kultur, diisi 1 potong eksplan.

ZPT (zat pengatur tumbuh) dibuat agar tanaman memacu pembentukan fitohormon (hormon tumbuhan) yang sudah ada di dalam tanaman atau menggantikan fungsi dan peran hormon bila tanaman kurang dapat memproduksi hormon dengan baik. Sitokinin, hormon tumbuhan turunan adenin berfungsi untuk merangsang pembelahan sel dan diferensiasi mitosis, disintesis pada ujung akar dan ditranslokasi melalui pembuluh xylem. Aplikasi Untuk merangsang tumbuhnya tunas pada kultur jaringan atau pada tanaman induk, namun sering tidak optimal untuk tanaman dewasa. merk dagang antara lain: Novelgrow. Sitokinin alami terdapat pada air kelapa.golongan sitokinin : Kinetin, Benziladenin (BA), 2I-P, Zeatin, Thidiazuron, dan PBA (Plantea 2008).

Pelaksanaan teknik ini memerlukan berbagai prasyarat untuk mendukung kehidupan jaringan yang dibiakkan. Yang paling esensial adalah wadah dan media tumbuh yang steril. Media adalah tempat bagi jaringan untuk tumbuh dan mengambil nutrisi yang mendukung kehidupan jaringan. Media tumbuh menyediakan berbagai bahan yang diperlukan jaringan untuk hidup dan memperbanyak dirinya. Ada dua penggolongan media tumbuh: media padat dan media cair. Media padat pada umumnya berupa padatan gel, seperti agar. Nutrisi dicampurkan pada agar. Media cair adalah nutrisi yang dilarutkan di air. Media cair dapat bersifat tenang atau dalam kondisi selalu bergerak, tergantung kebutuhan (Willadsen 1979).

Didalam medium yang digunakan untuk kultur jaringan mengandung zat pengatur tumbuh. Zat pengatur tumbuh mempunyai peranan yang penting dalam pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Pada kebanyakan kultur jaringan, hanya auksin dan sitokinin yang sering digunakan. Khrisnamoorthy (1981) mengemukakan bahwa adanya zat pengatur tumbuh secara langsung mempengaruhi aktifitas metabolisme dari sel –sel potongan jaringan yang sedang tumbuh.

Selain medium yang digunakan, keberhasilan kultur jaringan juga ditentukan oleh kondisi eksplan yang digunakan. Biasanya bagian tanaman yang digunakan sebagai eksplan adalah bagian dari tanaman yang muda,

jaringan embrio seperti biji dan jaringan meristematik dari tanaman. Menurut Khrisnamoorthy (1981), daerah meristematik mengandung relatif mengandung auksin, giberilin dan sitokinin yang tinggi dan biasanya dapat digunakan sebagai sumber eksplan karena sel yang membentuknya aktif membelah.

Dari hasil praktikum penanaman eksplan daun sansivera didapatkan eksplan yang ditanam dalam botol kultur terkena kontaminasi seminggu setelah penanaman dengan munculnya jamur berwarna putih dengan ciri-ciri tanaman menjadi kering dan muncul hifa jamur pada tanaman yang terserang dan dapat dicirikan dengan adanya garis – garis (seperti benang) yang berwarna putih sampai abu – abu. Seminggu berikutnya eksplan terkontaminasi oleh bakteri dengan dicirikan tanaman akan basah atau menyebabkan adanya lendir, hal ini dikarenakan bakteri langsung menyerang terhadap jaringan dari tubuh tumbuhan itu sendiri. Penyebab terjadinya kontaminasi bisa diakibatkan karena kesalahan pada saat penanaman, saat sterilisasi media dan eksplan atau bahkan pada saat pembuatan media.

Eksplan dapat terkontaminasi oleh berbagai mikroorganisme seperti jamur, bakteri, serangga atau virus. Organisme–organisme tersebut secara universal terdapat pada jaringan tanaman. Banyak yang bersifat non-patogenik, artinya mereka tidak menyebabkan bahaya bagi tanaman inang pada kondisi normal. Kondisi kering dan adanya organisme kompetitor menyebabkan mereka dalam kondisi terkontrol. Tapi, kondisi in vitro yang disukai eksplan, yaitu mengandung sukrosa dan hara dalam konsentrasi tinggi, kelembaban tinggi dan suhu yang hangat, juga disukai mikroorganisme yang seringkali tumbuh dan berkembang sangat cepat, mengalahkan eksplan.

Meskipun usaha sterilisasi untuk menciptakan lingkungan yang aseptik sudah sering dilakukan, namun kontaminasi masih sering terjadi. Kontaminasi yang terjadi diperkirakan disebabkan oleh mikrobia golongan protista. Yaitu Kapang lendir seluler adalah genus *Dictyostelium*. Hal ini

ditentukan berdasarkan morfologi koloni yaitu adanya plasmodium yang tersebar di seluruh permukaan medium kultur yang terkontaminasi. Plasmodium ini lama kelamaan membentuk agregat berupa benang miselium yang sangat halus dan menjadi pusat koloni. Pada pengamatannya, terdapat lender berwarna kuning. Kontaminasi tersebut terjadi pada kultur daun sansivera.

Sebagai sumber utama kontaminan, eksplan memiliki perlakuan khusus pada proses sterilisasinya. Diantaranya adalah pencucian dengan menggunakan deterjen ditujukan untuk menghilangkan sisa-sisa tanah pada umbi eksplan. Selanjutnya di rendam dalam alkohol 70% untuk menghilangkan atau membunuh kuman. Selanjutnya dicelupkan pada larutan klorok untuk membunuh mikroba terutama yang ada di bagian dalam eksplan. Digunakan pula fungisida untuk membunuh spora ataupun cendawan yang diperkirakan ada pada eksplan.

E. Kesimpulan dan Saran

1. Kesimpulan

Kesimpulan dari praktikum kultur daun sansivera adalah:

- a. Penanaman eksplan dilakukan di LAF (*Laminar Air Flow*). Penggunaan alat sebelumnya sudah dalam keadaan steril.
- b. Pada eksplan daun sansivera terjadi kontaminasi oleh jamur yang ditandai dengan munculnya hifa yang cukup tebal berwarna putih.
- c. Pada eksplan daun sansivera terjadi kontaminasi oleh bakteri yang ditandai adanya kontaminan berwarna hitam di bagian tengah botol kultur.

2. Saran

Dalam pemilihan eksplan terutama eksplan yang berasal dari daun, sebaiknya memilih daun yang bertekstur lebih keras / kaku. Begitu juga dalam hal pemotongan eksplan, sebaiknya dibentuk lebih lancip untuk bagian yang akan ditanam guna memudahkan dalam proses penanaman eksplan.

DAFTAR PUSTAKA

- Gunawan I W 1988. Teknik Kultur Jaringan Tumbuhan. Laboratorium Kultur Jaringan PAU. Bioteknologi. Bogor: IPB.
- Gunawan I W 1995. Teknik In vitro Dalam Hortikultura. Jakarta: Penerbit Swadaya.
- Krishnamoorthy 1981. Plant Growth Substances. Application dan Agriculture. Tata M.C. New York: Graw Hill Book Co.
- Plantea 2008. Sedikit Tentang Zat Pengatur Tumbuh. (On-line). <http://yoxx.blogspot.com/2008/05/sedikit-tentang-zat-pengatur-tumbuh.html>. Diakses pada tanggal 09 Mei 2013.
- Purnamaningsih R 2006. Induksi Kalus dan Optimasi Regenerasi Empat Varietas Padi melalui Kultur In Vitro. J. AgroBiogen 2(2): 74-80.
- Purwanto AW 2008. Sansievera Flora Cantik Penyerap Racun. Yogyakarta: Kanisius.
- Suryowinoto, moeso 1996. Pemulihan Tanaman Secara In Vitro. Yogyakarta: Kanisius.
- Willadsen, S.M 1979. A Method For Culture Of Micromanipulated Sheep Embryos And Its Use To Produce Monozygotic Twins. *Nature*, 277:298-300

ACARA III

KULTUR JARINGAN NANAS (*Ananas comosus*)

A. Pendahuluan

1. Latar Belakang

Nanas, nenas, atau ananas (*Ananas comosus* (L.) Merr.) adalah sejenis tumbuhan tropis yang berasal dari Brazil, Bolivia, dan Paraguay. Tumbuhan ini termasuk dalam familia nanas-nanasan (Famili Bromeliaceae). Perawakan (habitus) tumbuhannya rendah, herba (menahun) dengan 30 atau lebih daun yang panjang, berujung tajam, tersusun dalam bentuk roset mengelilingi batang yang tebal.

Perbanyakan nanas biasanya dilakukan secara vegetatif. Namun, sejalan dengan perkembangan teknologi perbanyakan nanas dilakukan secara teknik kultur jaringan dengan menggunakan irisan mahkota buah nanas. Prospek penerapan teknik kultur in-vitro tanaman nanas di Indonesia cukup bagus terutama untuk mengatasi permasalahan perbanyakan nanas di lapangan. Salah satu permasalahan dalam budidaya nanas di Indonesia adalah belum adanya produsen bibit yang dapat menyediakan bibit nanas yang bermutu dalam jumlah yang banyak dan waktu yang relatif singkat. Teknik perbanyakan tradisional dan modifikasinya tidak efisien. Teknik perbanyakan tradisional dengan menggunakan bagian vegetatif tanaman seperti crown (mahkota buah), slip, shoot (tunas samping) dan sucker (anakan) memerlukan waktu lama, jumlah bibit yang dihasilkan sedikit dan tidak seragam. Sehingga perlu dilakukan suatu budidaya tanaman nanas yang secara baik. Karena untuk menjaga kualitas nanas tetap baik sehingga memiliki mutu yang cukup tinggi, salah satu budidaya yang mampu memuat hal tersebut adalah dengan cara kultur jaringan.

Teknik kultur jaringan terutama melalui regenerasi tunas adventif dapat memberikan harapan yang menjanjikan untuk perbanyakan tanaman. Metoda ini dapat diterapkan untuk memperbanyak tanaman nanas karena perbanyakan secara konvensional tidak dapat memberikan kepastian hasil

yang tinggi walaupun diperbanyak secara vegetatif. Untuk meminimalkan terjadinya perubahan sifat genetik dapat dilakukan dengan meminimalkan kandungan unsur hara dan penggunaan zat pengatur tumbuh yang mempunyai aktivitas rendah (antara lain kinetin), atau dengan pemberian zat penghambat pertumbuhan. Paclobutrazol dan ABA adalah zat penghambat pertumbuhan yang banyak digunakan pada jaringan tanaman yang dikulturkan secara invitro untuk menekan pertumbuhan tunas.

2. Tujuan Praktikum

Pada praktikum acara Kultur Jaringan Nanas mempunyai tujuan yaitu :

- a. Mengetahui teknik kultur jaringan nanas
- b. Mengetahui pengaruh BAP terhadap pertumbuhan dan perkembangan eksplan nanas.

B. Tinjauan Pustaka

Untuk mengatasi permasalahan dalam perbanyakan tanaman nanas maka salah satu alternatifnya adalah dengan cara mikropropagasi yang merupakan suatu bentuk aplikasi teknik kultur jaringan yang bertujuan untuk perbanyakan tanaman. Dengan menggunakan cara ini dapat dihasilkan bibit yang seragam dan tahan hama, dapat memenuhi kebutuhan bibit dalam skala besar dengan waktu relatif singkat, dan produksi bibit ini tidak mengenal musim (Zulkarnain 2009).

Faktor lain yang mendukung keberhasilan persentase tumbuh eksplan pada penelitian ini diduga dari media MS yang digunakan sudah mengandung komposisi yang lengkap untuk pertumbuhan eksplan. Menurut Wahyuni (2009), pemberian hormon dengan beberapa konsentrasi pada media MS memberikan persentase tumbuh eksplan yang tidak berbeda nyata dengan perlakuan lainnya, karena media mengandung vitamin, dan unsur hara makro, mikro sehingga cukup untuk memacu pertumbuhan eksplan. Pierik dalam Andaryani (2010) menambahkan bahwa pertumbuhan organ vegetatif dipengaruhi oleh kandungan nitrogen dalam media, dan sumber N organik paling tinggi terdapat pada media MS dibandingkan media lainnya.

Proses pemberian hormon harus memperhatikan jumlah dan konsentrasinya agar didapatkan sistim perakaran yang baik dalam waktu relatif singkat. Konsentrasi dan jumlah hormon ini sangat tergantung pada faktor-faktor seperti umur bahan stek, waktu/lamanya pemberian hormon, cara pemberian hormon, jenis tanaman dan sistim stek yang digunakan. Berdasarkan pengalaman kelompok auksin yang baik untuk perakaran terutama untuk tanaman kehutanan Dipterocarpaceae adalah dari kelompok IBA (Indole Butyric Acid) (Irwanto 2001).

Problem utama berkaitan dengan proses pertumbuhan adalah bila eksplan yang ditanam mengalami stagnasi, dari mulai saat tanam hingga kurun waktu tertentu tidak mati tetapi tidak tumbuh. Mestinya pertumbuhan ditandai dengan pertambahan ukuran, misalnya : berat, panjang dan jumlah. Dua zat pengatur tumbuh yaitu auksin dan sitokinin merupakan zat pengatur tumbuh yang umum digunakan dalam budidaya kultur jaringan. Hal yang lebih menentukan arah pertumbuhan jaringan tanaman adalah perimbangan dari dua zat pengatur tumbuh tersebut (Tanaka dan Sakanishi 2004).

Kontaminasi dari eksplanlah yang paling sulit diatasi karena dalam hal ini metode sterilisasi harus selektif. Sterilisasi telah dilakukan dengan berbagai cara, namun kadang-kadang kontaminasi tetap terjadi. Dalam hal ini dikarenakan pada eksplan telah terjadi kontaminasi internal. Cara penanggulangan dilakukan dengan perlakuan pada tanaman yang akan dijadikan sebagai sumber eksplan. Perlakuaannya adalah mengisolasi eksplan, disemprot dengan bakterisida, fungisida selama 3 bulan setiap hari dengan konsentrasi 150-200 mg/l (Husen 2008).

Sitokinin (BAP) sangat penting peranannya dalam pembelahan sel dan morfogenesis, serta memacu terjadinya pembelahan sel. Didalam tubuh tanaman, zat pengatur tumbuh tidak bekerja sendiri-sendiri, tetapi saling berinteraksi yang dicirikan dalam perkembangan tanaman. Perbandingan konsentrasi antara zat pengatur tumbuh tersebut arah pertumbuhan tanaman. Pada praktikum kali ini pengaruh pemberian sitokinin belum berpengaruh

secara nyata, karena eksplan terlebih dahulu terkena kontaminasi (Hartman 2006).

C. Metode Praktikum

1. Waktu dan Tempat Praktikum

Praktikum acara Kultur Jaringan Nanas dilaksanakan pada hari Jumat, 12 April 2013 pukul 13.00 s/d 15.00 WIB yang bertempat di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan dan Bioteknologi Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret Surakarta.

2. Alat

- a. *Laminar Air Flow Cabinet* (L AFC), lengkap dengan lampu Bunsen yang berisi spirtus.
- b. Petridish dan botol-botol kultur
- c. Peralatan diseksi yaitu pinset besar/kecil dan pisau pemes.

3. Bahan

- a. Eksplan : Nanas (*Ananas comosus*)
- b. Media kultur
- c. Alkohol 70 %
- d. Aquadest steril
- e. Spirtus
- f. Chlorox (Sunclin).

4. Cara Kerja

- a. Persiapan eksplan
- b. Sterilisasi eksplan (dilakukan dalam L AFC)
 - 1) Merendam eksplan dalam larutan pencuci piring \pm 12 jam, dilanjutkan dengan chlorox 5,25 % (Sunclin 100 %) selama \pm 3 menit.
 - 2) Membilas eksplan dengan aquadest steril.
 - 3) Sedikit melakukan pembakaran pada eksplan
- c. Penanaman eksplan
 - 1) Membuka plastik penutup botol media kultur .
 - 2) Mengambil eksplan dan menanamnya di media kultur dengan pinset. Setelah digunakan, pinset harus selalu dibakar di atas api.

3) Selama penanaman, mulut botol harus selalu dekat dengan api untuk menghindari kontaminasi.

d. Pemeliharaan

1) Botol-botol media berisi eksplan ditempatkan di rak-rak kultur.

2) Lingkungan di luar botol harus dijaga suhu, kelembaban dan cahayanya.

3) Penyemprotan botol-botol kultur dengan spirtus dilakukan 2 hari sekali untuk mencegah kontaminasi.

e. Pengamatan selama 5 minggu, yang diamati :

1) Saat muncul akar, tunas, daun dan kalus (HST), diamati setiap hari.

2) Jumlah akar, tunas dan daun, diamati 1 minggu sekali.

3) Deskripsi kalus (struktur dan warna kalus), dilakukan pada akhir pengamatan.

4) Persentase keberhasilan, dilakukan pada akhir pengamatan.

D. Hasil Pengamatan dan Pembahasan

1. Hasil Pengamatan

Tabel 3.1 Pengaruh BAP Terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Eksplan Nanas (*Ananas comosus*)

Eksplan	Tanggal Pengamatan	Saat Muncul (HST)				Jumlah			Keterangan
		akar	tunas	daun	kalus	akar	tunas	daun	
Nanas	12 April	-	-	-	-	-	-	-	Sehat
	19 April	-	-	-	-	-	-	-	Kontaminasi Jamur
	26 April	-	-	-	-	-	-	-	Kontaminasi Jamur dan bakteri
	03 Mei	-	-	-	-	-	-	-	Kontaminasi Jamur dan bakteri
	07 Mei	-	-	-	-	-	-	-	Kontaminasi Jamur dan bakteri

Sumber: Laporan Sementara



Gambar 3.1 Kultur Jaringan Nanas
(Awal pengamatan)



Gambar 3.2 Kultur Jaringan Nanas
(Akhir pengamatan)

2. Pembahasan

Sifat Totipotensi merupakan potensi pada setiap sel penyusun jaringan dewasa untuk mengadakan pembelahan dan membentuk individu baru. Totipotensi dalam biologi sel menunjukkan kemampuan suatu sel untuk dapat memperbanyak diri dalam keseluruhan (total) kemungkinan perkembangan yang dimungkinkan. Sel puncak, termasuk Zigot memiliki

kemampuan ini, Pada tumbuhan meristem yang berada pada titik tumbuh juga memiliki kemampuan ini. Sel Punca atau Sel Induk merupakan sel yang belum berdiferensiasi dan mempunyai potensi untuk dapat berdiferensiasi menjadi menjadi jenis sel lain. Kemampuan tersebut memungkinkan sel induk menjadi system perbaikan tubuh dengan menyediakan sel sel terbaru selama organisme bersangkutan hidup. Teori totipotensi ini dikemukakan oleh G. Heberlandt tahun 1898. Dia adalah seorang ahli fisiologi yang berasal dari Jerman.

Untuk mengoptimalkan pertumbuhan kultur in-vitro dapat dirangsang dengan Zat Pengatur Tumbuh (ZPT). Dalam kultur in-vitro, dua golongan zat pengatur tumbuh yang sangat penting adalah sitokinin dan auksin yang bekerja secara sinergis. Auksin memiliki fungsi penting yaitu merangsang pemanjangan sel dan sitokinin berfungsi dalam pengontrolan pembelahan sel (Campbell *et al* 1999). Salah satu auksin sintetik yang sering digunakan dalam kultur jaringan adalah Naftalen Acetyl Acyd (NAA) dan seperti halnya auksin, sitokinin sintetik yang umum digunakan yaitu kinetin.

Sebagai sumber utama kontaminan, eksplan memiliki perlakuan khusus pada proses sterilisasinya. Diantranya adalah pencucian dengan menggunakan deterjen ditujukan untuk menghilangkan sisa-sisa tanah pada umbi eksplan. Selanjutnya dicelupkan pada larutan klorok untuk membunuh mikroba terutama yang ada di bagian dalam eksplan. Praktikum kultur jaringan kali ini, eksplan yang digunakan adalah nanas dan ditanam pada media yang telah dibuat sebelumnya yaitu Media MS. Setelah dilakukan penanaman, eksplan tersebut diamati selama kurang lebih 2 minggu, untuk mengetahui apakah terjadi kontaminasi pada eksplan ataupun media.

Adapun kontaminasi yang sering terjadi pada kultur jaringan tanaman terdiri atas dua jenis yaitu kontaminasi oleh bakteri dan kontaminasi oleh jamur. Untuk membedakan kedua jenis kontaminasi ini, dapat dilihat dari ciri-ciri fisik yang muncul pada eksplan maupun media kultur. Bila terkena kontaminasi bakteri maka tanaman akan basah atau menyebabkan adanya lendir, hal ini dikarenakan bakteri langsung menyerang terhadap jaringan

dari tubuh tumbuhan itu sendiri. Sedangkan bila terkontaminasi oleh jamur, tanaman akan lebih kering dan akan muncul hifa jamur pada tanaman yang terserang dan biasanya dapat dicirikan dengan adanya garis – garis (seperti benang) yang berwarna putih sampai abu – abu. Penyebab terjadinya kontaminasi bisa diakibatkan karena kesalahan pada saat penanaman, saat sterilisasi media dan eksplan atau bahkan pada saat pembuatan media.

Berdasarkan pengamatan dilakukan selama 2 minggu ternyata eksplan terkontaminasi. Adapun pada pengamatan pertama (1 minggu setelah penanaman) kondisi eksplan dan media tumbuh kultur masih dalam keadaan baik. Sedangkan pada pengamatan kedua, eksplan dan media kultur telah terkontaminasi oleh jamur. Hal ini ditunjukkan dengan adanya kontaminan yang berwarna putih dan membentuk seperti benang (hifa). Begitupun pada pengamatan selanjutnya, kontaminasi yang terjadi oleh jamur makin jelas dan terlihat begitu nyata karena hampir seluruh bagian permukaan eksplan dan media kultur ditumbuhi oleh jamur. Kontaminasi bisa terjadi dikarenakan adanya kesalahan ataupun kurang optimalnya dalam penanaman maupun melakukan hal lain yang dapat mendukung keberhasilan kultur jaringan tersebut, terutama dalam hal sterilisasi.

E. Kesimpulan dan Saran

1. Kesimpulan

Kesimpulan dari praktikum kultur daun sansivera adalah:

- a. Penanaman eksplan dilakukan di LAF (*Laminar Air Flow*). Penggunaan alat sebelumnya sudah dalam keadaan steril.
- b. Pada eksplan daun sansivera terjadi kontaminasi oleh jamur yang ditandai dengan munculnya hifa yang cukup tebal berwarna putih.
- c. Pada eksplan umbi nanas setelah 2 minggu terjadi kontaminasi oleh bakteri yang ditandai adanya kontaminan berwarna hitam di bagian tengah botol kultur.

2. Saran

Diperlukan pemahaman mengenai bekerja aseptik dalam kegiatan kultur jaringan disertai dengan perbaikan serta kelengkapan laboratorium.

DAFTAR PUSTAKA

- Andaryani, S 2010. Kajian Penggunaan Berbagai Konsentrasi Bap Dan 2,4-D Terhadap Induksi Kalus Jarak Pagar (*Jatropha Curcas* L.) Secara In Vitro. Surakarta: Skripsi Faperta Universitas Sebelas Maret.
- Campbell, N.A., J.B., Reece, L.G., Mitchell 1999. Biologi. Terjemahan: Wasmen Manalu (2003). Jakarta: Erlangga.
- Hartmann HT 2006. Plant Propagation Principles and Practices. New Jersey: Prentice Hall Inc.
- Husen, M 2008. Kontaminasi Dalam Kultur Jaringan. <http://eshaflora.com>. Diakses pada tanggal 09 Mei 2013.
- Irwanto 2001. Pengaruh Hormon IBA (Indole Butyric Acid) Terhadap Persen Jadi Stek Pucuk Meranti Putih (*Shorea montigena*). <http://www.irwantoshut.com> Diakses pada tanggal 24 April 2013.
- Tanaka, M., dan Sakanishi Y 1997. Factors Affecting The Growth of In Vitro Cultured Lateral Buds from Phalaenopsis Flower Stalks. *J. Scientia Hort* 8(4) : 169 – 178.
- Wahyuni, D., A 2009. Teknik Pemberian Benzil Amino Purin untuk Memacu Pertumbuhan Kalus dan Tunas pada Kotiledon Melon (*Cucumis melo* L.). Buletin Teknik pertanian, 14 (2): 50-53.
- Zulkarnain 2009. Kultur Jaringan Tanaman. Jakarta: Bumi Aksara.

ACARA IV

KULTUR JARINGAN MAWAR (*Rosa sp.*)

A. Pendahuluan

1. Latar Belakang

Tanaman mawar termasuk dalam genus *Rosa*, suku atau famili Rosaceae keluarga mawar-mawaran. Jumlah pasti spesies mawar saat ini tidak bisa dipastikan karena dipastikan telah banyak dilakukan pengembangan untuk mendapatkan warna bunga atau bibit unggul mawar oleh perusahaan bibit. Mawar dijuluki ratu segala bunga karena keindahannya, keanggunannya, dan keharumannya. Tanaman hias ini memiliki nilai ekonomi tinggi, diminati konsumen, dan dapat dibudidayakan secara komersial dan terencana sesuai dengan permintaan pasar. Berdasarkan kegunaannya, mawar dikelompokkan ke dalam mawar bunga potong, mawar taman, mawar tabur, dan mawar bahan kosmetik. Volume penjualan bunga mawar potong paling tinggi dibandingkan dengan bunga potong lainnya. Permintaan bunga mawar potong meningkat terutama pada hari-hari besar.

Pada tanaman mawar memiliki bunga yang sangat bagus dan merupakan salah satu tanaman hias yang sangat di gemari oleh semua orang. Selain itu tanaman mawar sangat mudah dirawat atau dikembangkan diperkarangan rumah. Bunga mawar memiliki prospek yang sangat besar dipasar. Para petani kesulitan untuk memenuhi permintaan pasar yang besar. Dengan perbanyak tanaman mawar yang sudah disebutkan diatas tadi sangat lambat untuk menghasilkan jumlah yang banyak dalam waktu yang singkat. Untuk itu maka pada praktikum ini ingin melakukan perbanyak tanaman mawar dengan metode kultur jaringan. Kultur jaringan merupakan perbanyak tanaman secara *in vitro* dengan menggunakan bagian tanaman baik dari sel, organ maupun jaringan tanaman. Kultur jaringan dilakukan dengan menumbuhkan eksplan yang berasal dari jaringan meristem tanaman, kemudian ditanam pada media dan lingkungan yang sesuai

sehingga eksplan dapat tumbuh menjadi tanaman baru sesuai dengan harapan.

Kultur jaringan merupakan teknik perbanyak tanaman yang sangat memberi harapan terutama didunia tani dalam usaha menghasilkan bibit unggul dengan kualitas yang seragam. Karena mawar adalah jenis bunga yang sangat diminati oleh banyak orang, maka pengembangan mawar juga dilakukan dengan berbagai hal. Misalnya dengan teknik kultur jaringan.

2. Tujuan Praktikum

Pada praktikum acara Kultur Jaringan Mawar mempunyai tujuan yaitu :

- a. Mengetahui teknik kultur jaringan Mawar
- b. Mengetahui pengaruh BAP terhadap pertumbuhan dan perkembangan eksplan Mawar.

B. Tinjauan Pustaka

Eksplan adalah bagian tanaman yang dipergunakan sebagai bahan awal untuk perbanyak tanaman. Faktor eksplan yang penting adalah genotipe/varietas, umur eksplan, letak pada cabang, dan seks (jantan/betina). Bagian tanaman yang dapat digunakan sebagai eksplan adalah pucuk muda, batang muda, daun muda, kotiledon, hipokotil, endosperm, ovari muda, anther, embrio, dll (Anonim 2011).

Akar tanaman mawar membutuhkan udara dan air yang cukup, media kultur atau lahan yang padat tidak menyediakan cukup udara karena pori-pori yang kecil akibat tekanan. Demikian pula media yang berkelembaban tinggi mengakibatkan pori-pori yang terisi air dan udara tidak dapat masuk sehingga tanaman tidak bisa bernafas dan berakibat mati lemas (Allen 1978).

Organ merupakan bahan yang paling umum digunakan dalam kegiatan kultur jaringan. Bahan itu meliputi : daun, batang, akar, biji, tunas, embrio, anther, kepala sari dan lain sebagainya. Bahan-bahan ini ada yang memang langsung digunakan sebagai bahan kultur awal sehingga hanya sebagai jalan untuk mendapatkan produk yang diinginkan, tetapi ada juga yang hanya untuk mendapatkan organ juvenil, atau kalus yang umumnya relative bersifat meristematik dan steril (Santosa dan Nursandi 2004).

Walaupun umumnya bunga mawar dapat tumbuh di dataran rendah hingga dataran tinggi, tetapi mawar hibrida hanya menyukai dataran tinggi sebab bunganya akan tumbuh dengan sempurna, baik bentuk, ukuran, warna dan baunya. Lokasi tanaman hendaknya cerah, ia tidak menyukai system multicrop atau system campuran dengan tanaman lainnya. Tanah yang baik adalah tanah yang gembur dan kaya akan kadar humusnya (Rismunandar 1991).

Kultur jaringan akan lebih besar prosentase keberhasilannya bila menggunakan jaringan meristem . jaringan meristem adalah jaringan muda, yaitu jaringan yang terdiri dari sel –sel yang selalu membelah, dindingnya tipis, belum mempunyai penebalan dari zat pectin, plasmanya penuh dan vakuolanya kecil-kecil. Biasanya jaringan ini digunakan untuk tissue culture. Sebab, jaringan meristem keadaannya selalu membelah sehingga diperkirakan mempunyai zat hormone yang mengatur pembelahan (Soeryowinoto 1985).

Pembentukan kultivar mawar baru melalui persilangan memerlukan persiapan seperti suhu yang konstan pada siang dan malam hari yaitu 18°C dan kelembaban udara sekitar 70%. Salah satu teknologi alternatif untuk mendapatkan genotipe-genotipe baru yaitu melalui kultur jaringan. Pembentukan tunas adventitif secara langsung menggunakan eksplan potongan batang muda yang memiliki calon tunas samping. Dengan adanya sitokinin di dalam medium menyebabkan tunas menggandakan diri secara terus menerus membentuk tunas-tunas baru dalam jumlah ribuan bahkan jutaan tunas, selanjutnya diakarkan menjadi planlet (Handayati et al 2001).

C. Metode Praktikum

1. Waktu dan Tempat Praktikum

Praktikum acara Kultur Jaringan Mawar dilaksanakan pada hari Jumat, 12 April 2013 pukul 13.00 s/d 15.00 WIB yang bertempat di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan dan Bioteknologi Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret Surakarta.

2. Alat

- a. *Laminar Air Flow Cabinet* (L AFC), lengkap dengan lampu Bunsen yang berisi spirtus.
- b. Petridish dan botol-botol kultur
- c. Peralatan diseksi yaitu pinset besar/kecil dan pisau pemes.

3. Bahan

- a. Eksplan : pucuk batang pohon mawar (*Rosa* sp.)
- b. Media kultur
- c. Alkohol 70 %
- d. Aquadest steril
- e. Spirtus
- f. Chlorox (Sunclin).

4. Cara Kerja

- a. Persiapan eksplan
- b. Sterilisasi eksplan (dilakukan dalam L AFC)
 - 1) Merendam eksplan dalam larutan pencuci piring \pm 12 jam, dilanjutkan dengan chlorox 5,25 % (Sunclin 100 %) selama \pm 3 menit.
 - 2) Membilas eksplan dengan aquadest steril.
 - 3) Sedikit melakukan pembakaran pada eksplan
- c. Penanaman eksplan
 - 1) Membuka plastik penutup botol media kultur .
 - 2) Mengambil eksplan dan menanamnya di media kultur dengan pinset. Setelah digunakan, pinset harus selalu dibakar di atas api.
 - 3) Selama penanaman, mulut botol harus selalu dekat dengan api untuk menghindari kontaminasi.
- d. Pemeliharaan
 - 1) Botol-botol media berisi eksplan ditempatkan di rak-rak kultur.
 - 2) Lingkungan di luar botol harus dijaga suhu, kelembaban dan cahayanya.
 - 3) Penyemprotan botol-botol kultur dengan spirtus dilakukan 2 hari sekali untuk mencegah kontaminasi.

- e. Pengamatan selama 5 minggu, yang diamati :
- 1) Saat muncul akar, tunas, daun dan kalus (HST), diamati setiap hari.
 - 2) Jumlah akar, tunas dan daun, diamati 1 minggu sekali.
 - 3) Deskripsi kalus (struktur dan warna kalus), dilakukan pada akhir pengamatan.
 - 4) Persentase keberhasilan, dilakukan pada akhir pengamatan.

D. Hasil Pengamatan dan Pembahasan

1. Hasil Pengamatan

Tabel 4.1 Pengaruh BAP Terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Eksplan Mawar (*Rosa* sp.)

Eksplan	Tanggal Pengamatan	Saat Muncul (HST)				Jumlah			Keterangan
		akar	tunas	daun	kalus	akar	tunas	daun	
Mawar	12 April 2013	-	-	-	-	-	-	-	Sehat
	19 April 2013	-	-	-	-	-	-	-	Kontaminasi Jamur
	26 April 2013	-	-	-	-	-	-	-	Kontaminasi Jamur dan bakteri
	03 Mei 2013	-	-	-	-	-	-	-	Kontaminasi Jamur dan bakteri
	07 Mei 2013	-	-	-	-	-	-	-	Kontaminasi Jamur dan bakteri

Sumber: Laporan Sementara



Gambar 4.1 Kultur Jaringan Mawar (Awal pengamatan)



Gambar 4.2 Kultur Jaringan Mawar (Akhir pengamatan)

2. Pembahasan

Bahan eksplan yang akan digunakan disterilisasi dahulu sampai bersih dengan dicuci dan dibilas, kemudian direndam dalam larutan klorox. Penanaman eksplan dilakukan di LAF (*Laminar Air Flow*). Penggunaan alat sebelumnya sudah dalam keadaan steril. Penanaman dilakukan dengan cara

mencelupkan scalpel dan pinset ke dalam alcohol 70% lalu dibakar pada nyala api Bunsen. Setelah itu alat baru bisa digunakan untuk menanam. Pada setiap botol kultur, diisi 1 potong eksplan.

ZPT (zat pengatur tumbuh) dibuat agar tanaman memacu pembentukan fitohormon (hormon tumbuhan) yang sudah ada di dalam tanaman atau menggantikan fungsi dan peran hormon bila tanaman kurang dapat memproduksi hormon dengan baik. Sitokinin, hormon tumbuhan turunan adenin berfungsi untuk merangsang pembelahan sel dan diferensiasi mitosis, disintesis pada ujung akar dan ditranslokasi melalui pembuluh xylem. Aplikasi Untuk merangsang tumbuhnya tunas pada kultur jaringan atau pada tanaman induk, namun sering tidak optimal untuk tanaman dewasa. merk dagang antara lain: Novelgrow. Sitokinin alami terdapat pada air kelapa.golongan sitokinin : Kinetin, Benziladenin (BA), 2I-P, Zeatin, Thidiazuron, dan PBA (Plantea 2008).

Pelaksanaan teknik ini memerlukan berbagai prasyarat untuk mendukung kehidupan jaringan yang dibiakkan. Yang paling esensial adalah wadah dan media tumbuh yang steril. Media adalah tempat bagi jaringan untuk tumbuh dan mengambil nutrisi yang mendukung kehidupan jaringan. Media tumbuh menyediakan berbagai bahan yang diperlukan jaringan untuk hidup dan memperbanyak dirinya. Ada dua penggolongan media tumbuh: media padat dan media cair. Media padat pada umumnya berupa padatan gel, seperti agar. Nutrisi dicampurkan pada agar. Media cair adalah nutrisi yang dilarutkan di air. Media cair dapat bersifat tenang atau dalam kondisi selalu bergerak, tergantung kebutuhan (Willadsen 1979).

Didalam medium yang digunakan untuk kultur jaringan mengandung zat pengatur tumbuh. Zat pengatur tumbuh mempunyai peranan yang penting dalam pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Pada kebanyakan kultur jaringan, hanya auksin dan sitokinin yang sering digunakan. Khrisnamoorthy (1981) mengemukakan bahwa adanya zat pengatur tumbuh secara langsung mempengaruhi aktifitas metabolisme dari sel –sel potongan jaringan yang sedang tumbuh.

Selain medium yang digunakan, keberhasilan kultur jaringan juga ditentukan oleh kondisi eksplan yang digunakan. Biasanya bagian tanaman yang digunakan sebagai eksplan adalah bagian dari tanaman yang muda, jaringan embrio seperti biji dan jaringan meristematik dari tanaman. Menurut Khrisnamoorthy (1981), daerah meristematik mengandung relatif mengandung auksin, giberilin dan sitokinin yang tinggi dan biasanya dapat digunakan sebagai sumber eksplan karena sel yang membentuknya aktif membelah.

Dari hasil praktikum penanaman eksplan mawar didapatkan eksplan yang ditanam dalam botol kultur terkena kontaminasi seminggu setelah penanaman dengan munculnya jamur berwarna putih dengan ciri-ciri tanaman menjadi kering dan muncul hifa jamur pada tanaman yang terserang dan dapat dicirikan dengan adanya garis – garis (seperti benang) yang berwarna putih sampai abu – abu. Seminggu berikutnya eksplan terkontaminasi oleh bakteri dengan dicirikan tanaman akan basah atau menyebabkan adanya lendir, hal ini dikarenakan bakteri langsung menyerang terhadap jaringan dari tubuh tumbuhan itu sendiri. Penyebab terjadinya kontaminasi bisa diakibatkan karena kesalahan pada saat penanaman, saat sterilisasi media dan eksplan atau bahkan pada saat pembuatan media.

Eksplan dapat terkontaminasi oleh berbagai mikroorganisme seperti jamur, bakteri, serangga atau virus. Organisme–organisme tersebut secara universal terdapat pada jaringan tanaman. Banyak yang bersifat non-patogenik, artinya mereka tidak menyebabkan bahaya bagi tanaman inang pada kondisi normal. Kondisi kering dan adanya organisme kompetitor menyebabkan mereka dalam kondisi terkontrol. Tapi, kondisi *in vitro* yang disukai eksplan, yaitu mengandung sukrosa dan hara dalam konsentrasi tinggi, kelembaban tinggi dan suhu yang hangat, juga disukai mikroorganisme yang seringkali tumbuh dan berkembang sangat cepat, mengalahkan eksplan.

Meskipun usaha sterilisasi untuk menciptakan lingkungan yang aseptik sudah sering dilakukan, namun kontaminasi masih sering terjadi. Kontaminasi yang terjadi diperkirakan disebabkan oleh mikrobia golongan protista. Yaitu Kapang lendir seluler adalah genus *Dictyostelium*. Hal ini ditentukan berdasarkan morfologi koloni yaitu adanya plasmodium yang tersebar di seluruh permukaan medium kultur yang terkontaminasi. Plasmodium ini lama kelamaan membentuk agregat berupa benang miselium yang sangat halus dan menjadi pusat koloni. Pada pengamatannya, terdapat lender berwarna kuning. Kontaminasi tersebut terjadi pada kultur daun sansivera.

Sebagai sumber utama kontaminan, eksplan memiliki perlakuan khusus pada proses sterilisasinya. Diantranya adalah pencucian dengan menggunakan deterjen ditujukan untuk menghilangkan sisa-sisa tanah pada umbi eksplan. Selanjutnya di rendam dalam alkohol 70% untuk menghilangkan atau membunuh kuman. Selanjutnya dicelupkan pada larutan klorok untuk membunuh mikroba terutama yang ada di bagian dalam eksplan. Digunakan pula fungisida untuk membunuh spora ataupun cendawan yang diperkirakan ada pada eksplan.

E. Kesimpulan dan Saran

1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil percobaan dan pembahasan, dapat kami simpulkan, bahwa :

- a. Penanaman eksplan dilakukan di LAF (*Laminar Air Flow*). Penggunaan alat sebelumnya sudah dalam keadaan steril.
- b. Pada eksplan Mawar terjadi kontaminasi oleh bakteri.

2. Saran

Diperlukan adanya pemahaman tentang kondisi aseptik agar hasil penanaman eksplan tidak mengalami kontaminasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Allen D E 1978. How To Growth Roses. California. USA: Lane Magazine and Book Company.
- Anonim 2011. <http://www.situshijau.co.id/app/tulisan.php?act=detail&id=113>. Diakses pada tanggal 09 Mei 2013.
- Handayati W Darliah I Mariska dan R Purnamaningsih 2001. Peningkatan Keragaman Genetik Mawar Mini Melalui Kultur In Vitro dan Iradiasi Sinar Gamma. Jurnal Ilmiah :Berita Biologi. 5(4) : 300-311.
- Krishnamoorthy 1981. Plant Growth Substances. Application dan Agriculture. New York: Tata M.C. Graw Hill Book Co.
- Plantea 2008. Sedikit Tentang Zat Pengatur Tumbuh. (On-line). <http://yoxx.blogspot.com/2008/05/sedikit-tentang-zat-pengatur-tumbuh.html>. Diakses pada tanggal 09 Mei 2013.
- Rismunandar 1991. Budidaya Bunga Potong. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Santoso U dan F Nursandi 2004. Kultur Jaringan Tanaman. Malang: UMM Press.
- Soeryowinoto M 1985. Budidaya Jaringan dan Manfaatnya. Fakultas Biologi. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada.
- Willadsen S M 1979. A Method For Culture Of Micromanipulated Sheep Embryos And Its Use To Produce Monozygotic Twins. Nature, 277:298-300

ACARA V

KULTUR JARINGAN WORTEL (*Daucus carrota*)

A. Pendahuluan

1. 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. Kultur jaringan sebenarnya memanfaatkan sifat totipotensi yang dimiliki oleh sel tumbuhan. Totipotensi yaitu kemampuan setiap sel tumbuhan untuk menjadi individu yang sempurna.

Tanaman wortel berupa rumput dan menyimpan cadangan makanannya di dalam umbi. Mempunyai batang pendek, basah, berakar tunggang, sekumpulan tangkai daun yang keluar dari ujung umbi bagian atas yang bentuk dan fungsinya berubah menjadi umbi bulat dan memanjang. Umbi berwarna kuning kemerah-merahan, berkulit tipis, dan jika dimakan mentah terasa renyah dan agak manis.

Metode kultur jaringan dikembangkan untuk membantu memperbanyak tanaman, khususnya untuk tanaman yang sulit dikembangbiakkan secara generatif. Bibit yang dihasilkan dari kultur jaringan mempunyai beberapa keunggulan, antara lain: mempunyai sifat yang identik dengan induknya, dapat diperbanyak dalam jumlah yang besar sehingga tidak terlalu membutuhkan tempat yang luas, mampu menghasilkan bibit dengan jumlah besar dalam waktu yang singkat, kesehatan dan mutu bibit lebih terjamin, kecepatan tumbuh bibit lebih cepat dibandingkan dengan perbanyakan konvensional.

2. Tujuan Praktikum

Pada praktikum acara Kultur Jaringan Wortel mempunyai tujuan yaitu :

- a. Mengetahui teknik kultur jaringan wortel
- b. Mengetahui pengaruh BAP terhadap pertumbuhan dan perkembangan eksplan wortel.

B. Tinjauan Pustaka

Tujuan utama dari propagasi secara in-vitro tahap ini adalah pembuatan kultur dari eksplan yang bebas mikroorganisme serta inisiasi pertumbuhan baru (Wetherell 1976). Bahwa pada tahap ini mengusahakan kultur yang aseptik atau aksenik. Aseptik berarti bebas dari mikroorganisme, sedangkan aksenik berarti bebas dari mikroorganisme yang tidak diinginkan. Dalam tahap ini juga diharapkan bahwa eksplan yang dikulturkan akan menginisiasi pertumbuhan baru, sehingga akan memungkinkan dilakukannya pemilihan bagian tanaman yang tumbuhnya paling kuat, untuk perbanyak (multiplikasi) pada kultur tahap selanjutnya (Wetherell 1976). Untuk mendapatkan kultur yang bebas dari kontaminasi, eksplan harus disterilisasi. Sterilisasi merupakan upaya untuk menghilangkan kontaminan mikroorganisme yang menempel di permukaan eksplan. beberapa bahan kimia yang dapat digunakan untuk mensterilkan permukaan eksplan adalah NaOCl, CaOCl₂, etanol, dan HgCl₂.

Tanaman wortel diperbanyak dengan bijinya. Biji untuk penanaman ini dikenal dengan istilah benih. Benih wortel berwarna coklat, ukurannya kecil berbulu dan saling melekat satu sama lain. Setiap 1 gr benih terdapat 200 biji. Benih wortel dapat diperoleh dengan cara membeli di kios atau toko-toko pertanian. Kebutuhan benih wortel untuk setiap hektarnya sekitar 1,5 kg-3 kg (Ali et al 2003).

Wortel merupakan jenis sayuran umbi yang biasanya berwarna jingga atau putih dengan tekstur serupa kayu. Bagian yang dapat dimakan dari wortel adalah umbi atau akarnya. Tumbuhan memiliki siklus hidup 12-24 bulan ini menyimpan karbohidrat dalam jumlah besar. Untuk tumbuhan tersebut berbunga pada tahun kedua. Batang bunga tumbuh setinggi 1m, dengan bunga warna putih (Anonim 2011).

Auksin sangat diperlukan dalam pertumbuhan organogenesis termasuk dalam pembentukan akar. Kombinasi auksin dengan konsentrasi yang tepat dapat meningkatkan inisiasi dan induksi akar pada kultur (Gaspar et al 1996).

Kultur jaringan akan lebih besar prosentase keberhasilannya bila menggunakan jaringan meristem . jaringan meristem adalah jaringan muda, yaitu jaringan yang terdiri dari sel –sel yang selalu membelah, dindingnya tipis, belum mempunyai penebalan dari zat pectin, plasmanya penuh dan vakuolanya kecil-kecil. Biasanya jaringan ini digunakan untuk tissue culture. Sebab, jaringan meristem keadaannya selalu membelah sehingga diperkirakan mempunyai zat hormone yang mengatur pembelahan (Soeryowinoto 1985).

Macam eksplan sangat mempengaruhi kecepatan membentuk kalus. Eksplan daun mempunyai kecepatan tumbuh lebih cepat dibandingkan eksplan batang utama, cabang batang atau tangkai bunga (Santosa 1995). Sitokinin sering pula digunakan sebagai bahan kombinasi untuk induksi kalus. BA (sitokinin) 2,22 mM dan 2,69 mM NAA (auksin) berhasil untuk induksi kalus *Artemisia absinthium* hanya dalam waktu 2-3 minggu (Nin et al 1996).

C. Metode Praktikum

1. Waktu dan Tempat Praktikum

Praktikum acara Kultur Jaringan Wortel dilaksanakan pada hari Jumat, 19 April 2013 pukul 13.00 s/d 15.00 WIB yang bertempat di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan dan Bioteknologi Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret Surakarta.

2. Alat

- a. *Laminar Air Flow Cabinet* (L AFC), lengkap dengan lampu Bunsen yang berisi spirtus.
- b. Petridish dan botol-botol kultur
- c. Peralatan diseksi yaitu pinset besar/kecil dan pisau pemes.

3. Bahan

- a. Eksplan : Wortel (*Daucus carrota*)
- b. Media kultur
- c. Alkohol 70 %

- d. Aquadest steril
- e. Spirtus
- f. Chlorox (Sunclin).

4. Cara Kerja

- a. Persiapan eksplan
- b. Sterilisasi eksplan (dilakukan dalam LAFC)
 - 1) Merendam eksplan dalam larutan pencuci piring \pm 12 jam, dilanjutkan dengan chlorox 5,25 % (Sunclin 100 %) selama \pm 3 menit.
 - 2) Membilas eksplan dengan aquadest steril.
 - 3) Sedikit melakukan pembakaran pada eksplan
- c. Penanaman eksplan
 - 1) Membuka plastik penutup botol media kultur .
 - 2) Mengambil eksplan dan menanamnya di media kultur dengan pinset. Setelah digunakan, pinset harus selalu dibakar di atas api.
 - 3) Selama penanaman, mulut botol harus selalu dekat dengan api untuk menghindari kontaminasi.
- d. Pemeliharaan
 - 1) Botol-botol media berisi eksplan ditempatkan di rak-rak kultur.
 - 2) Lingkungan di luar botol harus dijaga suhu, kelembaban dan cahayanya.
 - 3) Penyemprotan botol-botol kultur dengan spirtus dilakukan 2 hari sekali untuk mencegah kontaminasi.
- e. Pengamatan selama 5 minggu, yang diamati :
 - 1) Saat muncul akar, tunas, daun dan kalus (HST), diamati setiap hari.
 - 2) Jumlah akar, tunas dan daun, diamati 1 minggu sekali.
 - 3) Deskripsi kalus (struktur dan warna kalus), dilakukan pada akhir pengamatan.
 - 4) Persentase keberhasilan, dilakukan pada akhir pengamatan.

D. Hasil Pengamatan dan Pembahasan

1. Hasil Pengamatan

Tabel 5.1 Pengaruh BAP Terhadap Pertumbuhan dan Perkembangan Eksplan wortel (*Daucus carota*)

Eksplan	Tanggal Pengamatan	Saat Muncul (HST)				Jumlah			Keterangan
		akar	tunas	daun	kalus	akar	tunas	daun	
Wortel	19 April	-	-	-	-	-	-	-	Sehat
	26 April	-	-	-	-	-	-	-	Sehat
	03 Mei	-	-	-	-	-	-	-	Sehat
	04 Mei	-	-	-	-	-	-	-	Kontaminasi Jamur
	07 Mei	-	-	-	-	-	-	-	Kontaminasi Jamur

Sumber: Laporan sementara



Gambar 5.1 Kultur Jaringan Nanas
(Awal Pengamatan)



Gambar 5.2 Kultur Jaringan Nanas
(Akhir Pengamatan)

2. Pembahasan

Penanaman eksplan dilakukan di LAF (*Laminar Air Flow*). Penggunaan alat sebelumnya sudah dalam keadaan steril. Penanaman dilakukan dengan cara mencelupkan scalpel dan pinset ke dalam alkohol 70% lalu dibakar pada nyala api Bunsen. Setelah itu alat baru bisa digunakan untuk menanam. Pada setiap botol kultur, diisi 1 potong eksplan.

ZPT (zat pengatur tumbuh) dibuat agar tanaman memacu pembentukan fitohormon (hormon tumbuhan) yang sudah ada di dalam tanaman atau menggantikan fungsi dan peran hormon bila tanaman kurang dapat memproduksi hormon dengan baik. Sitokinin, hormon tumbuhan turunan

adenin berfungsi untuk merangsang pembelahan sel dan diferensiasi mitosis, disintesis pada ujung akar dan ditranslokasi melalui pembuluh xylem. Aplikasi Untuk merangsang tumbuhnya tunas pada kultur jaringan atau pada tanaman induk, namun sering tidak optimal untuk tanaman dewasa. merk dagang antara lain: Novelgrow. Sitokinin alami terdapat pada air kelapa. golongan sitokinin : Kinetin, Benziladenin (BA), 2I-P, Zeatin, Thidiazuron, dan PBA (Plantea 2008).

Pelaksanaan teknik ini memerlukan berbagai prasyarat untuk mendukung kehidupan jaringan yang dibiakkan. Yang paling esensial adalah wadah dan media tumbuh yang steril. Media adalah tempat bagi jaringan untuk tumbuh dan mengambil nutrisi yang mendukung kehidupan jaringan. Media tumbuh menyediakan berbagai bahan yang diperlukan jaringan untuk hidup dan memperbanyak dirinya. Ada dua penggolongan media tumbuh: media padat dan media cair. Media padat pada umumnya berupa padatan gel, seperti agar. Nutrisi dicampurkan pada agar. Media cair adalah nutrisi yang dilarutkan di air. Media cair dapat bersifat tenang atau dalam kondisi selalu bergerak, tergantung kebutuhan (Willadsen 1979).

Dalam praktikum kultur jaringan ini menggunakan emplur wortel hal ini di karenakan dalam penanamannya mudah, dan bahan mudah di dapat. Pertama-tama wortel di di ambil emplurnya ini disebut dengan Inisiasi . inisiasi adalah pengambilan eksplan dari bagian tanaman yang akan dikulturkan. Ekspaln kemudian di cuci sampai bersih dengan deterjen dan dibilas dengan air mengalir sampai bersih, kemudian eksplan direndam dalam larutan chlorox selama 3 menit dan dibilas dengan aquadest sampai bersih. Kemudian tanam dalam *laminar flow* hal ini agar eksplan tetap steril, dan tidak terkontaminasi, kemudian inkubasi selama 3 hari.

Selain medium yang digunakan, keberhasilan kultur jaringan juga ditentukan oleh kondisi eksplan yang digunakan. Biasanya bagian tanaman yang digunakan sebagai eksplan adalah bagian dari tanaman yang muda, jaringan embrio seperti biji dan jaringan meristematik dari tanaman. Menurut Khrisnamoorthy (1981), daerah meristematik mengandung relatif

mengandung auksin, giberilin dan sitokinin yang tinggi dan biasanya dapat digunakan sebagai sumber eksplan karena sel yang membentuknya aktif membelah.

Dari hasil praktikum penanaman eksplan wortel didapatkan eksplan yang ditanam dalam botol kultur terkena kontaminasi 2 minggu setelah penanaman dengan munculnya jamur berwarna putih dengan ciri-ciri tanaman menjadi kering dan muncul hifa jamur pada tanaman yang terserang dan dapat dicirikan dengan adanya garis – garis (seperti benang) yang berwarna putih sampai abu – abu. Penyebab terjadinya kontaminasi bisa diakibatkan karena kesalahan pada saat penanaman, saat sterilisasi media dan eksplan atau bahkan pada saat pembuatan media.

Eksplan dapat terkontaminasi oleh berbagai mikroorganisme seperti jamur, bakteri, serangga atau virus. Organisme–organisme tersebut secara universal terdapat pada jaringan tanaman. Banyak yang bersifat non-patogenik, artinya mereka tidak menyebabkan bahaya bagi tanaman inang pada kondisi normal. Kondisi kering dan adanya organisme kompetitor menyebabkan mereka dalam kondisi terkontrol. Tapi, kondisi *in vitro* yang disukai eksplan, yaitu mengandung sukrosa dan hara dalam konsentrasi tinggi, kelembaban tinggi dan suhu yang hangat, juga disukai mikroorganisme yang seringkali tumbuh dan berkembang sangat cepat, mengalahkan eksplan.

Meskipun usaha sterilisasi untuk menciptakan lingkungan yang aseptik sudah sering dilakukan, namun kontaminasi masih sering terjadi. Kontaminasi yang terjadi diperkirakan disebabkan oleh mikrobia golongan protista. Yaitu Kapang lendir seluler adalah genus *Dictyostelium*. Hal ini ditentukan berdasarkan morfologi koloni yaitu adanya plasmodium yang tersebar di seluruh permukaan medium kultur yang terkontaminasi. Plasmodium ini lama kelamaan membentuk agregat berupa benang miselium yang sangat halus dan menjadi pusat koloni. Pada pengamatannya, terdapat lender berwarna kuning. Kontaminasi tersebut terjadi pada kultur daun sansivera.

Sebagai sumber utama kontaminan, eksplan memiliki perlakuan khusus pada proses sterilisasinya. Di antaranya adalah pencucian dengan menggunakan deterjen ditujukan untuk menghilangkan sisa-sisa tanah pada umbi eksplan. Selanjutnya di rendam dalam alkohol 70% untuk menghilangkan atau membunuh kuman. Selanjutnya dicelupkan pada larutan klorok untuk membunuh mikroba terutama yang ada di bagian dalam eksplan. Digunakan pula fungisida untuk membunuh spora ataupun cendawan yang diperkirakan ada pada eksplan.

E. Kesimpulan dan Saran

1. Kesimpulan

Kesimpulan dari praktikum kultur daun sansivera adalah:

- a. Penanaman eksplan dilakukan di LAF (*Laminar Air Flow*). Penggunaan alat sebelumnya sudah dalam keadaan steril.
- b. Pada eksplan daun sansivera terjadi kontaminasi oleh jamur yang ditandai dengan munculnya hifa yang cukup tebal berwarna putih.

2. Saran

Saran yang dapat diberikan dalam praktikum ini adalah:

- a. Sebaiknya memperhatikan kesterilan alat dan bahan dan memastikannya dalam keadaan steril.
- b. Sebaiknya selalu memakai jas praktikum saat praktikum maupun pada saat pengamatan untuk menghindari adanya kontaminasi.
- c. Sebaiknya ada pengaturan batas maksimal praktikan yang melakukan pengamatan guna menghindari terjadinya kontaminasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Ali NBV Estu R Hendro S 2003. Wortel dan Lobak. Bogor: Penebar Swadaya.
- Anonim 2011. Wortel. <http://www.id.wikipedia.org/wiki/wortel>. Diakses pada tanggal 09 Mei 2013.
- Gaspar T C Kevers C Penel H Greppin D M Reid and T A Thorpe 1996. Plant Hormones and Plant Growth Regulators in Plant Tissue Culture. In Vitro Cell Dev. Biol. Plant 32: 272-289.
- Santoso U 1995. Induksi Kalus *Artemisia vulgaris* L. dari Sumber Eksplan yang Berbeda. Malang: Pusbitan UMM.
- Soeryowinoto M 1985. Budidaya Jaringan dan Manfaatnya. Fakultas Biologi, Yogyakarta: Universitas Gajah Mada.
- Wetherell 1976. Skripsi "Efek Diuretik Ekstrak Etanol 70% Daun Wortel (*Daucus carota* L.) Pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar. Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta.

ACARA VI SUB KULTUR

A. Pendahuluan

1. Latar Belakang

Indonesia memiliki kekayaan plasma nutfah yang besar yang perlu dilestarikan. Pelestarian di alam secara konvensional menghadapi kendala hilangnya tanaman tersebut akibat kondisi lingkungan. Penyimpanan secara kultur jaringan memberikan alternatif pemecahan kendala tersebut, terutama untuk tanaman yang diperbanyak secara vegetatif.

Kultur jaringan tanaman telah dikenal banyak orang sebagai usaha mendapatkan varietas baru (unggul) dari suatu jenis tanaman dalam waktu yang relatif lebih singkat dari pada dengan cara pemuliaan tanaman yang harus dilakukan penanaman secara berulang-ulang sampai beberapa generasi. Untuk mendapatkan varietas baru melalui kultur jaringan dapat dilakukan dengan cara isolasi protoplas dari 2 macam varietas yang difusikan.

Kegiatan subkultur dilakukan sesuai dengan jenis tanaman yang dikulturkan. Setiap tanaman memiliki karakteristik dan kecepatan tumbuh yang berbeda-beda. Sehingga cara dan waktu subkultur juga berbeda-beda. Tanaman yang harus segera atau relatif cepat di subkultur adalah jenis pisang-pisangan, alokasia, krisan, dan sebagainya. Tanaman yang relatif lama adalah aglaonema. Untuk tanaman yang diperbanyak dengan multifikasi tunas, maka subkultur dapat dilakukan dengan memisahkan anakan tanaman dari koloninya atau melakukan penjarangan.

Bunga potong krisan merupakan salah satu komoditas hortikultura yang mempunyai nilai ekonomis tinggi dan prospek yang cukup baik. Bunga krisan (*Chrysanthemum morifolium ramat*) merupakan salah satu spesies yang sangat populer dan tumbuh sebagai penghias tanaman dan sebagai bunga pot atau bunga potong. Permintaan konsumen terhadap bunga krisan (*Chrysanthemum morifolium ramat*) yang terus meningkat, telah memacu

para petani dan pengusaha bunga hias terutama krisan terus meningkatkan produksinya. Kendala petani krisan dalam sistem produksi krisan yaitu kurang tersedianya bibit bermutu, rendahnya daya adaptasi varietas introduksi terhadap kondisi lingkungan fisik Indonesia serta keterbatasan pengetahuan tentang teknik budidaya. Upaya peningkatan produksi krisan dalam negeri perlu dilakukan melalui penanganan yang memadai, supaya dimasa mendatang tanaman krisan ini diharapkan mampu menjadi komoditas andalan nasional sebagai penghasil devisa negara. Upaya tersebut perlu didukung dengan perbaikan sistem usaha yang menguntungkan dari pemerintah, sehingga petani termotivasi untuk melestarikan usaha tanaman krisan.

Selain itu kendala penanaman tanaman krisan di Indonesia dibutuhkan modifikasi-modifikasi lingkungan agar tanaman dapat tumbuh, mulai dari green house, menambakan sinar dari lampu, hingga suhu lingkungan. Teknik kultur invitro merupakan metode perbanyakan tanaman dengan mengisolasi bagian tanaman serta menumbuhkannya dalam kondisi aseptik. Sehingga bagian-bagian tersebut dapat memperbanyak diri dan beregenerasi menjadi tanaman dengan jumlah banyak dalam waktu yang relatif singkat, serta memiliki kualitas, tumbuh dengan tempo yang relatif cepat di bandingkan dengan konvensional. Menyediakan bibit yang berkualitas serta memiliki ketahanan terhadap hama dan penyakit.

2. Tujuan Praktikum

Pada praktikum acara Sub Kultur Krisan mempunyai tujuan yaitu :
Mengetahui teknik sub kultur untuk eksplan krisan yang tersedia.

B. Tinjauan Pustaka

Kegiatan subkultur dilakukan sesuai dengan jenis tanaman yang dikulturkan. Setiap tanaman memiliki karakteristik dan kecepatan tumbuh yang berbeda-beda. Sehingga cara dan waktu subkultur juga berbeda-beda. Tanaman yang harus segera atau relatif cepat di subkultur adalah jenis pisang-pisangan, alokasia, dan caladium. Tanaman yang relatif lama adalah aglaonema. Untuk tanaman yang diperbanyak dengan multifikasi tunas, maka subkultur dapat

dilakukan dengan memisahkan anakan tanaman dari koloninya atau melakukan penjarangan. Contoh tanamannya adalah anggrek, pisang, dan tanaman lain yang satu tipe pertumbuhan. Untuk tanaman yang tipe pertumbuhannya dengan pemanjangan batang maka subkultur bisa dilakukan dengan memotong tanaman per ruas tanaman yang ada. Namun jika ada planlet yang masih terlalu kecil dan beresiko tinggi untuk dipotong, maka sub kulturnya cukup dilakukan dengan dipisahkan dari induknya dan ditanam kembali secara terpisah. Contoh tanamannya adalah jati, krisan, dan tanaman lain yang memiliki karakteristik pertumbuhan yang sama. Kita dapat menghitung kecepatan produksi tanaman dengan mengetahui kecepatan tanaman melakukan multifikasi hingga siap di subkultur (Mike 2007).

Teknik subkultur tanaman pada media padat lebih mudah dilakukan yaitu hanya dengan meletakkan kalus yang sudah terbentuk di atas cawan petri, kemudian membelah-belahnya menjadi bagian-bagian kecil lagi dengan menggunakan pertolongan skalpel dan pinset. Setelah terjadi potongan-potongan kalus kecil-kecil, maka segeradimasukkan kembali ke dalam erlenmeyer baru yang berisi media dengan komposisi bahan kimia sama seperti media lama. Selanjutnya erlenmeyer ditutup dan diinkubasikan kembali. Semua pekerjaan harus dilakukan dalam suasana steril (George 2010).

Pemanjangan tunas dan pengakarannya dapat dilakukan sekaligus atau secara bertahap, yaitu setelah dipanjangkan baru diakarkan. Pengakaran tunas in-vitro dapat dilakukan dengan memindahkan tunas ke media pengakaran yang umumnya memerlukan auksin seperti NAA atau IBA. Keberhasilannya tergantung pada tingginya mutu tunas yang dihasilkan pada tahap sebelumnya. Disamping itu, beberapa perlakuan yang disebut *hardening in vitro* telah dilaporkan dapat meningkatkan mutu tunas sehingga plantlet atau tunas mikro tersebut dapat diaklimatisasikan dengan persentase yang lebih tinggi (Anonim 2009).

Tujuan dari pemanjangan akar, pemanjangan tunas, induksi, dan perkembangan setelah di sub kulturkan adalah untuk membentuk akar dan pucuk tanaman yang cukup kuat untuk dapat bertahan hidup sampai saat

dipindahkan dari lingkungan *in-vitro* ke lingkungan luar. Dalam tahap ini, kultur tanaman akan memperoleh ketahanannya terhadap pengaruh lingkungan, sehingga siap untuk diaklimatisasikan. Tunas-tunas yang dihasilkan pada tahap multiplikasi di pindahkan ke media lain untuk pemanjangan tunas. Media untuk pemanjangan tunas mengandung sitokinin sangat rendah atau tanpa sitokinin. Tunas tersebut dapat dipindahkan secara individu atau berkelompok. Pemanjangan tunas secara berkelompok lebih ekonomis daripada secara individu. Setelah tumbuh cukup panjang, tunas tersebut dapat diakarkan (Purnomo 2007).

Subkultur adalah usaha untuk mengganti media tanam kultur jaringan dengan media yang baru, sehingga kebutuhan nutrisi untuk pertumbuhan kalus atau protokormus dapat terpenuhi. Dari sekian banyak jenis media dasar yang digunakan dalam teknik kultur jaringan termasuk subkultur, tampaknya media MS (Murashige dan Skoog). Hal ini dikarenakan media MS mengandung jumlah hara organik yang layak untuk memenuhi kebutuhan banyak jenis sel tanaman dalam kultur. Subkultur dilakukan karena beberapa alasan berikut: (1) Tanaman sudah memenuhi atau sudah setinggi botol. (2) Tanaman sudah berada lama didalam botol sehinggapertumbuhannya berkurang. (3) Tanaman mulai kekurangan hara. (4) Media dalam botol sudah mengering (Kofranek 1980).

C. Metode Praktikum

1. Waktu dan Tempat Praktikum

Praktikum acara Sub Kultur Krisan dilaksanakan pada hari Jumat, 26 April 2013 pukul 13.00 s/d 15.00 WIB yang bertempat di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan dan Bioteknologi Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret Surakarta.

2. Alat

- a. Alat LAFC lengkap dengan lampu bunsen
- b. Petridish dan botol-botol kultur
- c. Peralatan diseksi yaitu pinset besar/kecil dan pisau pemes

3. Bahan

- a. Eksplan: tunas/buku krisan (*Chrysanthemum grandiflorum*)
- b. Aquadest steril
- c. Media kultur
- d. Spritus
- e. Alkohol 70%

4. Cara Kerja

- a. Penanaman eksplan
 - 1) Membuka plastik penutup botol media kultur
 - 2) Mengambil eksplan/memecah eksplan kalus/tunas/buku yang ada dan menanamkannya di media kultur baru dengan pinset. Setelah digunakan, pinset harus selalu dibakar di atas api.
 - 3) Selama penanaman, mulut botol harus selalu dekat dengan api untuk menghindari kontaminasi.
- b. Pemeliharaan
 - 1) Botol-botol media berisi eksplan ditempatkan di rak-rak kultur
 - 2) Lingkungan di luar botol harus dijaga suhu, kelembaban dan cahayanya.
 - 3) Penyemprotan botol-botol kultur dengan spirtus dilakukan 2 hari sekali untuk mencegah kontaminasi
- c. Pengamatan selama 5 minggu, dengan mengamati:
 - 1) Mengamati saat muncul akar, tunas, daun, dan kalus (HST) setiap hari
 - 2) Mengamati jumlah akar, tunas, dan daun 1 minggu sekali.
 - 3) Deskripsi kalus (struktur dan warna kalus), dilakukan pada akhir pengamatan.

D. Hasil Pengamatan dan Pembahasan

1. Hasil Pengamatan

Tabel 6.1 Hasil Pengamatan Sub Kultur Tanaman Krisan (*Chrysanthemum grandiflorum*)

Jenis eksplan	Tanggal	Saat Muncul (HST)				Jumlah			Keterangan
		Akar	Tunas	Daun	Kalus	Akar	Tunas	Daun	
Krisan	26-4-13	-	-	-	-	-	-	4	Hidup
	28-4-13	-	-	-	-	-	-	4	Hidup
	30-4-13	-	-	-	-	-	-	4	Hidup
	02-5-13	-	-	-	-	-	-	4	Hidup
	04-5-13	-	-	-	-	-	-	4	Hidup
	06-5-13	-	-	-	-	-	-	4	Hidup
	07-5-12	-	-	-	-	-	-	4	Hidup

Sumber: Laporan sementara



Gambar 6.1 Sub Kultur Krisan (Awal Pengamatan)



Gambar 6.2 Sub Kultur Krisan (Akhir Pengamatan)

2. Pembahasan

Kultur jaringan merupakan salah satu teknik perbanyakan tanaman secara vegetatif yang efektif digunakan untuk mendapatkan keturunan yang sama dengan induk namun dalam waktu yang sangat singkat. Salah satu tahapan yang dilakukan dalam kultur jaringan adalah sub kultur. Sub kultur merupakan pemindahan materi kultur dari satu media kemudian yang lain. Tujuan dari sub kultur adalah mendapatkan jumlah individu tanaman yang lebih banyak serta pemenuhan nutrisi untuk eksplan dapat tercukupi, sehingga pertumbuhan dapat optimal.

Tanaman krisan merupakan tanaman semusim (*annual*) yang berkisar 9-12 hari tergantung varietas dan lingkungan tempat menanamnya. Tanaman krisan tumbuh menyemak setinggi 30-200 cm, sistem perakarannya serabut yang keluar dari batang utama. Akar menyebar kesegala arah pada radius dan kedalaman 50-70 cm atau lebih. Batang tanaman krisan tumbuh agak tegak dengan percabangan yang agak jarang, berstruktur lunak, dan berwarna hijau tetapi bila dibiarkan tumbuh terus, batang berubah menjadi keras (berkayu) dan berwarna hijau kecoklatan, serta berdiameter batang sekitar 0,5 cm (Iser et al 1999).

ZPT yang digunakan adalah sitokinin dengan jenis BAP. Sitokinin yang ditambahkan ke dalam media untuk krisan, merangsang pembelahan sel dan differensiasi sel. Sitokinin mempunyai dua peran yang penting untuk propagasi secara *in vitro* yaitu merupakan perangsang pembelahan sel dalam jaringan yang dibuat eksplan dan merangsang pertumbuhan tunas daun, namun demikian, kadar sitokinin yang optimal untuk pertumbuhan tunas, dapat menghambat pertumbuhan dan pembentukan akar. Karena itu, konsentrasi dari sitokinin yang dipakai harus sesuai sehingga tidak menghambat pertumbuhan dari eksplan.

Faktor yang mempengaruhi keberhasilan dan kegagalan dari sub kultur krisan adalah kesterilan eksplan, media dan lingkungan, kesesuaian media dan konsentrasi ZPT. Apabila kondisi eksplan, media maupun lingkungan tidak steril maka akan terdapat kontaminasi baik berupa jamur maupun bakteri pada botol kultur yang berakibat pada terhambatnya pertumbuhan eksplan. Sebaliknya apabila kondisinya steril, maka eksplan akan tumbuh dengan baik ditandai dengan terbentuknya tunas, daun serta akar dari eksplan krisan. Sementara apabila media dan konsentrasi ZPT yang dipilih tidak sesuai maka eksplan krisan tidak akan dapat tumbuh walaupun dalam kondisi yang steril.

Berdasarkan pengamatan yang dilakukan pada subkultur krisan yang telah dilakukan didapatkan eksplan hidup atau tumbuh sehat, ini dikarenakan tidak terjadi kontaminasi pada eksplan. Daun pertama tanaman krisan yang

tumbuh setelah 3 hari setelah tanam, sedangkan tunas dan akar mulai tumbuh setelah 6 hari setelah tanam. Di akhir pengamatan daun yang tumbuh sebanyak 16 helai, akar yang tumbuh sebanyak 10 buah dan tunas yang masih ada hanya satu.

Kegiatan sub kultur ini, tanaman krisan tumbuh dengan baik, ini disebabkan tidak adanya kontaminasi baik jamur maupun bakteri. Kontaminasi dapat terjadi karena kebersihan yang kurang terjaga pada lingkungan tempat kultur. Subkultur ini juga sangat menuntut adanya kebersihan akan lingkungan kultur dan kesterilan alat-alat yang digunakan untuk melakukan sub kultur.

E. Kesimpulan dan Saran

1. Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diambil dari acara subkultur tanaman krisan kali ini adalah :

- a. Sub kultur merupakan kegiatan pemindahan dan pemotongan planlet dari media yang lama ke media yang baru setelah satu kali masa umur.
- b. Tujuan sub kultur merupakan memelihara pertumbuhan dan perkembangan planlet serta perbanyak planlet lebih lanjut.
- c. Eksplan yang digunakan berasal dari hasil kultur jaringan krisan yang memiliki karakteristik batang yang masih lunak dan mudah rusak.
- d. ZPT yang digunakan adalah sitokinin dengan jenis BAP yang berperan untuk merangsang pembelahan sel dan differensiasi sel.
- e. Faktor yang mempengaruhi keberhasilan dan kegagalan dari sub kultur krisan adalah kesterilan eksplan, media dan lingkungan, kesesuaian media dan konsentrasi ZPT.
- f. Dari sub kultur krisan ini tidak terdapat kontaminasi baik jamur maupun bakteri pada media dalam botol kultur.

2. Saran

Saran untuk praktikum acara sub kultur yaitu:

- a. Kebersihan lingkungan tempat kultur harus selalu terjaga kebersihannya.
- b. Sub kultur dapat dilakukan dalam jumlah yang banyak dengan tujuan untuk memperbanyak jumlah eksplan yang ingin didapatkan.
- c. Supaya berhasil dalam subkultur ini diperlukan ketelitian selain dalam hal sterilitas juga dalam hal pemindahan dan pemotongan eksplan krisan yang harus hati-hati, agar supaya eksplan tidak rusak. Dalam penanaman, eksplan juga tidak perlu dilewatkan api seperti kultur jaringan yang lain.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim 2009. Teknik In Vitro. <http://www.ipteknet.id/ind/>. Diakses Tanggal 11 Mei 2013.
- George E F dan Sherrington P D 2010. Plant Propagation by Tissue Culture. Handbook and Directory of Commercial Laboratories. England: Exegetics Limited.
- Iser M Fettig S Scheying F Viertel K and Hess D 1999. Genotype-Dependent Stable Genetic Transformation in Germany Spring Wheat Varieties Selected For High Regeneration Potential. *J. Plant Physiol.*, 154: 509-516.
- Konfraneck 1980. Budidaya Krisan. Bandung: Sinar Baru.
- Mike K 2007. Factors Affecting The Growth of In Vitro Cultured Lateral Buds from Phalaenopsis Flower Stalks. *J. Scientia Hort* 8(4) : 169 – 178.
- Purnomo S 2007. Prospek Pengusahaan Sansivera Di Indonesia. *J. Puslit Pertanian*. 6 (3): 95-97.