



KAPITA SELEKTA

**KULTUR
JARINGAN
TUMBUHAN**

Yosephine Sri Wulan Manuhara

KAPITA SELEKTA
KULTUR JARINGAN TUMBUHAN

Pasal 72 Undang-Undang Nomor 19 Tahun 2002 tentang Hak Cipta:

- (1) Barangsiapa dengan sengaja dan tanpa hak melakukan perbuatan sebagaimana dimaksud dalam Pasal 2 ayat (1) atau Pasal 49 ayat (1) dan ayat (2) dipidana dengan pidana penjara masing-masing paling singkat 1 (satu) bulan dan/atau denda paling sedikit Rp1.000.000,00 (satu juta rupiah), atau pidana penjara paling lama 7 (tujuh) tahun dan/atau denda paling banyak Rp5.000.000.000,00 (lima miliar rupiah).
- (2) Barangsiapa dengan sengaja menyiarkan, memamerkan, mengedarkan atau menjual kepada umum suatu ciptaan atau barang hasil pelanggaran Hak Cipta atau Hak Terkait sebagaimana dimaksud pada ayat (1) dipidana dengan pidana penjara paling lama 5 (lima) tahun dan/atau denda paling banyak Rp500.000.000,00 (lima ratus juta rupiah).
- (3) Barangsiapa dengan sengaja dan tanpa hak memperbanyak penggunaan untuk kepentingan komersial suatu Program Komputer dipidana dengan pidana penjara paling lama 5 (lima) tahun dan/atau denda paling banyak Rp500.000.000,00 (lima ratus juta rupiah).
- (4) Barangsiapa dengan sengaja melanggar Pasal 17 dipidana dengan pidana penjara paling lama 5 (lima) tahun dan/atau denda paling banyak Rp1.000.000.000,00 (satu miliar rupiah).
- (5) Barangsiapa dengan sengaja melanggar Pasal 19, Pasal 20, atau Pasal 29 ayat (3) dipidana dengan pidana penjara paling lama 2 (dua) tahun dan/atau denda paling banyak Rp150.000.000,00 (seratus lima puluh juta rupiah).
- (6) Barangsiapa dengan sengaja dan tanpa hak melanggar Pasal 24 atau Pasal 55 dipidana dengan pidana penjara paling lama 2 (dua) tahun dan/atau denda paling banyak Rp150.000.000,00 (seratus lima puluh juta rupiah).
- (7) Barangsiapa dengan sengaja dan tanpa hak melanggar Pasal 25 dipidana dengan pidana penjara paling lama 2 (dua) tahun dan/atau denda paling banyak Rp150.000.000,00 (seratus lima puluh juta rupiah).
- (8) Barangsiapa dengan sengaja dan tanpa hak melanggar Pasal 27 dipidana dengan pidana penjara paling lama 2 (dua) tahun dan/atau denda paling banyak Rp150.000.000,00 (seratus lima puluh juta rupiah).
- (9) Barangsiapa dengan sengaja melanggar Pasal 28 dipidana dengan pidana penjara paling lama 5 (lima) tahun dan/atau denda paling banyak Rp1.500.000.000,00 (satu miliar lima ratus juta rupiah).

KAPITA SELEKTA

**KULTUR
JARINGAN
TUMBUHAN**

Dr. Yosephine Sri Wulan Manuhara, M.Si.



Airlangga University Press

vitro. Isi bab ini adalah pengertian dasar kultur jaringan, sejarah, perlengkapan laboratorium, teknik aseptis, dan medium kultur jaringan. Pada Bab 2, saya menguraikan mengenai kultur kalus untuk produksi metabolit sekunder yang meliputi pentingnya kultur kalus dalam menggantikan tanaman asli dalam memproduksi metabolit sekunder yang mempunyai nilai ekonomi, strategi meningkatkan produksi metabolit sekunder dalam kultur kalus, dan studi kasus mengenai topik yang berkaitan dengan produksi metabolit sekunder melalui kultur kalus. Bab 3 adalah transformasi genetik pada tanaman yang menguraikan tentang pentingnya transformasi genetik pada tanaman untuk meningkatkan produktivitas tanaman budi daya, metode transformasi genetik menggunakan *Agrobacterium* sebagai vektor transformasi dan *shotgun (microprojectile bombardment)*, berbagai faktor yang memengaruhi keberhasilan transformasi serta berbagai metode identifikasi keberhasilan transformasi. Pada Bab 4 dijelaskan mengenai kultur akar rambut. Metode kultur akar rambut merupakan alternatif untuk memproduksi metabolit sekunder di dalam organ tanaman. Metode ini dapat mengatasi kelemahan yang ada pada metode kultur kalus untuk menghasilkan metabolit sekunder. Dasar metode ini adalah transformasi genetik dengan memanfaatkan bakteri *Agrobacterium rhizogenes* yang mampu menginduksi terbentuknya akar pada eksplan. Pada bab ini diuraikan mengenai faktor-faktor yang memengaruhi induksi akar rambut, produksi metabolit sekunder dalam kultur akar rambut, faktor yang memengaruhi produksi metabolit sekunder pada kultur akar rambut, dan kultur akar rambut dalam bioreaktor.

Pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada Bapak Ambrosius Suyatna yang telah banyak memberikan saran dalam penggunaan Bahasa Indonesia yang baik dan benar. Demikian juga kepada Ibu Dr. Alfinda Novi Kristanti, DEA yang telah sudi membaca dan memberi masukan selama proses penulisan buku ini. Tak lupa ucapan terima kasih juga saya sampaikan kepada semua mahasiswa tingkat Sarjana dan Magister yang ikut terlibat di dalam penelitian saya, terutama Saudara Arif Yachya, S.Si., M.Si dan Agus Muji Santoso, S.Pd., M.Si dan yang lainnya yang tidak dapat saya sebutkan satu per satu, serta semua pihak yang telah membantu hingga selesainya buku ini.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Tuhan Yang Maha Kuasa, akhirnya keinginan saya untuk menulis buku yang dapat digunakan oleh mahasiswa pada khususnya dan masyarakat pada umumnya, dapat terwujud. Buku Kapita Selekta Kultur Jaringan Tumbuhan ini ditulis berdasarkan pengalaman belajar selama menempuh pendidikan magister dan doktor di bidang Biologi, serta pengalaman mengajar mata kuliah Kultur Jaringan Tumbuhan pada Program Studi Sarjana Biologi, Kapita Selekta Kultur Jaringan Tumbuhan, dan Bioteknologi Tanaman pada Program Studi Magister Biologi dan Program Studi Doktor MIPA, Universitas Airlangga. Selain itu, penulisan buku ini juga didasari penelitian-penelitian di bidang kultur jaringan tumbuhan yang telah saya lakukan setelah menyelesaikan studi magister hingga saat ini yang dalam pelaksanaannya juga melibatkan mahasiswa tingkat Sarjana dan Magister Biologi yang menjadi bimbingan saya.

Bidang ilmu Kultur Jaringan Tumbuhan yang semula merupakan metode untuk memperbanyak tanaman secara vegetatif dalam kultur *in vitro*, hingga saat ini berkembang pesat untuk berbagai macam tujuan, seperti penghasil metabolit sekunder yang mempunyai nilai ekonomi tinggi, untuk pemuliaan tanaman melalui kultur mikrospora, kultur protoplas dan fusi protoplas, penyimpanan plasma nutfah, hingga metode transformasi genetik untuk menghasilkan tanaman transgenik. Berbagai macam penelitian untuk masing-masing topik di bidang kultur jaringan tumbuhan tersebut di atas telah banyak dilakukan dan dapat diakses di dalam jurnal-jurnal penelitian baik yang diterbitkan di dalam negeri maupun di luar negeri.

Di dalam buku Kapita Selekta Kultur Jaringan Tumbuhan ini disajikan beberapa topik berdasarkan spesifikasi penelitian yang saya lakukan selama kurun waktu 1995–2012. Pada Bab 1, diuraikan mengenai prinsip dasar kultur jaringan tumbuhan yang sangat diperlukan agar mahasiswa atau praktisi mampu melakukan teknik kultur sel, jaringan atau organ secara *in*

Mendidik bukan berarti hanya mencurahkan pengetahuan, ataupun melantarkan pengetahuan, tetapi didukung dengan mengajak anak menjadi orang yang mau belajar terus menerus, lalu belajar sendiri
(Dr. Sindhunata, SJ)

*Dedicated to my husband R. Djarot Sugiarto KS,
my daughter Patrisia Amanda Pascarina and my son Stefanus Ivan Ariadi*



© 2014 Airlangga University Press
AUP 500/04.511/01.14-B2E

Dilarang mengutip dan atau memperbanyak tanpa izin tertulis dari Penerbit sebagian atau seluruhnya dalam bentuk apa pun, baik cetak, fotoprint, mikrofilm dan sebagainya.

Cetakan pertama — 2014

Penerbit:

Airlangga University Press (AUP)
Kampus C Unair, Mulyorejo Surabaya 60115
Telp. (031) 5992246, 5992247 Fax. (031) 5992248
E-mail: aup.unair@gmail.com

Dicetak oleh:

Pusat Penerbitan dan Percetakan Unair (AUP)
(OC 149/11.13/AUP-B2E)

Perpustakaan Nasional RI. Data Katalog Dalam Terbitan (KDT)

Manuhara, Yosephine Sri Wulan

Kultur jaringan tumbuhan : kapita selekta/Yosephine Sri Wulan Manuhara. -- Surabaya: Airlangga University Press (AUP), 2014.

xiv, 168 hlm.; 15,8 x 23 cm.

Termasuk bibliografi

ISBN 978-602-7924-44-4

1. Tumbuhan -- Kultur jaringan. I. Judul.

571.538 2

14 15 16 17 18 / 9 8 7 6 5 4 3 2 1

ANGGOTA IKAPI: 001/JTI/95

Masih banyak aspek yang belum tercakup di dalam buku ini mengingat pesatnya perkembangan penelitian di bidang kultur jaringan tumbuhan. Oleh karena itu, saya sangat mengharapkan saran dan kritik pembaca sebagai bahan penyempurnaan di masa mendatang. Akhirnya saya berharap semoga buku ini dapat bermanfaat sebagai salah satu sarana untuk mencerdaskan bangsa.

Surabaya, Maret 2014

Yosephine Sri Wulan Manuhara

Departemen Biologi

Fakultas Sains dan Teknologi

Universitas Airlangga

BAB 2 KULTUR KALUS UNTUK PRODUKSI METABOLIT SEKUNDER.....	41
Pendahuluan	41
Senyawa Metabolit Sekunder	42
Strategi Meningkatkan Produksi Metabolit Sekunder dalam Kultur Kalus	43
Manipulasi Nutrisi.....	44
Manipulasi Kondisi Lingkungan	49
Elisitasi	50
Studi Kasus	53
Kandungan Alkaloid Vinkristina Kalus Daun <i>Catharanthus roseus</i> (L.) G. Don pada Berbagai Komposisi Media	53
Produksi Saponin dalam Kultur Kalus <i>Talinum paniculatum</i> Gaertn dengan Perlakuan Elisitor Ekstrak <i>Saccharomyces cerevisiae</i> dan CuSO_4	63
Daftar Pustaka	79
BAB 3 TRANSFORMASI GENETIK PADA TUMBUHAN.....	89
Pendahuluan	89
Metode Transformasi Genetik	91
<i>Agrobacterium</i> sebagai Sarana Transformasi Genetik	95
Regenerasi Tanaman Baru Hasil Transformasi	100
Plasmid Ti sebagai Vektor Transformasi	105
Vektor Ko-integrasi	107
Vektor Biner	108
Faktor yang Memengaruhi Keberhasilan Transformasi dengan Perantara <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	110
Pre-inkubasi	110
Densitas Bakteri <i>Agrobacterium</i>	110
Lama Waktu Infeksi dan pH Medium	111
Lama Waktu Ko-kultivasi.....	112
Strain <i>Agrobacterium</i>	113
Acetosyringone.....	113
Jenis Antibiotik untuk Mengeliminasi <i>Agrobacterium</i>	113

DAFTAR ISI

Prakata.....	vii
BAB 1 PRINSIP DASAR KULTUR JARINGAN TUMBUHAN..	1
Pendahuluan	1
Pengertian Dasar Kultur Jaringan Tumbuhan.....	2
Sejarah	7
Perlengkapan Laboratorium	13
Ruang Persiapan.....	14
Ruang Penanaman	15
Ruang Pemeliharaan	15
Ruang Aklimatisasi	15
Teknik Aseptik.....	15
Sterilisasi Ruang Kerja	16
Sterilisasi Medium dan Alat	17
Sterilisasi Eksplan.....	19
Medium Kultur Jaringan	20
Komponen Anorganik	22
Komponen Organik.....	24
Hormon Pertumbuhan	26
Bahan Pekat	29
pH Medium	30
Pemilihan Medium	31
Preparasi Medium.....	31
Daftar Pustaka	35

Transformasi Menggunakan <i>Shotgun (Microprojectile Bombardment)</i>	114
Metode Identifikasi Keberhasilan Transformasi.....	116
Metode PCR	116
Metode Hibridisasi <i>Southern Blotting</i>	118
Daftar Pustaka	120
BAB 4 KULTUR AKAR RAMBUT	131
Pendahuluan	131
Induksi Akar Rambut	132
Faktor yang Memengaruhi Induksi Akar Rambut.....	133
Galur (<i>strain</i>) dan Konsentrasi Bakteri <i>Agrobacterium rhizogenes</i>	134
Sumber dan Umur Eksplan	135
Komposisi Medium Kultivasi.....	136
<i>Acetosyringone</i>	137
Produksi Metabolit Sekunder dalam Kultur Akar Rambut ...	138
Faktor yang Memengaruhi Produksi Metabolit Sekunder pada Kultur Akar Rambut.....	139
Komposisi dan Konsentrasi Garam-garam Anorganik Medium	139
Kadar Sukrosa.....	140
Fase Pertumbuhan Eksplan	141
Subkultur	142
Elisitasi	143
Cahaya	144
Kultur Akar Rambut dalam Bioreaktor	145
Daftar Pustaka	160