

Research Article

Pembuatan Media MS (Murashigae and Skoog) dengan Tambahan Konsentrasi Zpt secara In Vitro

Dian Fatana^a, Lili Suharli^a, Edhi Sandra^b

^aUniversitas Teknologi Sumbawa, Indonesia

^bEsha Flora Plant and Tissue Culture

Abstrak

Kultur jaringan bekerja dengan baik jika kondisi yang diperlukan dapat dipenuhi. Persyaratan tersebut meliputi pemilihan eksplan/bahan implantasi, penggunaan media yang sesuai dan kondisi aseptik. Media utama yang digunakan dalam kultur jaringan adalah MS (Murashigae dan skoog). Media tersebut mengandung unsur hara makro dan mikro yang lengkap dibandingkan media lainnya. Selain unsur hara makro dan mikro, penambahan ZPT pada media kultur jaringan dapat menunjang pertumbuhan tanaman kultur jaringan. Zpt adalah salah satu bahan sintesis atau hormon tumbuh yang mempengaruhi proses pertumbuhan dan perkembangan melalui pembelahan sel. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui tingkat keberhasilan pembuatan Media MS dengan tambahan ZPT dan prosedur pembuatan media. Metode dalam penelitian ini meliputi Sterilisasi Alat, pembuatan Media dengan 4 variasi media serta konsentrasi hormon yang berbeda selanjutnya media di sterilisasi. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ke empat jenis media yang telah dibuat dengan variasi hormon Zip, BAP dan TDZ di dapatkan 100% steril. Kesimpulan dari penelitian ini bahwa media yang telah dibuat tidak terdapat atau terjadinya kontaminasi dan media tersebut siap digunakan untuk tahap kultur jaringan selanjutnya.

Kata kunci: Kultur jaringan, Hormon, Murashigae and Skoog

Abstract

Tissue culture works well if the necessary conditions are met. These requirements include the selection of explant and implantation materials, the use of appropriate media, and aseptic conditions. The main medium used in tissue culture is MS (Murashigae and Skoog). The media contains complete macro and micronutrients compared to other media. In addition to macro and micronutrients, the addition of ZPT to tissue culture media can support the growth of tissue culture plants. Zpt is one of the synthetic materials or growth hormones that affect the process of growth and development through cell division. The aim of this study was to determine the success rate of making MS Media with the addition of ZPT and the procedure for making media. The methods in this study included instrument sterilization, making media with four media variations and different hormone concentrations, and sterilizing the media. The results of this study indicated that the four types of media that had been prepared with variations of the hormones ZIP, BAP, and TDZ were 100% sterile. The conclusion from this study is that the media that has been made does not contain or contaminate anything, and the media is ready to be used for the next stage of tissue culture.

Keywords: Plant and Tissue Culture, Hormone, Murashigae and Skoog

Riwayat artikel

Received : 31 January 2024

Accepted : 1 February 2024

Publish online : 1 Februari 2024

Penulis korespondensi

lili.suharli@uts.ac.id

Edited by

Galih El Fikri

Keyword

Plant and Tissue Culture,
Hormone, Murashigae and
Skoog

Pendahuluan

Kultur jaringan atau biasa disebut kultur in vitro merupakan teknik memperbanyak tanaman dengan cara mengisolasi bagian tanaman seperti sel, jaringan atau organ dan menumbuhkan tanaman lengkap sama dengan induknya pada media buatan dalam kondisi aseptik [1]. Kultur jaringan dikatakan berhasil apabila telah memenuhi beberapa syarat meliputi pemilihan eksplan, bahan tanam dan penggunaan media yang cocok dan dalam keadaan aseptik [2]

Pemilihan eksplan dalam kultur jaringan adalah bagian tanaman yang masih aktif membelah (jaringan meristemik), bagian yang digunakan dalam eksplan adalah pucuk, daun, akar dan kuncup [3] Media tumbuh dalam kultur jaringan sangat mempengaruhi pertumbuhan . dan pengembangan

Citation

Fatana, D., Suharli, L., Sandra, E. (2024). Pembuatan Media MS (Murashigae and Skoog) dengan Tambahan Konsentrasi Zpt secara In Vitro. *Jurnal Satwa Tumbuhan Indonesia*, 1(1), 9-14.

eksplan dan bibit yang dihasilkan. Oleh karena itu pemilihan dan komposisi media yang digunakan tergantung dari jenis tanaman yang diperbanyak

Media dasar yang umum digunakan dalam kultur jaringan adalah yang mengandung unsur hara makro, unsur hara mikro, sukrosa, vitamin, asam amino, bahan organik, zat pengatur tumbuh [4]. Media MS (Murangshigae and Skoog) merupakan media yang sering digunakan saat ini. Media tersebut mengandung unsur hara makro dan mikro yang lengkap dibanding media lainnya sehingga dapat digunakan untuk berbagai jenis spesies tanaman.

Pada penelitian ini media MS dimodifikasi dengan menambahkan hormone untuk menunjang pertumbuhan tanaman kultur jaringan. Selain media praktis ada juga media racikan yaitu membuat media, terlebih dahulu dilakukan pembuatan media dengan membuat larutan stok terlebih dahulu. Larutan stok disimpan didalam lemari pendingin agar tidak mudah rusak dan mencegah terdegradasinya bahan-bahan kimia oleh mikroba penyebab kontaminasi.

Selain penggunaan media, penambahan Penambahan hormon ZPT (Zat Pengatur Tumbuh) dapat membantu atau mempengaruhi pertumbuhan dan regenerasi eksplan [5]. Zat pengatur tumbuh adalah salah satu bahan sintesis, atau hormon pertumbuhan, yang mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan tanaman melalui pembelahan sel, ekspansi dan diferensiasi. Pengaturan pertumbuhan ini terjadi melalui pembentukan hormon, mempengaruhi sistem hormon, menghancurkan, menggusur atau mentransfer hormon pertumbuhan [6].

ZPT (pengatur tumbuh) yang umum digunakan dalam media kultur jaringan adalah auksin dan sitokinin. Auksin merupakan ZPT yang berperan dalam menginduksi perakaran pada perbanyakan *in vitro*, sedangkan sitokinin berperan dalam menginduksi sel pucuk..

Zat pengatur tumbuh (ZPT) yang digunakan dalam kultur *in vitro* yaitu kelompok auksin dan sitokinin. ZPT dari kelas auksin yang biasa digunakan dalam kultur *in vitro* adalah: indole-3-acetic acid (IAA), indole-3-butyric acid (IBA), asam 2,4-diklorofenoksiasetat (2,4-D), dan naftalena- asam asetat asam (NAA). Kelompok sitokinin ZPT adalah BA (benzyladenine), BAP (6-benzylaminopurine), 2-iP (isopentenjadenine), kinetin (6-furfurylaminopurine), zeatin (6-4-hydroxy-3-methyl-trans-2-butenylaminopurine) dan TDZ (thidiazuron)

Mekanisme kerja hormon auksin dalam mempengaruhi pemanjangan sel tumbuhan terutama akar adalah auksin menginisiasi pemanjangan sel dengan cara mempengaruhi relaksasi/pembengkokan dinding sel. Auksin merangsang protein tertentu dalam membran plasma sel tumbuhan untuk memompa ion H ke dalam dinding sel. Ion H ini mengaktifkan enzim tertentu sehingga memecah ikatan hidrogen pada rantai molekul selulosa yang menyusun dinding sel. Sel tumbuhan kemudian menjadi stres karena air masuk melalui osmosis [7].

Hormone BAP (Benzyl Amino Purine) merupakan jenis hormone yang sering digunakan, karena fungsi utama sitokinin yaitu, mendorong pembelahan sel, mendorong pertumbuhan tanaman secara general, serta pertumbuhan akar dan menunda terjadinya penunahan (*sense*) pada tanaman [8]. TDZ merupakan sitokinin yang merangsang perkembangbiakan tunas walaupun pada konsentrasi rendah dan dapat menghasilkan tunas kerdil dengan kualitas buruk pada konsentrasi tinggi [2] Hormon NAA (naphthalene acetic acid) merupakan hormon yang termasuk golongan auksin yang sering ditambahkan pada media kultur jaringan. NAA merangsang pembelahan sel, ekspansi sel dan pemanjangan sel.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui tingkat keberhasilan pembuatan media MS dengan tambahan ZPT dan prosedur pembuatan media. Manfaat hasil penelitian ini yaitu data penelitian bisa digunakan untuk penelitian selanjutnya.

Metode

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan selama satu bulan dimulai pada bulan juni 2022 sampai dengan bulan juli 2022 bertempat di Esha Flora Plant Tissue Culture Taman Cimanggu No.9, Kendung Waringin, Kec. Tanah Sareal, Kota Bogor, Jawa Barat.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan meliputi autoclave, timbangan digital, botol kultur, panci, gelas ukur, gelas piala, spatula kaca, pipet tetes, suntikan, karet, plastic media, kertas lakmus. Bahan yang digunakan meliputi media (MS) Murashige and Skoog, Growmore, Agar Swallow, Gula, Pepton, Glycine, Casein, Mio-inisitol, Air steril, Vitamin, BAP (6-Benzyl Amino Purine), TDZ (Thidiazuron), NaOH (Natrium Hidroksida), HCl (Asam Klorida), 2ip (N6-2-Isopentenyl adenine- Purity 98), Streptomycin.

Prosedur Kerja

Sterilisasi Alat

Sterilisasi botol dilakukan dengan cara yaitu, membersihkan botol dari media yang terkontaminasi bakteri atau jamur dengan membuka plastik penutup menggunakan scapel kemudian media dikeluarkan dari botol menggunakan spatula dan selanjutnya di buang ke plastic sampah. Selanjutnya botol bekas media direndam ke dalam air yang berisi detergent 20gram dan baclin 20ml dan ditunggu selama 30menit sampai 1 jam. selanjutnya botol di dalam rendaman tersebut di gosok bagian dasar dan leher botol menggunakan spons, pastikan tidak ada agar dan noda yang tertinggal. Membilas botol dengan menggunakan air mengalir dan menyusun botol di dalam keranjang, kemudian susun botol ke dalam dandang autoklaf dan di sterilisasi selama satu jam dengan suhu 121oC dan tekanan 2 atm. Mengangkat dandang yang berisi botol. menggunakan sarung tangan, kemudian masukan botol yang telah steril ke dalam plastik yang telah disemprotkan alcohol 70%. Kemudian diikat dengan karet dan disusun dengan rapi.

Sedangkan sterilisasi peralatan penanaman yang meliputi pinset, pisau scapel dan cawan petri dilakukan dengan cara mencuci menggunakan sabun cuci piring kemudian digosok dan dibilas dengan air mengalir. Sebelum disterilisasi ke dalam autoklaf alat tanam tersebut dibungkus menggunakan koran dan disemprotkan alcohol secukupnya. Pinset dan scapel yang telah dibungkus diberi tanda untuk mengetahui jenis mata pisau yang akan digunakan seperti P3 menunjukkan pinset dan scapel no.3 dengan mata pisau yang harus digunakan no.11 dan P4 yang menunjukkan pinset dan scapel no.4 dengan mata pisau yang harus digunakan no.23. selanjutnya semua alat dimasukan ke dalam autoklaf untuk disterilisasi selama 1 jam dengan suhu 121oC dan tekanan 2 atm. Alat-alat yang telah steril kemudian disimpan pada tempat penyimpanan agar tidak terkena debu

Pembuatan Media

Menyiapkan alat dan bahan kemudian ditimbang dengan timbangan digital. Media yang dibuat ada 4 variasi yaitu 1 (Growmore+glisin+pepton) 2 (MS0+glisin+pepton) 3 (MS BAP 0,25+ 2ip 0,25+glisin+pepton) 4 (MS bap 0,5+2ip1+TDZ 2+glisin+pepton). Semua bahan dilarutkan dalam 2 liter air, kemudian ukur pH sampai dengan 5,8-6. Kemudian media dituang ke dalam panci dan ditambahkan agar 6 gr/L. Media dimasak sampai mendidih, setelah itu media dituang kedalam botol sebanyak 20 ml, untuk jenis botol asi jika jenis botol selai maka 40ml , kemudian tutup dengan menggunakan plastik dan karet. Menyusun botol yang telah diisi media pada dandang autoklaf untuk sterilisasi. Minimum pembuatan media dibuat sebanyak 2 liter dengan satu jenis media dalam satu kali pembuatan dan maksimal 4 liter dalam satu kali pembuatan. Penambahan hormone pada media dilakukan sesuai kebutuhan yang diperlukan.

Sterilisasi Media

Selanjutnya proses sterilisasi bahan atau media yaitu dengan cara, Menyusun media ke dalam dandang. Memasukan dandang ke dalam autoklaf dengan suhu 121°C dengan tekanan 2 atm selama 30 menit. Mengangkat kembali dandang dengan menggunakan sarung tangan kemudian di eratkan dengan menambahkan 1 karet lagi pada botol media supaya tidak ada udara atau gelembung yang masuk. Selanjutnya susun media kedalam plastik yang telah disemprot alkohol, 70% kemudian diikat dengan karet supaya tidak ada udara yang masuk dan disimpan pada ruangan penyimpanan.

Media yang dibuat dapat digunakan 1 minggu setelah pembuatan dengan menyeleksi bagian yang terkontaminasi untuk tidak dipakai. Pemberian waktu seminggu di maksudkan karena bakteri maupun jamur pada media tidak langsung tumbuh dalam waktu 1 hari saja.

Hasil & Pembahasan

Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi merupakan suatu proses membunuh semua bentuk kehidupan mikroba yang ada pada permukaan benda mati menggunakan uap air pada suhu 121°C selama beberapa waktu tertentu. Sterilisasi sangat berperan penting dalam keberhasilan teknik kultur jaringan. karena jika kondisi alat dan bahan ataupun ruangnya tidak steril maka akan mudah terkena kontaminasi kultur jaringan mudah terkontaminasi. Sehingga kondisi yang steril akan menentukan berhasil tidaknya teknik kultur jaringan jadi semua alat dan bahan kultur harus dalam kondisi steril sebelum digunakan.

Hasil Pembuatan Media MS Dengan Variasi ZPT

Hasil pembuatan media yang dilakukan selama satu bulan didapatkan hasil dalam bentuk tabel dibawa ini:

Tabel 1. Hasil Pembuatan Media dengan variasi ZPT

Perlakuan	Media dengan Variasi
I	Growmore+Glisin+Pepton
II	MS0+Glisin+Pepton
III	MS BAP 0,25+ 2ip 0,25+Glycin+Pepton
IV	MS BAP 0,5+ 2ip1+TDZ 2+Glycin+Pepton MS TDZ 0,2 + 2ip 0,25+Glycin+Pepton

Media yang dibuat dalam penelitian ini mendapatkan hasil seperti tabel di atas. Pada perlakuan I menggunakan growmore dengan penambahan glisin dan pepton. Manfaat growmore dapat mempercepat pertumbuhan tanaman muda, mempercepat perkembangan bunga pada tanaman hias dan meningkatkan produksi buah. Penambahan glisin dan pepton pada media sebagai asam amino dikarenakan media growmore ini belum lengkap unsur hara dan mikro oleh karena itu dipenelitian ini ada penambahan glisin dan pepton sebagai asam amino.

Sedangkan pada perlakuan II yang dimana menggunakan MS0 tidak terdapat asam amino sehingga perlu ditambahkan asam amino seperti glisin dan pepton. Asam amino mengandung sumber nitrogen dan protein untuk pertumbuhan sel, kultur sel dan kultur protoplas.

Pada perlakuan ke III dan IV media MS ditambahkan dengan hormon 2ip, BAP, dan TDZ yang dimana hormon tersebut termasuk ke dalam golongan hormon sitokinin. Hormon sitokinin berperan dalam pembelahan sel untuk menunjang perkembangan dan pembentukan tunas. Media yang telah dibuat mendapatkan hasil dalam kondisi steril dan siap digunakan untuk tahap kultur jaringan selanjut seperti inisiasi dan subkultur.

Myo-inositol merupakan senyawa golongan karbohidrat yang ditambahkan pada media kultur dalam jumlah sedikit untuk menstimulasi pertumbuhan sel pada banyak spesies tanaman. Meskipun bukan tergolong vitamin, namun senyawa ini akan terpecah jadi vitamin c dan peptin. Myo-inositol memiliki peran dalam pembelahan sel, digunakan dalam konsentrasi berkisar 50-5000 ppm [10]. Vitamin dibutuhkan tanaman sebagai katalisator dalam berbagai proses metabolisme. Vitamin digunakan untuk pertumbuhan sel serta proses diferensiasi sel dan jaringan yang ditanam secara in vitro. Beberapa jenis vitamin yang digunakan dalam kultur in vitro adalah thiamin, nicotinic acid dan pyridoxine. Diantara ketiganya, yang bersifat esensial adalah thiamin (vitamin B1) yang dibutuhkan untuk pertumbuhan sel tanaman. Nicotinic acid dan pyridoxine (vitamin B6) dibutuhkan hanya oleh spesies tanaman tertentu [11].

Myoinositol adalah senyawa karbohidrat yang ditambahkan ke media dalam jumlah kecil untuk merangsang pertumbuhan sel pada banyak spesies tanaman. Meski tidak tergolong vitamin, senyawa ini terbagi menjadi vitamin C dan peptin. Myoinositol berperan dalam pembelahan sel dan digunakan pada konsentrasi 50-5000 ppm [10]. Tanaman membutuhkan vitamin sebagai katalis dalam berbagai proses metabolisme. Vitamin digunakan untuk pertumbuhan sel dan proses diferensiasi sel dan jaringan yang dikultur secara in vitro. Beberapa vitamin yang digunakan dalam kultur in vitro termasuk tiamin, asam nikotinat, dan piridoksin. Dari ketiganya, yang terpenting adalah tiamin (vitamin B1), yang dibutuhkan untuk pertumbuhan sel tanaman. Hanya spesies tanaman tertentu yang membutuhkan asam nikotinat dan piridoksin (vitamin B6) [11].

Jenis gula yang biasa digunakan dalam kultur in vitro adalah sukrosa, jumlahnya bervariasi antara 2-3% atau 20-30 gram per liter media. Selain sukrosa, terdapat beberapa jenis gula lainnya yaitu laktosa, galaktosa, maltosa, glukosa dan fruktosa. Gula dipasok ke media tumbuh sebagai sumber karbohidrat untuk respirasi, karena tanaman yang dibudidayakan bersifat heterotrof dan tidak dapat melakukan fotosintesis untuk menghasilkan karbohidrat. Respirasi menghasilkan energi yang digunakan sel tumbuhan untuk pembelahan sel. Jadi, gula ditambahkan ke lingkungan sebagai sumber energi. Asam amino yang biasa digunakan adalah kasein hidrolisat, L-glutamin, L-asparagin, adenin, glisin, glutamin, asparagin, L-arginin, sistein dan L-tirosin [10].

Tujuan penambahan senyawa penyejag adalah untuk membuat media menjadi padat atau semi padat. Bahan pengepres dapat berupa agar, agarose atau gel gum. Agarosa dan agarose digunakan pada konsentrasi 0,7-1,0% (7-10 gram per liter media), sedangkan gellanum digunakan pada 0,2-0,6% (2-6 gram per liter media).

Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini bahwa media yang telah dibuat tidak terdapat atau terjadinya kontaminasi dan media tersebut siap digunakan untuk tahap kultur jaringan selanjutnya. Diperlukan pengujian lanjutan untuk mengetahui kandungan minyak atsiri dari *Callistemon viminalis* (Sol.ex Gaertn.) G.Don serta potensi minyak atsiri *Callistemon coccineus* F.Muell dan *Callistemon viminalis* (Sol.ex Gaertn.) G.Don sebagai antijamur dan antioksidan.

Ucapan terimakasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada diri saya sendiri karena telah melakukan penelitian ini dan saya berterima kasih kepada Esha Flora atas kesempatan dan bantuannya dalam penelitian ini. Ibu Hapsiati sebagai pemilik Esha Flora, bapak Ir. Edhi Sandra, M.Si selaku pembimbing lapangan dan Ibu Lili Suharli, S.Si., M.Pd selaku pembimbing utama penulis.

Referensi

- [1] Sulistiani E, Samsul AY. 2015. Produksi Bibit Tanaman dengan Menggunakan Teknik Kultur Jaringan. Bogor : SEAMEO BIOTROP.
- [2] Restanto P, Kriswanto B, Khozim N, Soeparjo S (2016) Kajian Thidiazuron (TDZ) dalam induksi Anggrek *Phalaenopsis* sp secara in vitro 16 (1) : 1693-2877.
- [3] Henuhili V. 2013 Kultur Jaringan Tanaman. Yogyakarta: UNY press
- [4] Basri, A.H.H. 2016. Kajian pemanfaatan Kultur jaringan dalam perbanyakan tanaman bebas virus. Jurnal *Agrica Ekstensia* 10 (1): 64-73.
- [5] Fadil, B (2019). Respon pertumbuhan plantlet tanaman nanas (*Ananas comosus* L. Merr) terhadap pemberian ekstrak jagung muda dan kinetin pada media MS secara in vitro.
- [6] Susilawati A. 2008. Teknik perbanyakan dan kekerabatan genetik pasak bumi (*Eurycoma longifolia* jack) Tesis. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, Bogor. 64 hal.
- [7] Rinaldi Rizal P. 2015 Pengaruh hormone NAPHTHALEN ACETIC ACID terhadap inisia akar tanaman kangkung air (*Ipon moen baquatic* Forssk.) 6 hal.
- [8] Asra R., Samarlina, R.A., & Silalahi, M. (2020) hormon tumbuh
- [9] Sandra, E 2013. Cara Mudah memahami dan menguasai kultur jaringan. Bogor : IPB press. 112 hal.
- [10] Dinas Pertanian dan Pangan 2018-2022 pemerintah Kota Yogyakarta.