



Petunjuk Praktikum **KULTUR JARINGAN TANAMAN**

FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS JENDERAL SOEDIRMAN

Disusun oleh:

Prof. Ir. Suprayogi, M.Sc., Ph.D.- Prof. Ir. Totok Agung Dwi Haryanto, M.P., Ph.D.
Dr. Etik Wukir Tini, S.P., M.P. - Prita Sari Dewi, S.P., M.Sc., Ph.D.
Dr. Agus Riyanto, S.P., M.Si.- Dr. Dyah Susanti, S.P., M.P.
Eka Oktaviani, S.Si., M.Biotech.- Sapto Nugroho Hadi, S.Si., M.Biotech.
Siti Nurchasanah, S.P., M.Si.- Ni Wayan Anik Leana, S.P., M.P.
Rama Adi Pratama, S.P., M.P.- Zulfa Ulinnuha, S.P., M.Si.
Dumaris Priskila Purba, S.P., M.Si - Zulfa Az Zahroh, S.P., M.Sc.



PETUNJUK PRAKTIKUM
KULTUR JARINGAN TANAMAN
JURUSAN AGROTEKNOLOGI
UNIVERSITAS JENDERAL SOEDIRMAN

Tim Penyusun:

Prof. Ir. Suprayogi, M.Sc., Ph.D.- Prof. Ir. Totok Agung Dwi Haryanto, M.P., Ph.D.
Dr. Etik Wukir Tini, S.P., M.P. - Prita Sari Dewi, S.P., M.Sc., Ph.D.
Dr. Agus Riyanto, S.P., M.Si.- Dr. Dyah Susanti, S.P., M.P.
Siti Nurchasanah, S.P., M.Si.- Ni Wayan Anik Leana, S.P., M.P.
Eka Oktaviani, S.Si., M.Biotech.- Sapto Nugroho Hadi, S.Si., M.Biotech.
Rama Adi Pratama, S.P., M.P.- Zulfa Ulinnuha, S.P., M.Si.
Dumaris Priskila Purba, S.P., M.Si - Zulfa Az Zahroh, S.P., M.Sc.

Lembar Pengesahan

Buku petunjuk praktikum Mata Kuliah Kultur Jaringan Tanaman, Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian ini telah dibaca dan disahkan, pada Tanggal 24 November 2024.

Penyusun



Zulfa Az Zahroh, S.P., M.Sc.
NIP. 199506222024062002

Menyetujui,
Koordinator Mata Kuliah



Prof. Ir. Suprayogi, M.Sc., Ph.D.
NIP. 196201211988031002

Mengetahui,

Kepala Laboratorium Pemuliaan
Tanaman dan Bioteknologi



Dr. Dyah Susanti, S.P., M.P.
NIP. 197712262005012001

Ketua Gugus Kendali Mutu
Program Studi Agroteknologi



Ir. Agus Sarjito, M.Sc.
NIP. 196010131987031007

Kata Pengantar

Puji syukur kehadirat Allah SWT yang hingga saat ini masih memberikan nikmat dan karunia-Nya, sehingga kami masih diberi kesempatan untuk menyelesaikan tugas penyusunan Buku Petunjuk Praktikum Kultur Jaringan Tanaman.

Kami menyampaikan terimakasih kepada Ketua Jurusan Agroteknologi, Korprodi S1 Agroteknologi dan Dekan Fakultas Pertanian, Universitas Jenderal Soedirman yang telah menyerahkan kepercayaan kepada kami untuk menyelesaikan buku petunjuk praktikum ini dengan tepat waktu dan digunakan sebagai acuan dalam pelaksanaan Praktikum Kultur Jaringan Tanaman.

Kami berharap semoga buku petunjuk ini dapat berguna dalam menunjang kegiatan akademik, khususnya mata kuliah Praktikum Kultur Jaringan Tanaman, serta menambah wawasan terkait perbanyakan tanaman melalui teknik *in-vitro*.

Purwokerto, November 2024
Tim Penyusun

Tata Tertib Praktikum

1. Praktikum dilaksanakan secara berkelompok di lingkungan Fakultas Pertanian, Universitas Jenderal Soedirman.
2. Prosedur pelaksanaan mengikuti petunjuk praktikum ini.
3. Seluruh kegiatan praktikum wajib diikuti oleh seluruh praktikan yang disertai dengan dokumentasi dan laporan praktikum dalam bentuk *hard-file*.
4. Praktikan wajib mengikuti pretest pada setiap acara praktikum.
5. Tidak ada *inhal* praktikum, kecuali dengan alasan yang dapat dipertanggungjawabkan (sakit) dengan surat keterangan dan ijin dari kepala laboratorium.
6. Laporan praktikum setiap acara dikumpulkan melalui asisten masing-masing kelas, paling lambat 1 minggu setelah ACC acara praktikum selesai dan direvisi.
7. Keterlambatan pengumpulan laporan dapat berpengaruh pada nilai akhir praktikan.

Daftar Acara

Lembar Pengesahan	i
Kata Pengantar	ii
Tata Tertib Praktikum.....	iii
ACARA I	1
Pengenalan Laboratorium Kultur Jaringan	1
ACARA II	6
Sterilisasi Alat dan Bahan	6
ACARA III.....	8
Pembuatan Media Kultur Jaringan.....	8
ACARA IV	22
Identifikasi Patogen Penyebab Kontaminasi dan Penanganan Kontaminasi.....	22
ACARA V	25
Jenis-jenis Eksplan dan Metode Sterilisasinya	25
ACARA VI.....	20
Penanaman Eksplan	20
ACARA VII	23
Aklimatisasi	23
Daftar Pustaka.....	26
Lampiran.....	27
Glosarium.....	28

Daftar Gambar

Gambar 1. Bagian-bagian <i>laminar air flow</i>	2
Gambar 2. Bagian-bagian autoklaf manual (A) dan autoklaf otomatis (B)	2
Gambar 3. Timbangan analitik	3
Gambar 4. Bagian-bagian <i>magnetic stirrer</i>	4
Gambar 5. Bagian-bagian oven pada laboratorium kultur jaringan tanaman	4
Gambar 6. Rak kultur pada laboratorium kultur jaringan tanaman	5
Gambar 7. Penampakkan bakteri pada eksplan biji duku (a dan b) dan pada eksplan kencur (kanan) (Abdullah et al., 2022; Shofiyani dan Damajanti, 2015) .	23
Gambar 8. Penampakan jamur pada eksplan biji duku (a dan b) dan pada eksplan kencur (kanan) (Abdullah et al., 2022; Shofiyani dan Damajanti, 2015)	23

Daftar Tabel

Tabel 1. Alat-alat yang digunakan dalam kegiatan Praktikum Kultur Jaringan Tanaman	6
Tabel 2. Identifikasi tahapan proses sterilisasi	8
Tabel 3. Identifikasi proses pembuatan media kultur	21
Tabel 4. Pengamatan keberhasilan pembuatan media MS0, MS1, dan MS2	21
Tabel 5. pengamatan media kultur (MS0/MS1/MS2) setelah 3 hari dan 5 hari	24
Tabel 6. Hasil pengamatan kondisi eksplan terhadap waktu perendaman sterilisasi .	27
Tabel 7. Pertumbuhan eksplan pada minggu ke-2 dan minggu ke-4	22
Tabel 8. Pengamatan jumlah daun, lebar daun, OPT dan gejala stress pada tanaman hasil aklimatisasi	23

ACARA I PENGENALAN LABORATORIUM KULTUR JARINGAN

A. TUJUAN

1. Mahasiswa mampu mengetahui alat-alat yang digunakan pada laboratorium kultur jaringan tanaman.
2. Mahasiswa mampu menggunakan dan mengoperasikan alat sesuai fungsi dan kegunaannya.

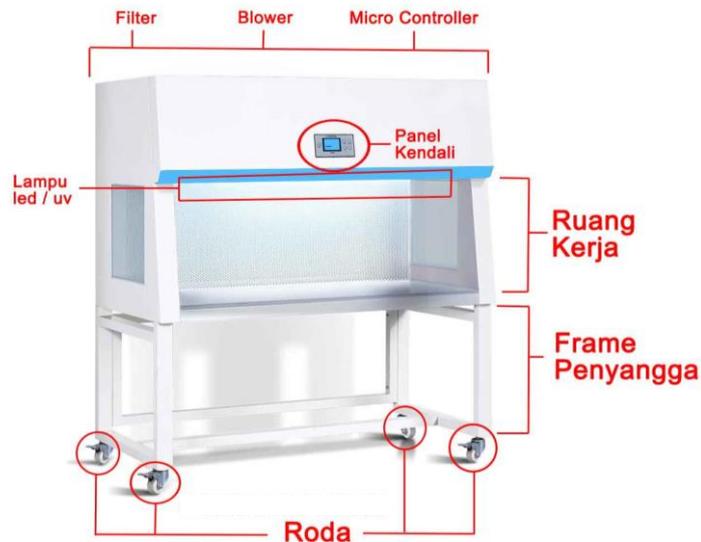
B. LANDASAN TEORI

Kultur jaringan tanaman atau yang dikenal dengan nama kultur *in vitro* adalah suatu teknik untuk menumbuhkan sel, jaringan atau organ tanaman pada media buatan yang mengandung hara secara aseptik di laboratorium.

Kondisi aseptik ini merupakan syarat mutlak agar pekerjaan kultur dapat berjalan baik dan berhasil. Untuk itu maka diperlukan alat-alat khusus untuk mendukung kondisi aseptik tersebut. Peralatan dalam kultur jaringan digunakan untuk pekerjaan kultur jaringan, dari sterilisasi, penanaman dan inkubasi kultur. Beberapa diantaranya yang penting dan wajib dimiliki oleh setiap laboratorium kultur jaringan adalah: *laminar air flow*, autoklaf, oven, timbangan analitik (*analytical balance*), *magnetic stirrer*, *glassware* dan rak kultur.

1. *Laminar air flow*

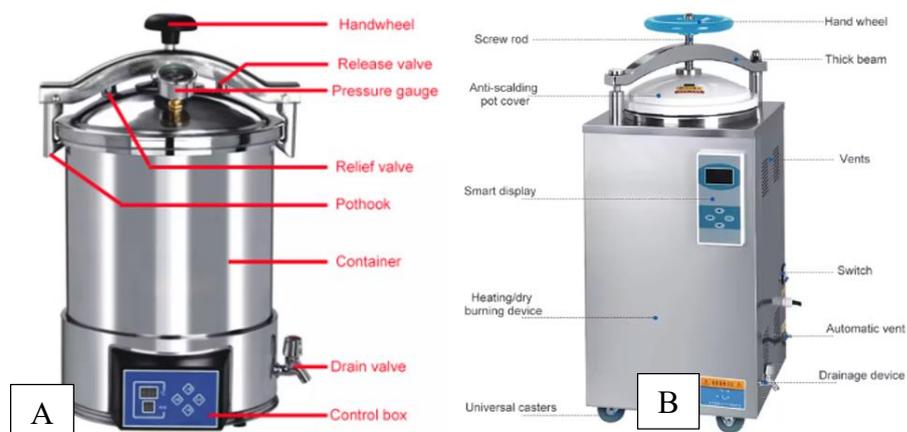
Laminar air flow merupakan meja kerja steril digunakan untuk penanaman kultur. *Laminar air flow* memiliki konsep kerja mengalirkan udara steril terus menerus menggunakan blower yang telah disaring melalui filter khusus untuk memurnikan udara (Gambar 1). Penggunaan LAF berfungsi untuk meminimalisir potensi kontaminasi mikroba yang berasal dari udara maupun peralatan yang digunakan dalam kegiatan kultur jaringan tanaman.



Gambar 1. Bagian-bagian *laminar air flow* (Sumber: andarupm.co.id)

2. Autoklaf

Autoklaf adalah alat untuk sterilisasi dengan metode uap panas (*steam heating*). Pada kegiatan kultur jaringan tanaman, autoklaf digunakan untuk sterilisasi media dan peralatan dari mikroorganisme seperti bakteri, virus, jamur dan parasit. Prinsip kerja autoklaf pada proses sterilisasi adalah dengan memberikan tekanan udara uap panas (1 atm) pada suhu 121 °C. Berdasarkan daya yang digunakan autoklaf digolongkan menjadi dua, yaitu autoklaf yang menggunakan kompor (manual) dan yang autoklaf yang menggunakan daya listrik (otomatis). Keduanya memiliki cara kerja yang sama dalam proses sterilisasi (Gambar 2).



Gambar 2. Bagian-bagian autoklaf manual (A) dan autoklaf otomatis (B) (Sumber: andarupm.co.id)

3. **Timbangan analitik (*analytical balance*).**

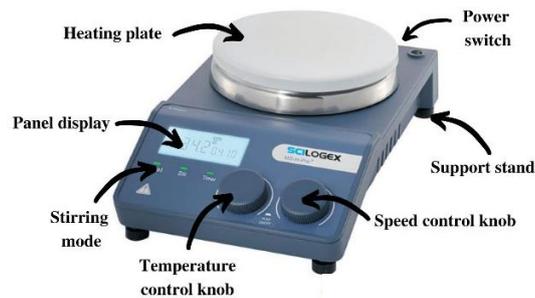
Timbangan analitik merupakan timbangan dengan tingkat ketelitian sangat tinggi, yang biasanya digunakan untuk mengukur massa dari benda-benda yang sangat ringan (Gambar 3). Pada kegiatan kultur jaringan tanaman, timbangan digunakan untuk menimbang bahan/zat yang digunakan dalam kultur, misalnya zat pengatur tumbuh, bahan untuk media, gula, agar, dan lain sebagainya.



Gambar 3. Timbangan analitik (Sumber: andarupm.co.id)

4. ***Magnetic stirrer***

Magnetic stirrer adalah alat laboratorium yang digunakan untuk mengaduk dan memanaskan larutan dengan bantuan batang pengaduk (*stirrer bar*). Pada kegiatan kultur jaringan tanaman, *Magnetic stirrer* digunakan dalam proses pembuatan media untuk pemanasan (*heating*) dan pengadukan (*stirring*) (Gambar 4). Dengan fungsi tersebut maka alat ini dilengkapi dengan dua tombol putar, yakni tombol “*stirrer*” (pengaduk) dan tombol “*heat*” (untuk pemanasan). *Magnetic stirrer* dilengkapi dengan magnet pengaduk yang berputar dalam wadah (gelas ukur, dsb yang ditaruh di atas *magnetic stirrer*). Dalam pembuatan media proses pengadukan sangat diperlukan untuk membuat media menjadi homogen (homogenisasi). Pemanasan larutan media kultur diperlukan hingga suhu mencapai kurang lebih 80 °C.



Gambar 4. Bagian-bagian *magnetic stirrer* (Sumber: andarupm.co.id)

5. Oven

Khusus untuk laboratorium kultur jaringan, oven digunakan sebagai alat sterilisasi. Sterilisasi dengan oven hanya bisa untuk alat-alat kecil dan *glasswares* dan tidak bisa untuk sterilisasi media. Metode sterilisasi dengan oven dikenal dengan *dry heating*, karena proses sterilisasi menggunakan udara kering yang panas. Pada laboratorium kultur jaringan tanaman, oven diletakkan di ruang preparasi (Gambar 5).



Gambar 5. Bagian-bagian oven pada laboratorium kultur jaringan tanaman (Sumber: andarupm.co.id)

6. Rak Kultur

Rak kultur merupakan tempat untuk meletakkan eksplan setelah ditanam pada media steril dan menumbuhkannya hingga menjadi plantlet. Rak kultur diletakkan dalam ruang kultur. Semua proses morfogenesis hingga terbentuknya plantlet berlangsung di ruang kultur pada rak kultur (Gambar 6).



Gambar 6. Rak kultur pada laboratorium kultur jaringan tanaman (Sumber: plantcelltechnology.com, labassociates.com)

7. **Glasswares dan Peralatan Kecil Lainnya.**

Glasswares adalah semua peralatan kecil yang terbuat dari bahan gelas seperti gelas ukur, gelas dan labu erlenmeyer, serta botol kultur. Peralatan kecil lainnya terdiri dari *dissecting kit* (perataan untuk memotong/mengiris), pinset, spatula dan lain-lain yang umumnya terbuat dari bahan logam (*stainlesssteel*). Spatula merupakan pengaduk atau digunakan untuk mengambil bahan berupa serbuk. Pinset digunakan untuk memegang / menjepit benda, umumnya digunakan pada saat penanaman eksplan. Scalpel adalah gagang pisau yang dalam penggunaannya berpasangan dengan blade (pisau). Gunanya adalah untuk mengiris/memotong, dalam hal ini bahan eksplan yang akan ditanam. Bagian blade dijual secara terpisah dari scalpel dan sudah dalam keadaan steril. Pisau steril ini bersifat sekali pakai. *Glassware* dan peralatan kecil disterilisasi dengan oven maupun dengan autoklaf. Alat-alat ini harus dibungkus dengan kertas saat sterilisasi agar kondisi steril tetap terjaga sampai alat tersebut digunakan.

C. BAHAN DAN ALAT

- *Laminar air flow*
- Autoklaf
- Oven
- *magnetic stirrer*
- rak kultur
- botol kultur
- cawan petri
- gelas ukur
- batang pengaduk
- timbangan
- *beaker glass*
- *dissecting kit* (*scalpel*, gunting, pinset, dll)

D. PROSEDUR PELAKSANAAN PRAKTIKUM

1. Amati dan identifikasi peralatan yang digunakan dalam kegiatan kultur jaringan tanaman.
2. Perhatikan bagaimana cara kerja alat-alat tersebut.

E. PENGAMATAN

1. Lakukan identifikasi kegunaan dan cara kerja alat-alat yang digunakan pada praktikum kultur jaringan tanaman!

Tabel 1. Alat-alat yang digunakan dalam kegiatan Praktikum Kultur Jaringan Tanaman

No	Nama alat	Kegunaan dan cara kerja	Foto
1.	Laminar air flow	Kegunaan: Cara kerja:	

ACARA II

STERILISASI ALAT DAN BAHAN

A. TUJUAN

1. Mahasiswa mampu mengetahui cara sterilisasi alat dalam teknik perbanyakan tanaman melalui kultur jaringan.
2. Mahasiswa mampu mensterilisasi alat yang digunakan dalam teknik perbanyakan tanaman dengan kultur jaringan.

B. LANDASAN TEORI

Kondisi steril merupakan syarat utama keberhasilan praktik teknik kultur jaringan baik untuk tujuan perbanyakan tanaman maupun tujuan lainnya seperti transformasi genetik. Kondisi steril/aseptik berarti bebas mikroorganisme. Dengan demikian, semua alat yang akan digunakan dalam proses kultur harus dalam kondisi aseptik/steril. Untuk itulah diperlukan sterilisasi terhadap semua alat yang akan digunakan seperti pinset, spatula, botol kultur, gelas ukur, scalpel, dsb.

Proses sterilisasi diawali dengan langkah persiapan yakni pengemasan alat alat yang akan disteril. Alat-alat tersebut harus dalam keadaan terbungkus saat disteril maupun setelah disteril, untuk menghindarkan alat dari ekspose terhadap mikroorganisme, sehingga ketika digunakan tetap dalam kondisi steril.

C. BAHAN DAN ALAT

Bahan dan alat yang dibutuhkan meliputi:

- autoklaf
- botol kultur
- alat tanam seperti pinset dan scalpel, gelas ukur
- akuades
- kertas hvs
- kertas coklat
- plastik/aluminium foil
- karet gelang

D. PROSEDUR PELAKSANAAN PRAKTIKUM

1. Bungkus alat- alat seperti botol kultur, gelas ukur dan akuades (dalam wadah) dengan plastik dan diikat dengan karet gelang.
2. Karet gelang dan plastik (untuk tutup botol kultur) disiapkan dalam wadah dan ditutup dengan plastik dan diikat dengan karet gelang.
3. Alat tanam dibungkus dengan kertas coklat.
4. Masukkan alat-alat yang sudah siap tersebut dalam autoklaf, diletakkan dalam sarangan (panci autoklaf), sementara di bawah sarangan dibari air, kemudian

tutup autoklaf ditutup rapat, katup dibiarkan terbuka dan dihubungkan dengan sumber tenaga.

5. Autoklaf kompor dipanaskan diatas kompor, sedangkan untuk autoklaf otomatis dihubungkan dengan sumber listrik.
6. Setelah beberapa lama, uap akan keluar dari katup, sebagai penanda bahwa air di dalamnya sudah panas dan mendidih. Pada saat itu maka katup ditutup agar tekanan dan suhu di dalam autoklaf dapat naik dengan cepat.
7. Suhu akan naik sekitar 121°C dan tekanan 15 psi (1 atm).
8. Kondisi ini dipertahankan sesuai waktu yang dibutuhkan untuk sterilisasi, misalnya untuk sterilisasi media diperlukan waktu selama 30 menit, sedangkan untuk terilisasi alat membutuhkan waktu selama 60 menit.
9. Setelah mencapai waktu yang dibutuhkan autoklaf dilepaskan dari sumber tenaga (kompor/listrik).
10. Selanjutnya katup dibuka secara perlahan, agar suhu turun secara perlahan pula.
11. Tutup autoklaf dapat dibuka setelah suhu/tekanan sudah mencapai nol. Selanjutnya, alat/ bahan di dalamnya dapat dikeluarkan secara hati-hati.
12. Simpan alat- alat yang sudah steril tersebut pada ruang khusus untuk penyimpanan alat/bahan steril.

E. PENGAMATAN

1. Jelaskan tahapan proses sterilisasi yang dilakukan pada kegiatan praktikum kali ini!

Tabel 2. Identifikasi tahapan proses sterilisasi

No	Tahapan sterilisasi	Alat yang dibutuhkan	Foto kegiatan

ACARA III

PEMBUATAN MEDIA KULTUR JARINGAN

A. TUJUAN

Mahasiswa memiliki keterampilan dalam pembuatan media kultur.

B. LANDASAN TEORI

Keberhasilan metode kultur jaringan sangat tergantung pada jenis medium yang digunakan. Beberapa media kultur jaringan antara lain, medium Murashige dan Skoog (MS) (Murashige & Skoog, 1962), medium B5 (Gamborg et al., 1968), medium SH (Schenk & Hilderbrandt), medium WPM (*Woody Plant Medium*) dan medium N6. Komponen medium kultur jaringan tumbuhan meliputi: garam-garam anorganik, vitamin, asam amino, karbohidrat dan zat pengatur tumbuh. Secara umum media kultur mengandung :

- **Hara makro:** nitrogen (N), posfor (P), kalium (K), kalsium (Ca), magnesium (Mg), dan sulfur (S).
- **Hara mikro:** ferum/zat besi (Fe), mangan (Mn), zinc (Zn), cobalt (Co), copper (Cu) dan molybdenum (Mo).
- **Gula:** Gula diberikan pada media kultur sebagai sumber karbohidrat.
- **Vitamin:** Vitamin dibutuhkan tanaman sebagai katalisator dalam berbagai proses metabolisme. Beberapa jenis vitamin yang digunakan dalam kultur *in vitro* adalah thiamin, nicotinic acid dan pyridoxine.
- **Myo-inositol:** Myo-inositol adalah senyawa golongan karbohidrat yang ditambahkan pada media kultur dalam jumlah sedikit untuk menstimulasi pertumbuhan sel Meskipun bukan tergolong vitamin, namun senyawa ini akan terpecah menjadi vitamin C dan pectin.
- **Zat pengatur tumbuh:** Umumnya ada dua golongan zat pengatur tumbuh (ZPT) yang sering digunakan dalam kultur *in vitro*, yakni golongan auksin dan sitokinin.
- **Pemadat media:** Pemadat media dapat berupa agar, bioagar atau gellan gum. Penambahan senyawa pemadat bertujuan membuat media menjadi padat.
- **Asam amino:** Asam amino tidak selalu harus ditambahkan pada media kultur. Asam amino digunakan dalam kultur sel dan kultur protoplas.
- **Senyawa organik alami:** Senyawa organik alami seperti air kelapa, santan kelapa, jus/ekstrak tomat, ekstrak pisang, ekstrak kentang dan lain sebagainya dapat ditambahkan pada media kultur untuk menstimulasi pertumbuhan sel/jaringan kultur.

Unsur/senyawa tersebut kini sudah tersedia dalam bentuk kemasan yang disebut sebagai media dasar. Media dasar yang sering digunakan dalam kultur *in vitro*,

diantaranya adalah media MS (Murashige dan Skoog), Knudson, VW (Vacin dan Went), dan NP (New Phalaenopsis).

Proses pembuatan media menjadi penting karena media yang baik adalah yang larutannya terhomogenisasi sempurna, memiliki pH yang sesuai, agar/pemadat ngeset dengan baik, dan steril.

Dalam praktikum kali ini akan dilakukan pembuatan 3 macam media dengan menggunakan media dasar MS yaitu MS0, MS1, MS2. Media MS0 merupakan media MS murni, media MS1 merupakan media MS ditambah 50 ml air kelapa per liter media; sedangkan pada media MS2 media MS ditambah 100 ml air kelapa per liter media.

C. BAHAN DAN ALAT

Bahan dan alat yang dibutuhkan meliputi:

Bahan:

- akuades
- media MS
- gula
- air kelapa (5% dan 10%)
- agar-agar
- NaOH/HCl

Alat:

- gelas beaker
- *magnetic stirrer*
- panci
- spatula
- batang pengaduk
- botol kultur
- plastik wrap
- karet gelang
- autoklaf
- pH indikator
- timbangan
- aluminium foil.

D. PROSEDUR PELAKSANAAN PRAKTIKUM

Cara membuat satu liter media tanam adalah sebagai berikut:

- Siapkan gelas ukur (ukuran 2 Liter) dan letakkan di atas *magnetic stirrer*. Ukuran gelas harus lebih besar dari volume media yang akan dibuat.
- Dibuat 3 macam media yakni: Media MS0 (media MS murni), Media MS1 (media MS + 50 ml air kelapa per liter), dan Media MS2 (media MS + 100 ml air kelapa per liter).
- Timbang media MS, dan masukkan ke dalam gelas ukur. **Media MS**, yang dibutuhkan untuk pembuatan 1 liter media sebanyak **4,43 gram**.
- Tambahkan akuades hingga 500 ml. Masukkan magnet pengaduk dan putar knob “stirrer” *magnetic stirrer* untuk mulai melarutkan (homogenisasi).

- Masukkan **30 gram sukrosa** (gula pasir) untuk setiap liter media.
- Penambahan ZPT/vitamin/bahan organik:
 - Pada media MS0 tidak dilakukan penambahan ZPT maupun bahan organik.
 - Pada media MS1 (MS + 50 ml air kelapa) ditambahkan 50 ml air kelapa per liter.
 - Media MS2 (MS + 100 ml air kelapa) ditambahkan 100 ml air kelapa per liter.
- Selanjutnya pada masing-masing jenis media ditambahkan akuades hingga volume mendekati satu liter, misal 900 ml.
- Ukur pH dengan pH indikator. **pH media** harus berkisar antara **5,6-5,8**. Untuk menaikkan pH dapat dilakukan penambahan larutan yang bersifat basa (NaOH atau KOH), sedangkan untuk menurunkan pH dapat dilakukan penambahan larutan yang bersifat asam (HCl).
- Timbang pematat yaitu **agar** sebanyak **7 gram** untuk setiap liter media dan tambahkan ke masing- masing jenis media.
- Tambahkan akuades lagi hingga volumenya benar-benar tepat satu liter. Pada saat menambahkan akuades, matikan stirrer sebentar, setelah tepat satu liter nyalakan kembali “*stirrer*”.
- Nyalakan pemanas (“*heat*”). Lakukan pengadukan dan pemanasan secara bersamaan sampai larutan benar benar homogen.
- Jika sudah mendidih (suhu mencapai 80 °C), media dapat dituang ke dalam botol-botol kultur yang sudah disteril, ditutup rapat dengan penutup botol yang terbuat dari karet atau dengan plastik lembaran atau aluminium foil. Volume media yang diisikan ke botol kultur sebanyak 1/5 ukuran botol.
- Selanjutnya botol-botol yang sudah berisi media tersebut disteilisasi dengan autoklaf.
- Setelah proses sterilisasi selesai, tunggu sampai suhu autoklaf mencapai 0 °C atau tekanan 0 psi, kemudian botol-botol kultur dapat dikeluarkan
- Setelah dikeluarkan dari autoklaf, media disimpan di ruang media. Media dapat digunakan paling cepat satu minggu kemudian, untuk memberikan kesempatan pada mikroorganisme (seandainya masih ada dalam media) untuk tumbuh dalam kurun waktu tersebut, sehingga dapat mencegah penggunaan media yang

mengandung mikroorganisme dorman di dalamnya.

- Dalam kondisi tidak tersedianya “*magnetic stirrer*” di laboratorium, maka pembuatan media dapat dilakukan di atas kompor. Peran gelas ukur digantikan oleh panci aluminium atau “*stainless steel*” yang tahan untuk pemanasan di atas kompor, sedangkan untuk mengaduk digunakan sendok pengaduk sebagai pengganti magnet yang diputar oleh *stirrer*.

E. PENGAMATAN

1. Lakukan identifikasi proses pembuatan media kultur!
2. Setelah 3 hari, lakukan pengamatan, apakah media berhasil terbentuk dengan baik atau rusak? Berapa persentase media yang berhasil terbentuk?
3. Apa yang menyebabkan media gagal terbentuk? Apa faktor keberhasilan dalam pembuatan media kultur?

Tabel 3. Identifikasi proses pembuatan media kultur

No	Tahapan Kegiatan	Alat yang dibutuhkan	Foto kegiatan

Tabel 4. Pengamatan keberhasilan pembuatan media MS0, MS1, dan MS2

	Jumlah media yang dibuat	Jumlah media berhasil	Jumlah Media gagal	Penyebab media gagal terbentuk
MS0				
MS1				
MS2				

ACARA IV

IDENTIFIKASI PATOGEN PENYEBAB KONTAMINASI DAN PENANGANAN KONTAMINASI

A. TUJUAN

1. Mahasiswa mampu mengidentifikasi patogen penyebab kontaminasi.
2. Mahasiswa melakukan penanganan pasca kontaminasi.

B. LANDASAN TEORI

Teknik kultur jaringan adalah suatu metode untuk mengisolasi bagian tanaman serta menumbuhkannya dalam kondisi aseptik, sehingga bagian-bagian tersebut dapat memperbanyak diri dan beregenerasi menjadi tanaman lengkap kembali. Kultur jaringan berperan menghasilkan tanaman yang bebas virus.

Faktor pembatas dalam perbanyak tanaman secara kultur jaringan salah satunya adalah terjadinya kontaminasi pada periode kultur. Kontaminasi dapat berasal dari eksplan (baik internal maupun eksternal), organisme kecil yang masuk ke dalam media (seperti semut), botol kultur atau alat-alat yang tidak steril, lingkungan kerja dan ruang kultur yang tidak steril (spora di udara).

Eksplan dapat terkontaminasi oleh berbagai mikroorganisme seperti jamur, bakteri, serangga atau virus. Namun sumber utama kontaminasi adalah spora jamur dan bakteri yang membentuk bagian alami dari atmosfer. Banyak yang bersifat non patogenik, artinya mereka tidak menyebabkan bahaya bagi tanaman inang pada kondisi normal.

Kontaminasi permukaan dapat diatasi dengan cara pencucian menggunakan berbagai perlakuan bahan pensteril. Keterbatasan utama adalah untuk memberikan perlakuan yang cukup kuat untuk mengeliminasi kontaminasi tanpa merusak jaringan tanaman.

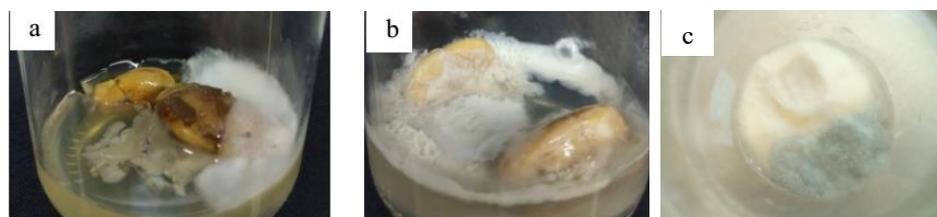
Kontaminasi yang disebabkan oleh mikroorganisme endofilik (organisme yang hidup didalam sel atau antar ruang antar sel tanaman) yang sering merupakan biota dari tanaman sumber eksplan, sulit diatasi dengan sterilisasi permukaan. Keadaan ini disebabkan oleh koloni bakteri sering tidak muncul pada saat baru dikulturkan pertama kali, tetapi beberapa minggu kemudian muncul koloni bakteri. Bakteri tersebut tetap ada setelah disubkulturkan beberapakali, karena hidupnya memang secara epifit didalam jaringan tanaman.

Eksudasi dari eksplan merupakan tipe kontaminasi bukan dari organisme. Ketika jaringan tanaman terluka, dengan cara pemotongan atau perlakuan bahan kimia seperti larutan klorin, reaksi fisiologis terjadi pada sel disekitar luka. Salah satu prosesnya adalah produksi bahan biokimia atau sebagai produk pecahan atau sintesa sebagai mekanisme perlindungan. Keluarnya substansi dari jaringan akan terjadi. Bahan kimia ini mungkin akan memberi pengaruh mematikan pada pertumbuhan kultur.

Adapun kontaminasi yang sering terjadi pada kultur jaringan tanaman biasanya disebabkan oleh bakteri dan 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 mengeluarkan lendir, hal ini dikarenakan bakteri langsung menyerang jaringan dari tubuh tanaman (Gambar 7). Sedangkan bila terkontaminasi oleh jamur, tanaman akan lebih kering, dan muncul hifa jamur yang biasanya dapat dicirikan dengan adanya garis-garis (seperti benang) yang berwarna putih sampai abu-abu (Gambar 8).



Gambar 7. Penampakan bakteri pada eksplan biji duku (a dan b) dan pada eksplan kencur (c) (Abdullah et al., 2022; Shofiyani dan Damajanti, 2015)



Gambar 8. Penampakan jamur pada eksplan biji duku (a dan b) dan pada eksplan kencur (c) (Abdullah et al., 2022; Shofiyani dan Damajanti, 2015)

C. BAHAN DAN ALAT

Bahan dan alat yang akan digunakan meliputi media kultur, lup, sabun antibakteri, sikat botol.

D. PROSEDUR PELAKSANAAN PRAKTIKUM

1. Identifikasi patogen

- Pengamatan kontaminasi diamati pada hari ke-3 dan hari ke-5 setelah pembuatan media kultur.
- Lakukan identifikasi patogen penyebab kontaminasi.

2. Penanganan kontaminasi

- Botol kultur yang terkontaminasi harus dikeluarkan dari ruang kultur.
- Setelah itu cuci botol kontam dengan sabun anti bakteri, bilas hingga bersih.
- Langkah terakhir adalah sterilisasi kembali botol yang telah bersih di autoclave selama 10 menit. Botol kultur siap digunakan kembali.

E. PENGAMATAN

1. Amati kondisi media kultur setelah 3 hari dan 5 hari, berapa presentase media bersih dan media yang rusak/terkontaminasi?
2. Bagaimana perbedaan hasil amatan kondisi media yang terkontaminasi jamur dengan media yang terkontaminasi bakteri?

Tabel 5. pengamatan media kultur (MS0/MS1/MS2) setelah 3 hari dan 5 hari

	Jumlah media kultur	Jumlah media kultur bersih/steril		Jumlah media kultur terkontaminasi		Jenis kontaminan			
						Jamur		Bakteri	
		Hari ke-3	Hari ke-5	Hari ke-3	Hari ke-5	Hari ke-3	Hari ke-5	Hari ke-3	Hari ke-5
MS0									
MS1									
MS2									

ACARA V

JENIS-JENIS EKSPLAN DAN METODE STERILISASINYA

A. TUJUAN

1. Mahasiswa mampu mengetahui jenis-jenis eksplan.
2. Mahasiswa mampu mengetahui berbagai metode sterilisasi eksplan.

B. LANDASAN TEORI

Bagian tanaman yang digunakan untuk memulai kultur jaringan disebut eksplan (*explant*). Eksplan yang digunakan dapat berupa ujung tunas, potongan daun, potongan batang berbuku, ujung akar, bagian-bagian bunga, atau bagian-bagian biji. Penentuan bagian mana dari tanaman yang akan digunakan sebagai eksplan harus melalui pertimbangan dan tergantung tujuan kultur dan arah perkembangan yang diinginkan. Setiap organ tanaman memiliki respon- berbeda terhadap ZPT dan lingkungan mikro yang dipaparkan, oleh karena itu penentuan eksplan akan memengaruhi keputusan komposisi media yang akan digunakan.

Sterilisasi eksplan merupakan tahap awal yang penting untuk mendapatkan kultur aseptik yang tidak terkontaminasi bakteri, cendawan dan mikroorganisme lain. Sterilisasi eksplan sebelum penanamannya di media kultur steril umumnya dilakukan dalam beberapa tahap, yaitu dimulai dengan pencucian bahan tanaman dengan air dan detergen, perendaman dalam larutan desinfektan, misalnya ethanol, sodium hipoklorit (NaClO), hidrogen peroksida (H_2O_2), mercury chloride (HgCl_2) dan diakhiri dengan pembilasan dengan air steril. Eksplan yang sudah disterilisasi kemudian ditanam secara aseptik pada media kultur steril agar mendapatkan kultur yang bebas dari mikroorganisme.

Teknik sterilisasi permukaan banyak digunakan untuk menghilangkan kontaminan yang terdapat pada permukaan eksplan. Selama proses sterilisasi, eksplan harus tetap hidup dan hanya kontaminan yang dieliminasi (Oyebanji *et al.*, 2009). Oleh karena itu, sterilisasi permukaan dilakukan dengan merendam eksplan dalam larutan desinfektan dengan konsentrasi tertentu selama periode tertentu.

Sterilan, atau desinfektan, yang biasa digunakan untuk sterilisasi permukaan eksplan adalah natrium hipoklorit (NaClO) atau kalsium hipoklorit ($\text{Ca}(\text{ClO})_2[\text{Cl}]_2$) (Dodds and Roberts, 1985). Senyawa hipoklorit sangat efektif dalam mengurangi kontaminasi pada teknik mikropropagasi (Oyebanji *et al.*, 2009). Penggunaan

Ca(ClO)₂ atau NaClO mempunyai kelebihan dan kekurangan dan memberikan hasil yang berbeda untuk setiap jenis eksplan yang digunakan. Sterilan Ca(ClO)₂ memiliki pH yang stabil namun dapat merusak jaringan pada bagian pomotongan eksplan sedangkan NaClO memiliki pH yang tidak stabil, bersifat toksik, namun tidak merusak jaringan. Sterilan NaClO digunakan sebagai sterilan dalam berbagai teknik sterilisasi eksplan dengan konsentrasi dan lama perendaman yang berbeda (Olowe *et al.*, 2014). Ketepatan cara sterilisasi, bahan sterilan maupun waktu sterilisasi yang digunakan akan menentukan keberhasilan proses sterilisasi yang dilakukan. Eksplan yang bebas kontaminan dapat diperoleh melalui proses sterilisasi yang tepat.

C. BAHAN DAN ALAT

Bahan dan alat yang diperlukan meliputi:

- eksplan (tunas/daun/nodus/akar)
- 30% bayclin
- bakterisida
- fungisida
- akuades
- pinset
- *scalpel*
- *blade*
- *beaker glass*
- timbangan digital
- gelas ukur

D. PROSEDUR PLAKSANAAN PRAKTIKUM

1. Ambil eksplan, kemudian dicuci dengan air mengalir selama 30 menit.
2. Eksplan disterilkan dalam larutan sterilan (30% bayclin yang berbahan aktif 5.25% NaClO) dan diberi perlakuan perendaman 5 menit, 10 menit, 15 menit dan 20 menit.
3. Eksplan yang telah direndam, dibilas tiga kali dengan akuades steril, masing masing dilakukan perendaman selama 5 menit.
4. Potong bagian tepi batang dari setiap nodus yang terkena larutan sterilan.

E. PENGAMATAN

1. Setelah 1 minggu, lakukan pengamatan kondisi eksplan! Berapa persentase eksplan hidup dan eksplan mati?
2. Berapa lama waktu perendaman yang optimum untuk sterilisasi eksplan?
3. Bagaimana pengaruh waktu perendaman terhadap pertumbuhan eksplan?

Tabel 6. Hasil pengamatan kondisi eksplan terhadap waktu perendaman sterilisasi

Waktu perendaman	Jumlah eksplan yang ditanam	Jumlah eksplan hidup	Jumlah Eksplan mati
5 menit			
10 menit			
15 menit			
20 menit			

ACARA VI PENANAMAN EKSPLAN

A. TUJUAN

Mahasiswa mampu mempraktikkan perbanyakan tanaman secara *in vitro* dengan menggunakan eksplan daun/nodus batang.

B. LANDASAN TEORI

Pada saat ini, teknik kultur jaringan telah menjadi metode umum untuk sistem perbanyakan tanaman, khususnya untuk tanaman baru, tanaman yang mempunyai persentase perkecambahan rendah, hibrid yang unik, perbanyakan pohon-pohon elit dan tanaman yang selalu dihasilkan dengan cara perbanyakan vegetatif. Perbanyakan tanaman melalui kultur jaringan mempunyai beberapa keunggulan dibandingkan dengan teknik perbanyakan konvensional, yaitu bibit yang dihasilkan mempunyai sifat yang identik dengan induknya, 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.

Teknik perbanyakan *in vitro* dapat dilakukan melalui multiplikasi pucuk dari tunas aksilar, dengan pembentukan tunas adventif dan atau pembentukan embrio somatik adventif. Pembentukan tunas/embrio somatik yang didahului dengan terbentuknya kalus disebut organogenesis/embriogenesis somatik tak langsung sedangkan bila tanpa pembentukan kalus disebut organogenesis/embriogenesis somatik langsung.

Regenerasi tanaman secara *in vitro* melalui jalur organogenesis atau embriogenesis somatik dipengaruhi oleh komponen medium kultur terutama zat pengatur tumbuh, faktor lingkungan, sumber eksplan dan genetik tanaman. Arah perkembangan eksplan dalam kultur *in vitro* dikontrol oleh rasio zat pengatur tumbuh auksin dan sitokinin. Rasio auksin yang lebih tinggi dari sitokinin akan menginduksi pembentukan akar, sedangkan rasio auksin yang lebih rendah dari sitokinin akan memacu pembentukan tunas.

C. BAHAN DAN ALAT

Bahan dan alat

- Eksplan daun/nodus batang tanaman
- Pinset, skalpel, cawan petri, botol kultur, alkohol 70% dan bayclin 30%.

Media

- Medium MS0
- Medium MS1 (MS + 50 ml/L air kelapa)
- Medium MS2 (MS + 100 ml/L air kelapa)

D. PROSEDUR PELAKSANAAN PRAKTIKUM

1. Ambil eksplan daun/nodus batang tanaman, kemudian dicuci dengan air mengalir selama 30 menit.
2. Eksplan disterilkan dalam larutan sterilan (30% Bayclin yang berbahan aktif 5.25% NaClO) dengan perendaman selama 15 menit dan dibilas tiga kali dengan akuades steril, masing-masing dilakukan perendaman selama 5 menit.
3. Eksplan kemudian dikulturkan dalam media kultur.
4. Letakkan daun dengan sisi abaksial berhadapan dengan medium atau nodus batang dalam posisi sejajar dengan permukaan medium. Tiap botol diisi 2 potong eksplan.
5. Kultur diinkubasi dalam kondisi terang pada suhu 25 °C.
6. Amati perubahan yang terjadi, yaitu: termasuk organogenesis langsung atau tidak langsung, ada tidaknya pembengkakan eksplan, ada tidaknya terbentuk kalus, saat pertama kali muncul tunas dan akar dan jumlah tunas dan akar tiap eksplan pada 2 dan 4 minggu setelah kultur.

E. PENGAMATAN

1. Bagaimana perubahan morfologi eksplan yang ditanam?
2. Bagaimanakah respon pertumbuhan terhadap penambahan air kelapa?
3. Dari bagian jaringan eksplan mana tempat muncul tunas dan akar?
4. Bagaimanakah respon pertumbuhan kalus terhadap penambahan air kelapa?

Tabel 7. Pertumbuhan eksplan pada minggu ke-2 dan minggu ke-4

Jenis media	waktu muncul organ (hari ke-)		Jumlah tunas pada minggu ke		Jumlah akar pada minggu ke		jumlah kalus
	Tunas	Akar	2	4	2	4	
MS0							
MS1 (MS + 50 ml/L air kelapa)							
MS2 (MS + 100 ml/L air kelapa)							

ACARA VII AKLIMATISASI

A. TUJUAN

Mahasiswa mampu mempraktikkan kegiatan aklimatisasi.

B. LANDASAN TEORI

Aklimatisasi adalah masa adaptasi tanaman hasil pembiakan pada kultur jaringan (*in-vitro*) yang semula kondisinya terkontrol kemudian berubah pada kondisi lapangan yang tidak terkontrol. Aklimatisasi merupakan tahapan yang sangat penting untuk dilalui dalam proses perbanyakan *in vitro*. Adanya perbedaan yang sangat tajam terutama kelembaban dan intensitas cahaya lingkungan di dalam botol dan di luar botol menyebabkan proses aklimatisasi ini merupakan tahapan yang kritis. Aklimatisasi merupakan tahapan dalam menentukan ketahanan dan kestabilan planlet dilingkungan terbuka, dengan kata lain, persentase ketahanan tanaman ditentukan oleh penguatan tanaman.

Aklimatisasi merupakan salah satu tahap kultur jaringan yang sangat penting dan merupakan proses penyesuaian peralihan lingkungan dari kondisi heterotrof ke lingkungan autotrof pada planlet tanaman yang diperoleh melalui teknik *in vitro*. Planlet hasil kultur *in vitro* ini masih rentan terhadap perubahan kondisi lingkungan, hama serta penyakit, sehingga dibutuhkan tahap aklimatisasi. Aklimatisasi dilakukan jika sudah terbentuk akar atau sudah muncul primordia akar yang akan tumbuh normal pada media tanam. Planlet hasil kultur *in vitro* biasanya memiliki perakaran yang sedikit dan lemah sehingga sangat rentan dan tidak berfungsi dalam keadaan *in vivo*. Akar akan segera mati diganti dengan akar yang baru untuk menunjang pertumbuhan dan perkembangan tanaman.

C. BAHAN DAN ALAT

Bahan dan alat yang akan digunakan meliputi:

- planlet tanaman
- akar kadaka/mos
- rootone f
- pot plastik kecil/tray
- kawat
- baskom
- panci kukus
- kompor

D. PROSEDUR PELAKSANAAN PRAKTIKUM

1. Persiapan media tanam

- Akar kadaka dikukus menggunakan panci kukus selama 30 menit.
- Tiriskan dan tunggu hingga dingin.

2. Penanaman

- Bibit dikeluarkan dari botol, kemudian dibersihkan dari sisa media yang masih menempel.
- Akar bibit diberi rootone f.
- Bibit ditanam dalam pot satu persatu.
- Pemeliharaan bibit dalam pot dengan penyiraman air yang dilakukan dengan frekuensi 1 kali per hari pada sore hari.

E. PENGAMATAN

1. Amati pertumbuhan planlet setelah aklimatisasi selama 2 minggu!
2. Bagaimana kondisi planlet setelah 1 minggu dan 2 minggu aklimatisasi?
3. Apa faktor yang dapat mendukung planlet tetap hidup pada proses aklimatisasi?

Tabel 8. Pengamatan jumlah daun, lebar daun, OPT dan gejala stress pada tanaman hasil aklimatisasi

Tanaman	Minggu ke-1				Minggu ke-2			
	Jumlah daun	Lebar daun	OPT	Gejala stress	Jumlah daun	Lebar daun	OPT	Gejala stress
1								
2								
3								
4								
5								
6								

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, A. R., Nurokhman, A., Rahayu, S. C., Metalisa, E., & Novitasari, L. (2022). Faktor kontaminasi kultur jaringan pada eksplan biji duku (*Lansium domesticum* corr.) Menggunakan media murashige and skoog. In *Prosiding Seminar Nasional Pendidikan Biologi* (Vol. 5, No. 1, pp. 136-141).
- Andaru Persada Mandiri. 2024. Daftar instrumen laboratorium. <https://andarupm.co.id/list-brand-alat-laboratorium/> (diakses pada 24 November 2024)
- Dodds JH, Robert LW. 1985. *Experiment in plant tissue culture. 2nd editon.* New York (US): Cambridge University Press.
- Lab Associates. 2021. How to set up a tissue culture laboratory. <https://labassociates.com/how-to-set-up-a-plant-tissue-culture-laboratory> (diakses pada 24 November 2024)
- Olowe, O, Adesoye A, Ojoba, O, Amusa, O, Liamngee, S. 2014. Effect of sterilization and phytohormones on shoot tip culture of *Telfairia occidentalis*. *Journal of Natural Science Research*, 4(2):53-58.
- Oyebanji, O. B., Nweke, O., Odebunmi, O., Galadima, N. B., Idris, M. S., Nnodi, U. N., Afolabi, A.S. & Oghadu, G. H. 2009. Simple, effective and economical explant-surface sterilization protocol for cowpea, rica, and sorghum seeds. *African Journal of Biotechnology*, 8 (20):5395-5399.
- Plant Cell Technology. 2020. Tissue culture equipment: A concise guide. <https://plantcelltechnology.com/blogs/blog/pct-blog-tissue-culture-equipment-a-concise-guide> (diakses pada 24 November 2024)
- Shofiyani, A., & Damajanti, N. (2017). Pengembangan metode sterilisasi pada berbagai eksplan guna meningkatkan keberhasilan kultur kalus kencur (*Kaemferia galangal* L). *Agritech: Jurnal Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Purwokerto*, 17(1), 55-64.

LAMPIRAN

Format Laporan

Format laporan acara praktikum disusun dengan sistematika sebagai berikut:

HALAMAN JUDUL

HALAMAN PENGESAHAN

PENDAHULUAN

TUJUAN PRAKTIKUM

HASIL DAN PEMBAHASAN

KESIMPULAN

DAFTAR PUSTAKA

LAMPIRAN

NB: Laporan disusun dan dikumpulkan per acara paling lambat satu minggu setelah ACC data praktikum.

GLOSARIUM

Aklimatisasi	: Proses penyesuaian tanaman dari lingkungan in vitro ke lingkungan luar
Akuades	: Air murni yang dihasilkan dari proses destilasi atau penyulingan
Aseptik	: Steril
Auksin	: Hormon tumbuhan yang berfungsi untuk mengatur pertumbuhan dan perkembangan tanaman
Autoklaf	: Alat sterilisasi dengan uap panas bertekanan tinggi
Autotrof	: Organisme yang dapat membuat makanan sendiri melalui fotosintesis
Bakterisida	: Zat kimia yang dapat membunuh atau mencegah pertumbuhan dan perkembangbiakan bakteri
Botol kultur	: Wadah yang digunakan untuk menanam atau mengkulturkan eksplan
Browning	: Pencoklatan atau penghitaman pada jaringan tanaman
Cawan petri	: Wadah yang terbuat dari kaca atau plastik tipis yang digunakan sebagai wadah kultur
Desinfektan	: Bahan kimia yang digunakan untuk menghambat atau membunuh mikroorganisme
Eksplan	: Jaringan tanaman yang ditanam secara in vitro
Embriogenesis	: Proses pembentukan embrio dari sel-sel somatik pada kultur jaringan tanaman
Fungi	: Jamur
Fungisida	: Zat kimia yang dapat membunuh atau mencegah pertumbuhan dan perkembangbiakan jamur
Gelas ukur	: Alat yang digunakan untuk mengukur volume cairan atau larutan
Heterotrof	: Organisme yang tidak dapat membuat makanan sendiri
Homogenisasi	: Proses untuk membuat campuran menjadi seragam
Hormon	: Senyawa organik bukan hara (nutrien) yang berperan penting dalam pertumbuhan, perkembangan dan pergerakan tanaman

Kalus	: Kumpulan sel-sel jaringan tanaman yang belum terdiferensiasi
Kontaminan	: Pengkontaminasi, pencemar, pengotor
Kontaminasi	: Kondisi lingkungan kultur yang terganggu akibat kontaminan seperti jamur dan bakteri
<i>Laminar air flow</i>	: Meja kabin steril yang digunakan untuk menanam pada kegiatan kultur jaringan tanaman
<i>Magnetic stirrer</i>	: Alat yang digunakan untuk mengaduk, melarutkan dan memanaskan larutan agar menjadi homogen
Media	: Tempat tumbuh eksplan yang mengandung nutrisi dan hara bagi eksplan
Meristem	: Jaringan pada tumbuhan yang sel-selnya aktif membelah
Morfogenesis	: Proses diferensiasi sel-sel membentuk organ
Nodus	: Tempat melekatnya daun
OPT	: Organisme pengganggu tanaman
Organogenesis	: Proses pembentukan organ, seperti tunas dan akar, dari eksplan yang dikulturkan
Planlet	: Tanaman hasil kultur jaringan yang memiliki akar dan tunas
Rootone f	: zat pengatur tumbuh (zpt) atau hormon perangsang akar tanaman yang berfungsi untuk mempercepat dan memperbanyak akar baru pada tanaman
Sitokinin	: Hormon tumbuhan yang berperan dalam pertumbuhan dan perkembangan tanaman
Sterilisasi	: Proses untuk mematikan mikroorganisme pada suatu benda atau alat
Sub kultur	: Pemindehan kultur yang telah diinisiasi ke media baru untuk memperbanyak eksplan
Toksik	: Racun
Totipotensi	: Kemampuan sel untuk beregenerasi menjadi individu baru yang identik dengan induknya
ZPT	: Zat pengatur tumbuh