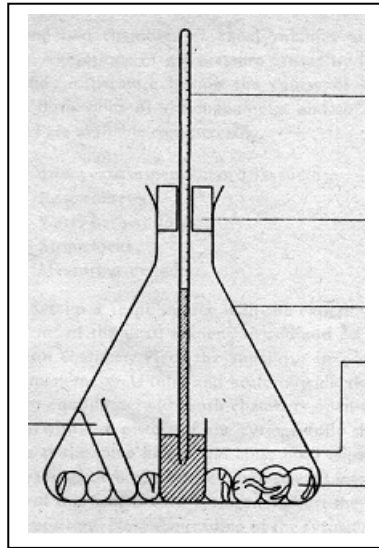


PETUNJUK PRAKTIKUM

FISIOLOGI TUMBUHAN LANJUT



Oleh : Drs. Suyitno Al. MS.

PROGRAM STUDI BIOLOGI – JURDIK BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI YOGYAKARTA
2006

KATA PENGANTAR

Petunjuk praktikum Fisiologi Tumbuhan Lanjut edisi revisi pertama, disusun untuk mendukung perluasan dan pendalaman penguasaan materi kuliah Fisiologi II. Kegiatan ini diharapkan dapat memberi pengalaman memecahkan masalah-masalah fisiologi lanjut untuk mahasiswa S-1. Topik-topik kegiatan merupakan topik yang terkait langsung pada materi perkuliahan, dan topik-topik lain yang bersifat melengkapi pengalaman yang telah diterima di praktikum Fisiologi Dasar sebelumnya. Namun demikian diharapkan dengan topik-topik yang sederhana tersebut dapat membantu para mahasiswa untuk mengungkapkan latar belakang fisiologi yang lebih jauh. Tentu saja untuk melakukan hal tersebut harus ditunjang dengan buku-buku bacaan yang berkaitan dengan masalah-masalah yang akan dipecahkan.

Seluruh kegiatan yang dilakukan pada praktikum ini baru merupakan sebagian dari persoalan fisiologi Tumbuhan Lanjut, sehingga untuk memperoleh pengetahuan fisiologi yang lebih jauh, para mahasiswa diharapkan mampu mengembangkan dari berbagai sumber dan pengalaman kegiatan mandiri yang dikemas dalam kegiatan “group Project”.

Mudah-mudahan setelah melaksanakan praktikum ini, para mahasiswa merasa terpacu untuk mengembangkannya lebih lanjut karena tentu saja petunjuk praktikum ini masih jauh dari kesempurnaan.

Koord. Praktikum

<p style="text-align: center;">TATA TERTIB <i>PRAKTIKUM FISILOGI TUMBUHAN</i></p>

1. Praktikan wajib datang tepat waktu. Bila berhalangan hadir harus ijin secara tertulis
2. Praktikan wajib mengikuti seluruh topik kegiatan praktikum.
3. Kegiatan praktikum tidak ada inhal, kecuali atas pertimbangan khusus yang rasional dapat diberi kesempatan “inhal”
4. Sebelum praktikum dimulai, praktikan menyerahkan kajian pustaka dan mengikuti pre-test tentang materi praktikum
5. Praktikan dapat mengikuti praktikum setelah menyelesaikan tugas pra-kegiatan yang diberikan, seperti menyusun kajian pustaka yang relevan dengan topik beserta daftar pustakanya, observasi lapangan, dst sesuai kebutuhan kegiatan
6. Laporan diserahkan kepada asisten selambatnya satu minggu setelah topik selesai
7. Mengembalikan alat-alat praktikum dalam keadaan baik dan bersih. Pada kegiatan praktikum kelompok, kerusakan alat ditanggung oleh kelompok dan wajib mengganti terhadap kerusakan alat yang digunakan.
8. Praktikan diwajibkan menjaga ruangan praktikum tetap bersih dan rapi
9. Praktikan diwajibkan melakukan kegiatan “Group project” dalam secara individual atau dalam kelompok kecil (a 3 orang) sesuai kesepakatan.
10. Responsi diadakan di akhir dari rangkaian kegiatan praktikum, dengan syarat :
 - a. telah selesai mengikuti seluruh matacara praktikum
 - b. telah melengkapi laporan kegiatan praktikum
 - c. bebas tanggungan alat dan kewajiban administrasi lainnya.
11. Nilai akhir praktikum diperhitungkan dari nilai pre-test, laporan, individual atau group project dan responsi
12. Hal-hal yang perlu dan belum tercantum di sini akan diatur kemudian.

Koord. Praktikum

MASALAH I

NUTRISI TUMBUHAN

Kegiatan 1

Topik : Bagaimana Respons Tanaman Terhadap Defisiensi Hara Tertentu ?

Tujuan : Untuk mengetahui gejala-gejala kekurangan unsur hara tertentu pada tumbuhan

Prinsip :

Tumbuhan memerlukan bermacam-macam mineral, baik kelompok makronutrien maupun mikronutrien. Unsur-unsur ini dapat diperoleh tumbuhan dari lingkungan atau media hidupnya. Unsur-unsur tersebut diserap tumbuhan dalam bentuk kation anion, molekul sederhana (misal : air, CO₂ dan gas-gas lainnya) serta molekul organik sederhana.

Sebagian unsur nutrisi dibutuhkan dalam kadar “cukup banyak”, dan sebagian yang lain dalam kadar yang “sedikit”. Menurut taraf kebutuhan tersebut nutrisi tumbuhan dibedakan menjadi tiga kelompok elemen , yakni macronutrient dan micronutrient dan unsur ikutan (“trace element”).

- a. Macronutrient meliputi unsur C, N, H, O, S, P, Ca, Fe dan Mg
- b. Micronutrient, meliputi unsur K, Na, Mn, B, Zn, Cu dan Mo
- c. Trace element, meliputi unsur Al, Si, Au, Ni

Berdasar sifat kemudahan ditranslokasikan dari satu organ ke bagian organ yang lain, unsur nutrisi dibedakan menjadi unsur “mobile” (dapat dipindahkan) dan “immobile” (sukar / tidak dapat dipindahkan). Unsur-unsur mobile antara lain N, P, K, Mg dan Zn (Salisbury, 1984: 100- 109). Bila tumbuhan kekurangan suplai unsur-unsur mobile yang dibutuhkan, terutama bagi jaringan yang sedang tumbuh dan berkembang, maka tumbuhan akan mengambil unsur tersebut dari jaringan yang sudah mengalami kemunduran, seperti daun-daun tua. Dengan demikian defisiensi unsur mobile akan ditampakkan pada jaringan tua. Sebaliknya, defisiensi unsur immobile akan langsung tampak pada jaringan-jaringan muda. Untuk mengamati secara lebih cermat mengenai

kebutuhan mineral bagi tumbuhan, umumnya dilakukan dengan suatu dengan teknik kultur pasir atau kultur air.

ALAT DAN BAHAN

a. Makronutrien , masing-masing 1 Molar :

Ca(NO ₃) ₂	NaNO ₃	KCl
KNO ₃	MgCl ₂	
MgSO ₄ .7H ₂ O	NaH ₂ PO ₄	
KH ₂ PO ₄	CaCl ₂	

b. Mikronutrien, dalam tiap liter medium dibutuhkan :

Macam zat	Konsentrasi / l iter aquades	keterangan
H ₃ BO ₃	2,86 g	
MnCl ₂ .4H ₂ O	1.81 g	
ZnCl	0,11 g	
CuCl ₂ .2H ₂ O	0,05 g	
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,025 g	

- c. Lart. FeEDTA
- d. Botol bermulut besar, 250 ml
- e. Tumbuhan uji/ percobaan (Kangkung, keladi hias, dll)
- f. Alumedium foil
- g. Karet sumbat berlubang

Keterangan Cara membuat FeEDTA :

- 1) larutkan 5,57 g FeSO₄.7H₂O dalam 200 ml akuades
- 2) Larutkan 7,45 g Na₂EDTA dalam 200 ml akuades
- 3) Campurkan kedua larutan tersebut dan panaskan. Selanjutnya dinginkan dan tambahkan akuades sampai menjadi volume 1 liter.

CARA KERJA

1. Siapkan media yang diperlukan untuk percobaan, dibuat sesuai tabel berikut :

Tabel : Komposisi kimia (ml) media tumbuh untuk percobaan

Larutan (1 M)	Komplit (ml)	Def.- Ca	Def-S	Def-Mg	Def-K	Def-N	Def-P	Def-Fe	- Mikro nutrien
Ca(NO ₃) ₂	10	-	10	10	10	-	10	10	10
KNO ₃	10	10	10	10	-	-	10	10	10
MgSO ₄	4	4	-	-	4	4	4	4	4
KH ₂ PO ₄	2	2	2	2	-	2	-	2	2
Fe EDTA	2	2	2	2	2	2	2	-	2
Mikronutrien	2	2	2	2	2	2	2	2	-
NaNO ₃	-	20	-	-	10	-	-	-	-
MgCl ₂	-	-	4	-	-	-	-	-	-
Na ₂ SO ₄	-	-	-	2	-	-	-	-	-
NaH ₂ PO ₄	-	-	-	-	2	-	-	-	-
CaCl ₂	-	-	-	-	-	10	-	-	-
KCl	-	-	-	-	-	10	2	-	-

Catatan : dilarutkan dalam 1 liter aquades

2. Isi tiap botol percobaan dengan larutan media sebanyak 150 ml dan beri tanda tinggi larutan dalam botol tersebut dengan spidol
3. Masukkan tanaman percobaan ke dalam botol dengan tutup botol / karet penyumbat sebagai penyangga
4. Tutup botol dengan kertas alumenium foil sehingga akar tidak terdedah cahaya
5. Tempatkan tanaman di green house dan periksa larutan tiap hari.

6. Susutnya tinggi larutan dalam botol harus segera ditambah dengan menambahkan aquades ke dalam botol tersebut.
7. Ganti larutan seminggu satu kali dengan larutan medium yang baru
8. Amati dan catat gejala-gejala yang timbul akibat defisiensi unsur.

Analisis Data :

1. Masukkan gejala-gejala hasil pengamatan dalam tabel berikut

Perlakuan	Ulangan	Deskripsi Gejala Visual Defisiensi	Keterangan
Komplit	1 2		
Defisiensi Ca	1 2		
Defisiensi S	1 2		
Defisiensi Mg	1 2		
Defisiensi K	1 2		
Defisiensi N	1 2		
Defisiensi P	1 2		
Defisiensi Fe	1 2		
Defisiensi Mikronutrien	1 2		

2. Analisislah karakteristik gejala yang muncul untuk tiap kelompok perlakuan dan deskripsikan secara cermat gejala-gejala yang teramati

Diskusi / Pembahasan

1. Dimanakah perbedaan gejala yang ditunjukkan di antara kelompok perlakuan yang diberikan?
2. Jelaskan bagaimana “mode of action” dari masing-masing unsur tersebut
3. Gejala defisiensi unsur nutrisi apakah yang memunculkan gejala yang hampir sama ?
4. Kesimpulan apakah yang dapat ditarik dari hasil percobaan ini ?

Laporan :

- | | |
|-----------------------|----------------------------|
| 1. Topik permasalahan | 6. Pembahasan |
| 2. Tujuan kegiatan | 7. Masalah yang berkembang |
| 3. Alat dan Bahan | 8. Kesimpulan |
| 4. Prosedur | 9. Daftar Pustaka |
| 5. Hasil pengamatan | |

Tugas Pengembangan :

1. Apakah efek suatu unsur bersifat linier ?
2. Apakah ada efek sinergis antar unsur nutrisi sehingga defisiensi suatu unsur mempengaruhi fungsi unsur yang lain ?

Kegiatan 2

Topik : Penyerapan Kation dan Anion pada Tumbuhan

Tujuan : Untuk mengetahui laju penyerapan kation dan anion

Prinsip Dasar :

Tumbuhan melakukan penyerapan terhadap materi-materi yang dibutuhkan dari lingkungannya. Materi dapat diserap dalam bentuk molekul, kation maupun anion. Laju penyerapan zat atau partikel dipengaruhi oleh faktor internal maupun eksternal, seperti sifat fisika dan kimia membran, kondisi kimia sitoplasma sel-sel penyerapan, sifat fisika dan kimia larutan tanah / media lingkungannya. Ukuran partikel, ada tidaknya muatan, sifat muatan, valensi akan menentukan laju penyerapan oleh bidang penyerapan yakni akar, batang, atau daun, tergantung jenis tumbuhan dan lingkungan tempat hidupnya. Karena itu, penyerapan kation dan anion juga akan berbeda.

Alat dan Bahan

Alat : Tabung reaksi, pipet, zat indikator pH, kapas

Bahan : Kecambah kacang hijau / kecambah jagung

0,2 % larutan : NaNO_3 ; K_2SO_4 ; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; CaCO_3

Cara Kerja

1. Buat 20 ml 0,2 % larutan NaNO_3 ; K_2SO_4 ; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; CaCO_3 dan atur atau samakan pH-nya dengan menambahkan tetes-demi tetes HCl atau KOH 0,5 N
2. Isi tabung reaksi yang telah diberi kapas, dengan 10 ml larutan NaNO_3 , K_2SO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ atau CaCO_3
3. Siapkan kecambah yang telah dicuci, dengan akar yang masih utuh.
4. Tumbuhkan kecambah pada tabung reaksi yang telah disiapkan tersebut
5. Ukurlah perubahan pH yang terjadi pada tiap 3 hari, selama 15 hari masa penumbuhan kecambah (5 kali pengamatan)
6. Deskripsikan pula perubahan kecambah secara morfologis seiring dengan pengamatan pH tersebut.
7. Masukkan data hasil pengamatan saudara pada tabel berikut.

Pengamatan 3 hari ke	pH	Deskripsi morfologis kecambah
0 (Mula-mula)		
I		
II		
III		
IV		
V.		

Diskusi / Pembahasan

1. Bagaimana grafik hubungan lama waktu pengecambahan dengan nilai pH ?
2. Jelaskan mengapa perubahan pHnya demikian ?
3. Bandingkan untuk dua kelompok kecambah yang berbeda! Apakah laju perubahan pH kedua kelompok kecambah sama atau berbeda ? Jelaskan mengapa hal itu terjadi ?

MASALAH II :
HORMON DAN ZAT PENGATUR TUMBUH

Kegiatan 3

Topik : Efek Auxin pada Peristiwa Apikal Dominan

Tujuan : Untuk mengetahui efek IAA pada gejala apikal dominan

Prinsip Dasar

Tiap tumbuhan memiliki pola pertumbuhan pucuk dan tunas lateral tertentu yang dikontrol secara genetis. Pola ini tampak pada pola percabangan dan pola pertumbuhan tunas pucuknya, sehingga akan menampilkan pola “arsitektur” tertentu pula. Terdapat pola pengontrolan pada pertumbuhan tunas lateral. Aktivitas ini melibatkan sistem hormon tumbuh sebagai regulatornya, sebagian berperan sebagai promotor, dan yang lain sebagai inhibitornya. Hormon IAA, sitokinin, dan ABA terlibat langsung pada mekanisme kontrol pertumbuhan pucuk dan tunas lateral (tunas aksiler). Salah satu gejala adanya sistem pengontrolan pertumbuhan pucuk dan tunas lateral adalah adanya peristiwa “apikal dominan”, yang oleh Adams (1979) diartikan “apical control”.

Apikal dominan merupakan salah satu mekanisme pengaturan pertumbuhan tunas lateral. Keseimbangan dan kadar hormon tumbuh yang dibutuhkan berbeda antara jaringan satu dengan jaringan yang lain. Kebutuhan IAA untuk pertumbuhan daerah pucuk (tunas apeks = ujung batang) lebih tinggi dibanding daerah tunas lateral, daun muda, maupun akar. Pertumbuhan jaringan akan tumbuh optimal pada kisaran dosis tertentu. Bila dosisnya kurang atau berlebih akan menghambat pertumbuhan suatu jaringan. Menurut Brown (1967), apikal dominan terbatas pada penghambatan tunas-tunas percabangan, dan bukan untuk memberi deskripsi untuk tumbuhan keseluruhan.

Di sisi lain, hormon tumbuh, seperti juga IAA akan mengalami proses translokasi (ditranspor ke bagian organ lain = mobile), basipetal maupun akropetal. IAA banyak diproduksi di daerah pucuk, dan sebagian ditranspor secara basipetal (ke bawah),

sehingga menambah kadar di daerah-daerah tunas aksiler di bawahnya. Bagaimana pola pertumbuhan tunas aksiler di bawah pucuk, tentunya tergantung dari jenis tumbuhannya.

Metode pengukuran : -

Alat dan bahan

1. Tanaman kacang merah (*Phaseolus vulgaris*)
2. Lart. IAA dalam lanolin (0,1 dan 0,5 %)

Cara Kerja

1. Siapkan tiga pot dan tanamilah 6-8 biji kacang merah
2. Pilihlah 3 tanaman kacang yang homogen dari sejumlah biji yang tumbuh
3. Buatlah perlakuan sebagai berikut :
 - a. Tanaman pada pot I dibiarkan tumbuh normal
 - b. Tanaman pada pot II, potonglah bagian pucuk tanamannya, kemudian olesi batang bekas potongannya dengan lanolin
 - c. Tanaman pot III, potonglah bagian pucuk batangnya, dan olesilah dengan IAA dalam lanolin (0,1 % atau 0,5 %)
4. Letakkan tanaman di green house dan siramlah secukupnya
5. Amati pertumbuhan tunas ketiak setelah 2 minggu

Analisis Data :

1. Masukkan data hasil pengamatan saudara pada tabel berikut

No	Kontrol	Lanolin saja	Perlakuan-1 [diberi 0,1 % IAA]	Perlakuan-2 [diberi 0,5 % IAA]
1				
2				
3				
.				
n				

Catatan : IAA dapat diganti dengan NAA atau IBA yang tahan pemanasan

Diskusi / Pembahasan

1. Bagaimana gejala pertumbuhan tunas ketiak pada ketiga perlakuan tersebut ?
2. Jelaskan mengapa gejala yang muncul demikian ?

Laporan :

- | | |
|-----------------------|----------------------------|
| 1. Topik permasalahan | 5. Hasil dan Pembahasan |
| 2. Tujuan kegiatan | 6. Masalah yang berkembang |
| 3. Alat dan Bahan | 7. Kesimpulan |
| 4. Prosedur | 8. Daftar Pustaka |

Tugas Pengembangan :

1. Apakah penghambatan pertumbuhan tunas aksiler juga dipengaruhi oleh kondisi lingkungan ?
2. Apakah posisi cabang (tegak – datar) akan berefek pada tingkat apikal dominan pada tunas aksiler didekat pucuk ?

Kegiatan 4

Topik : Bagaimana Respons Tumbuh Akar Terhadap Perlakuan Hormon ?

Tujuan : Mengamati efek perlakuan hormon terhadap pertumbuhan akar tanaman

Prinsip Dasar :

Akar sebagai organ penting bagi tumbuhan juga mengalami pertumbuhan. Walaupun tidak memiliki tunas aksiler, akar dapat menghasilkan percabangan atau akar-akar sekunder. Akar tumbuh tidak saja memanjang oleh aktivitas meristem pucuk akar, tetapi juga membesar oleh aktivitas jaringan kambium. Seperti halnya organ yang lain, pertumbuhan akar dikontrol oleh IAA, walaupun dalam dosis yang lebih rendah. Pada dunia pertanian telah banyak diaplikasikan hormon-hormon tumbuh golongan IAA untuk merangsang perakaran. Bagaimana respon pertumbuhan akar terhadap aplikasi hormon

auxin, akan tergantung dari sifat endogenous tumbuhannya serta keadaan lingkungan eksternalnya.

ALAT DAN BAHAN

1. Batang Begonia atau Coleus
2. Pisau tajam
3. Hormon tumbuh : NAA , IBA

Cara Kerja

1. Buatlah 15 potongan batang begonia atau Coleus, 5 cm
2. Rendam masing-masing 5 potongan dalam : 1) air, 2) 5 ppm NAA, 3) 5 ppm IBA
3. Biarkan perendaman selama 24 jam
4. Pindahkan potongan tersebut ke dalam pot pasir yang berpupuk dan biarkan selama 4 minggu.
5. Hitung jumlah tunas dan akar yang tumbuh dari setiap stek batang Begonia tersebut.

Metode : Bioassay efek hormon terhadap pertumbuhan akar

Analisis data

Sasaran Pengamatan	Tan. Ke	Begonia + air	Begonia + NAA	Begonia + IBA
1. Jumlah akar	1			
	2			
	3			
Rerata				
2. Berat Total Akar	1			
	2			
	3			
Rerata				
3. Panjang akar	1			
	2			
	3			
Rerata				

Diskusi / Pembahasan :

1. Pada kelompok Begonia manakah pertumbuhan akar paling baik, dilihat dari rerata berat total akarnya
2. Apakah ada pengaruh dari perlakuan hormon terhadap jumlah pemunculan akar ?
Bandingkan pula dengan kontrolnya (Begonia + air) !
3. Kesimpulan apakah yang dapat diambil dari hasil percobaan ini ?

Laporan :

- | | |
|-----------------------|----------------------------|
| 1. Topik permasalahan | 6. Pembahasan |
| 2. Tujuan kegiatan | 7. Masalah yang berkembang |
| 3. Alat dan Bahan | 8. Kesimpulan |
| 4. Prosedur | 9. Daftar Pustaka |
| 5. Hasil pengamatan | |

Tugas Pengembangan :

1. Apakah respons pemunculan jumlah akar dan pertumbuhan akar dari perlakuan hormon yang diberikan adalah dua mekanisme yang berbeda ?
2. Bagaimana peranan hormon pada pemunculan bakal akar dan pertumbuhan akar ?

MASALAH III
HORMON DAN KONTROL PERKEMBANGAN

Kegiatan 5

Topik : Efek Auxin dan Sitokinin pada Morfogenesis

Tujuan : Untuk mengetahui peran Auxin dan sitokinin pada perkembangan suatu organ tumbuhan

Prinsip :

Pertumbuhan dan perkembangan pada tubuh tumbuhan dikontrol oleh zat-zat yang tergolong pada Zat Pengatur Tumbuh. Secara alami, terdapat beberapa golongan zat pengatur tumbuh, meliputi hormon, vitamin, mineral dan metabolit sekunder lainnya, walaupun peran paling besar dan menonjol dilakukan oleh hormon. Terdapat 5 macam jenis hormon tumbuhan, yakni golongan auxin, sitokinin, asam geberelin, ethylen dan asam abskisiat. Hormon dihasilkan pada organ tertentu, umumnya pada organ muda dan daerah meristematik, berpengaruh pada daerah dimana hormon dihasilkan atau ditransfer ke bagian organ lain, yang dalam jumlah yang sangat kecil (μM) memiliki efek fisiologis yang sangat besar. Dalam kaitan fungsi kontrol pertumbuhan dan perkembangan, sebagian hormon bersifat stimulator/ promotor, dan sebagian lain berperan sebagai inhibitor. Hormon beraksi secara sendiri-sendiri dan atau bersama-sama (berinteraksi) dengan hormon yang lain. Morfogenesis sebagai salah satu proses perkembangan jaringan/ organ, dikontrol oleh auxin dan sitokinin.

ALAT dan BAHAN

Alat : Entcash / LAF,

Botol medium,

Erlenmeyer, kertas aluminium foil,

Pinset, scapel plate, pipet,

Perangkat alat dan bahan pembuat medium (Agar, mikro dan makronutrien, sukrosa, zat tambahan lain)

Autoclave, incubator, timbangan analitic

Bahan : Medium MS,

Sumber explant/ kalus,

Bahan sterilan (etanol 70 %, formalin tablet)

Auxin (NAA/ IBA), sitokinin (BAP).

CARA KERJA

A. Cara pembuatan medium MS (Murashige and Skoog)

1. Buat larutan stok :
 - a. mikronutrient 500 ml (100 kali konsentrasi);
 - b. stok vitamin 200 ml (50 kali konsentrasi),
 - c. stok Iron 200 ml (40 kali konsentrasi)
 - d. stok Auxin (NAA; 2,4-D; IBA) dan Sitokinin (BAP), 100 ml (1000 ppm), dengan melarutkan bahan-bahan seperti tertuang pada tabel berikut :

Tabel : Bahan-bahan pembuatan larutan stok untuk medium MS

Macam bahan	Jumlah	
A. Lart. Stok. Medium MS (500 ml; 100 kali konsentrasi)		
MnSO ₄	: 2230,0 mg	Dilarutkan dengan
ZnSO ₄ .4H ₂ O	: 860,0 mg	akuades steril hingga
H ₃ BO ₃	: 620,0 mg	menjadi 500 ml
KI	: 83,0 mg	
NaMoO ₄ .2H ₂ O	: 25,0 mg	
CuSO ₄ .5H ₂ O	: 2,50 mg	
COCl ₂ .6H ₂ O	: 2,50 mg	

<i>B. Lart. Stok Vitamin (200 ml; 50 kali)</i>		
Glycine	: 100,0 mg	Dilarutkan dengan
Asam Nicotinat	: 25,0 mg	akuades steril hingga
Pyridoxine-HCl	: 25,0 mg	menjadi 200 ml
Thiamine-HCl	: 5,0 mg	
<i>C. larutan Stok Iron (200 ml; 40 kali)</i>		
Na ₂ EDTA	: 1492 mg	Dilarutkan dalam akua
Fe ₂ SO ₄ .7H ₂ O	: 1112 mg	steril dengan beberapa
		tetes HCl hingga
		menjadi 200 ml
<i>D. lart. Stok hormon (100 ml; 1000 ppm)</i>		
NAA / IBA	: 100 mg	Dilarutkan dalam akua
2,4-D	: 100 mg	steril dengan beberapa
BAP	: 100 mg	tetes KOH, diaduk ,
		Hingga menjadi 100 ml

1. Pembuatan stok mikronutrient

Masukkan satu per satu bahan-bahan kimia yang telah ditimbang ke dalam erlenmeyer 500 ml yang telah diisi 300 ml akuades steril, sambil terus diaduk sampai bahan-bahan tersebut larut (atau dengan pengaduk magnet), kemudian tambahkan sejumlah volume akuades hingga larutan menjadi 500 ml. Tutup erlenmeyer dengan aluminium foil. Berilah label : **Mikro, MS 100 kali; 5 ml/ l** (artinya: untuk membuat 1 liter medium MS, dibutuhkan 5 ml larutan stok)

2. Pembuatan stok Vitamin

Masukkan bahan-bahan yang telah ditimbang satu per satu sambil terus diaduk (diatas pengaduk magnet) dalam erlenmeyer yang telah diisi 150 ml akuades steril. Setelah semua terlarut, tambahkan sejumlah volume akuades hingga volume larutan menjadi 200 ml. Tutup rapat erlenmeyer tersebut. Berilah label : **Vitamin, MS 50 kali, 4 ml/ l** (artinya: untuk membuat 1 liter medium MS, diperlukan 4 ml lart. stok)

3. Pembuatan stok Iron

Larutkan terlebih dahulu masing-masing bahan kimia dalam erlenmeyer 250 ml yang telah diisi 75 ml akuades steril. Untuk mempercepat pelarutan bahan, dapat ditambahkan beberapa tetes HCl sambil diaduk dan dipanaskan di atas hot plate. Setelah larut, campurkan kedua larutan tersebut dan tambahkan sejumlah volume akuades sampai volume larutan menjadi 200 ml, kemudian tutuplah dengan rapat. Berilah label : IRON, MS 40 kali, 5 ml/ l (**artinya : untuk membuat 1 liter medium MS, diperlukan 5 ml lart. Stok**)

4. Pembuatan stok hormon

Masukkan 100 g hormon yang telah ditimbang ke dalam erlenmeyer 200 ml yang telah diisi akuades 75 ml sambil terus diaduk. Untuk mempercepat pelarutan dapat ditambahkan beberapa tetes 1N KOH. Setelah semua larut (jernih), tambahkan sejumlah volume akuades steril sampai volume larutan menjadi 100 ml. Tutup dengan rapat dan berilah label : NAA / 2,4-D / IBA (1 mg / l). **Artinya, 1 ml stok = 1 mg hormon**

5. Pembuatan Stok Makronutrien MS

Masukkan satu per satu bahan-bahan yang telah ditimbang (lihat tabel) dimasukkan ke dalam erlenmeyer 1000 ml yang telah diisi 500 ml akuades dan terus diaduk/ digojok hingga larut.

Tabel : Bahan-bahan larutan stok Makronutrien Medium MS

Macam bahan	Jumlah	
NH ₄ NO ₃	: 1650,0 mg	Dilarutkan dengan
KNO ₃	: 1900,0 mg	akuades hingga
CaCl ₂ .2H ₂ O	: 440,0 mg	menjadi 1000 ml
MgSO ₄ . 7H ₂ O	: 370,0 mg	
KH ₂ .PO ₄	: 170,0 mg	

Tambahkan ke dalamnya 100 mg Myo-inositol dan 3 g sukrosa sambil terus diaduk. Tambahkan ke dalamnya 5 ml stok Iron, 5 ml stok mikronutrient dan 4 ml stok vitamin. Kemudian masukkan larutan stok hormon Auxin (NAA) dan sitokinin (BAP) dengan perbandingan :

Tabel : kombinasi perlakuan hormon auxin -sitokinin pada media

Hormon	Konsentrasi (mg/l)			
NAA	0	0,5	1,0	1,5
BAP	0	1,5	1,0	0,5

Tambahkan sejumlah akuades sampai volume medium menjadi 800 ml. Atur pH antara 5,7 – 5,8. Selanjutnya tambahkan agar-agar powder atau agar agar batangan lk 8 g kemudian dipanaskan sambil diaduk sampai larut. Tambahkan sejumlah volume akuades sampai volume medium menjadi 1000 ml. Setelah mendingin (hangat ; suhu lk 40 oC), tuangkan medium ke botol-botol medium, masing-masing 25 ml, kemudian tutup rapat dengan alumenium foil. Selanjutnya disterilisasi dengan autoclave, pada t 121 oC, 15 menit. Setelah autoclave dingin, keluarkan botol-botol medium.

B. Kultur callus dan organogenesis (Morfogenesis)

1. Siapkan eksplant : daun dewa (*Gynura procumbens*) , daun pucuk tembakau (*Nicotiana tabacum*) atau umbi wortel (*Daucus carota*).
2. Cucilah dengan detergen dan dibilas dengan air keran mengalir perlahan. Kemudian dibilas/ digojog dalam erlemeyer dengan akuades steril, kemudian letakkan dalam entcash atau LAF (clean bench).
3. Siapkan perangkat alat penanaman eksplant yang steril dalam entcash atau LAF seperti scalpel plate, pinset, etanol 70 %, spiritus box).
4. Buatlah irisan daun eksplant dan secara aseptif, masukkan eksplant tersebut ke dalam botol-botol medium MS yang telah disiapkan.
5. Tutuplah rapat-rapat dengan alumenium foil kembali, kemudian tempatkan botol-botol tersebut dalam ruang inkubasi, suhu kamar.
6. Amati perkembangan tiap 3 hari. Catat hasilnya, masukkan data dalam tabel.

Tabel : Data hasil pengamatan perkembangan kalus dan morfogenesis

Aux : Sitok	N	Periode waktu pengamatan ke :							
		1	2	3	4	5	6	7	8
A: 0,5 : 1,5	1								
	2								
	3								
B : 1,0 : 1,0	1								
	2								
	3								
C : 1,5 : 0,5	1								
	2								
	3								
D : 0 : 0 (kontrol)									

Pertanyaan Diskusi

1. Bagaimana hasil pembentukan kalus pada antar variasi perlakuan auxin – sitokinin ?
2. Pada perlakuan manakah terbentuk kalus ?
3. Pada perlakuan manakah kalus paling cepat terbentuk dan pada bagian manakah inisiasi pembentukannya ?
4. Adakah tanda-tanda proses deferensiasi yang mengarah pada proses organogenesis ?
5. Pada perlakuan manakah organogenesis terjadi dan kemanakah arah perkembangannya ?
6. jelaskan mengapa gejala yang timbul demikian ?

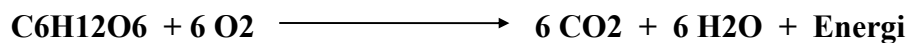
MASALAH IV : RESPIRASI

Kegiatan 6

Topik : Bagaimana “Respiratory Quotion (RO) “ pada beberapa jenis kecambah

Tujuan : Mengetahui nilai RO beberapa jenis kecambah

Semua sel hidup melakukan respirasi secara terus menerus untuk mencukupi kebutuhan energi. Pada umumnya, respirasi merupakan proses oksidasi substrat glukosa, berlangsung dalam rangkaian proses pemecahan (katabolisme) yang melibatkan sistem enzim pada glikolisis (**jalur EMP**) dan daur Trikarboksilat (**daur Krebs**). Secara ringkas, persamaan reaksi dari respirasi aerobik adalah sbb:



Bentuk-bentuk bahan organik sumber energi pada biji bervariasi. Sebagian biji lebih banyak menyimpan “reserve” dalam bentuk amilum dan sebagian yang lain ada yang lebih banyak berupa timbunan lemak, ataupun protein. Karena itu jumlah oksigen dibutuhkan atau jumlah CO₂ dikeluarkan sebagai sisa metabolisme akan berbeda satu dengan yang lain.

Prinsip Dasar

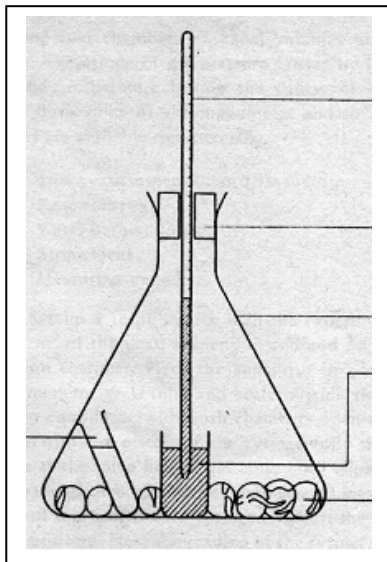
Respirasi membutuhkan O₂ dan menghasilkan zat sisa metabolisme berupa uap air, CO₂ dan panas sebagai entropi (energi panas yang tidak dimanfaatkan). Bila respirasi berjalan sempurna, dari pembakaran substrat (karbohidrat, lipida atau protein) akan dihasilkan rasio tertentu antara CO₂ dihasilkan : O₂ dikonsumsi yang disebut “Respiratory quotient” [RQ]. Respirasi dengan substrat lipida akan diperoleh RQ <1, dan RQ = 1 untuk substrat glukosa.

Alat dan Bahan :

1. Dua (2) buah erlenmeyer (botol jam) dan penutup dengan satu lubang untuk memasukkan pipa kaca berskala
2. Dua (2) tabung vial kecil untuk larutan eosin
3. Dua tabung reaksi kecil untuk lart. KOH penangkap CO₂ (KHO kristal dibungkus kapas)
4. Kecambah (Kacang hijau, kacang kedelai, kacang tanah)
5. Larutan KOH 0,5N; HCl 0,1 N; BaCl₂ 0,5N , indikator PP dan air.

Metode Pengukuran : Manometrik sederhana**Cara Kerja**

1. Siapkan dua set untuk dua perangkat manometrik seperti gambar berikut



Pipet ukur 1 ml

Karet sumbat satu lubang

Erlenmeyer

Vial berisi eosin

Tab. Kecil utk KOH / H₂O

Kecambah

2. Pada manometer I :
 - a. Masukkan tabung kecil yang diisi KOH
 - b. Masukkan kecambah tetapi jangan sampai kecambah masuk ke KOH
 - c. Masukkan pula vial berisi eosin di bagian tengah dasar erlenmeyer
 - d. Masukkan pula pipet ukur bersama sama dengan penutup tabungnya, dengan ujung pipet ke dalam botol vial.
3. Pada manometer II : lakukan seperti pada langkah-langkah butir 2, namun lart. KOH diganti dengan H₂O saja.
4. Usahakan dua manometrik dirangkai secara bersamaan waktunya.
5. Lakukan pengukuran perubahan lart. Eosin pada monometer tiap 5 menit dalam waktu percobaan selama 20 menit (4 periode pengamatan).

Cara Penghitunan Sederhana :

1. Manometer dengan H₂O menghasilkan gas , misal 0,2 cm³
2. Manometer dengan KOH mengkonsumsi gas 0,6 Cm³
 Jadi oksigen dikonsumsi ekivalent dengan 0,6 Cm³
 CO₂ diproduksi – O₂ dikonsumsi = 0,2 Cm³
 Oleh karena itu CO₂ diproduksi = (0,6 + 0,2) Cm³ = 0,8 Cm³

Jadi RQ = 0,8 / 0,6 = 1,3

6. Masukkan data hasil pengukuran pada tabel A dan hasil penghitunan pada tabel B berikut

Tabel A : Produksi gas pada manometer dengan H₂O dan konsumsi gas pada manometer dengan KOH

Klp.	Kc. Hijau (A)		Kedelai (B)		Kc.Tanah (C)	
Manometer dg H₂O						
Manometer dg KOH						
Rerata						

Tabel : Produksi CO₂ dan Konsumsi O₂ pada respirasi kecambah

Klp.	Kc. Hijau (A)		Kedelai (B)		Kc.Tanah (C)	
Konsumsi CO ₂						
Konsumsi O ₂						
RQ						

Pertanyaan Diskusi

1. Buatlah grafik hubungan antara jumlah CO₂ dikeluarkan dan O₂ diserap pada ketiga kelompok kecambah ?
2. Untuk meyakinkan apakah ada beda / tidak RO antar kelompok kecambah, ujilah dengan uji T.
3. Kelompok manakah yang menunjukkan laju respirasinya paling tinggi atau besar.
4. Apakah perbedaan kecepatan respirasi yang ditunjukkan dengan beda RO yang cukup meyakinkan ?
5. Jelaskan mengapa terjadi gejala yang demikian ?

Laporan :

- | | |
|-----------------------|----------------------------|
| 1. Topik permasalahan | 6. Pembahasan |
| 2. Tujuan kegiatan | 7. Masalah yang berkembang |
| 3. Alat dan Bahan | 8. Kesimpulan |
| 4. Prosedur | 9. Daftar Pustaka |
| 5. Hasil pengamatan | |

Tugas Pengembangan :

1. Faktor apa saja yang berpengaruh terhadap respirasi jaringan tumbuhan
2. Bagaimana hubungan antara aktivitas respirasi dengan pertumbuhan ?

CARA TITRASI

1. Ambil larutan KOH dari botol jam sebanyak 25 ml. kemudian tambahkan tetes demi tetes BaCl₂ 0,5 N sebanyak 5 ml.

2. Teteskan pada larutan tersebut 2 tetes phenol phtalin (indikator PP) hingga larutan berwarna merah
3. Titrirlah larutan tersebut dengan 0,1 N HCl .
4. Hentikan titrasi tepat pada saat warna merah larutan hilang. Catatlah berapa banyak larutan HCl yang dibutuhkan
5. Ulangi titrasi untuk tiap perlakuan sebanyak 2 kali
6. Hitunglah CO₂ hasil respirasi dan kelompok blankonya

$$\text{CO}_2 \text{ respirasi} = \text{CO}_2 \text{ perlakuan} - \text{CO}_2 \text{ blanko}$$

Tabel : Rata-rata volume HCl dibutuhkan untuk titrasi

Perlakuan	HCl dibutuhkan			Kontrol / blanko
	Kec. A	Kec. B	Kec. C	
Kacang Hijau	P			
	K			
Kedelai	P			
	K			
Jagung	P			
	K			

Keterangan : P = percobaan; K = blanko

Cara menghitung volume CO₂ hasil titrasi :

Diketahui : Lama inkubasi (respirasi) = 24 jam
 Larutan KOH 0,5 N . X ml.
 Larutan standar (peniter) = 0,1 N Hcl.
 Reaksi : $2 \text{ KOH} + \text{CO}_2 \text{ -----} > \text{K}_2 \text{CO}_3 + \text{H}_2\text{O}$
 $\text{BaCl}_2 + \text{K}_2\text{CO}_3 \text{ -----} > \text{BaCO}_3 + 2 \text{ KCl}$

Dititer : KOH sisa (yang tidak mengikat CO₂)
 $\text{KOH} + \text{HCl} \text{ -----} > \text{KCl} + \text{H}_2\text{O}$

Konsentrasi KOH mula-mula : X ml 0,5 N = 0,5 X $\frac{X \text{ ml}}{1000}$ grol = A grol

KOH sisa habis dititer oleh Y ml 0,1 N HCl. karena jumlah grol peniter = jumlah grol yang dititer, maka grol KOH sisa dapat dicari sebagai berikut :

$$\text{grol KOH} = 0,1 \times \frac{Y}{1000} \text{ grol} = \text{B grol}$$

Jadi jumlah KOH yang bereaksi dengan $\text{CO}_2 = (A - B) = C$ grol
 Dari persamaan reaksi diatas, maka jmlah grol KOH eivalen dengan 0,5 grol CO_2 .
 Jadi tiap grol gas CO_2 yang berkaitan dengan KOH = $0,5 \times C$ grol = D grol.
 Jika tiap grol gas (0°C , 76 Cm Hg) banyaknya gas terlarut = 22,4 litter. maka volume gas CO_2 terlarut dapat dicari dengan persamaan :

$$\frac{V_1}{T_1} = \frac{V_2}{T_2}$$

V_1 = Volume gas terlarut dalam 0°C , P 76 Cm Hg, untuk tiap grol = 22,4 l
 $T_1 = 0^\circ\text{C} = 273 \text{ K}^\circ$. $T_2 =$ suhu pengamatan (dalam Kelvin) = $x + 273$
 $V_2 =$ volume gas yang dicari

$$\frac{V_1}{(x + 273)} = \frac{22,4}{273}$$

V_2 (CO_2) terlarut sebagai hasil respirasi = $\frac{22,4 \times (x + 273)}{273} \times D = E$ liter

Jadi volume CO_2 respirasi tiap jam = $\frac{E}{24} = \dots\dots\dots$ liter

Langkah Penghitungan	Blanko A	Blanko B	Blanko C	Keterangan
Grol KOH mula	C. $Y/1000 \times 0,5 = A$			
Grol KOH sisa Blanko	$b1/1000 \times 0,1 = b1$	$b2/1000 \times 0,1 = b2$	$b3/1000 \times 0,1 = b3$	b = Vol.HCl dari titrtasi
Grol KOH+ CO_2 pd Blanko = c	$(A1 - b1) = c1$	$(A2 - b2) = c2$	$(A2 - b3) = c3$	Utk koreksi CO_2 perlak.

Langkah Penghitungan	Perlakuan A	Perlakuan B	Perlakuan C	Keterangan
Grol KOH mula = A grol	D. $Y/1000 \times 0,5 = A$ grol			
Grol KOH sisa (dititer)	$Y1/1000 \times 0,1 = B1$	$Y2/1000 \times 0,1 = B2$	$Y3/1000 \times 0,1 = B3$	Y = Vol. HCl dari titrasi
Grol KOH+ CO_2 = C	$(A-B1) = C1$	$(A-B2) = C2$	$(A-B3) = C3$	
Grol KOH+ CO_2 Terkoreksi = Ct	$[C1 - c1] = Ct1$	$[C2 - c2] = Ct2$	$[C3 - c3] = Ct3$	Dikurangi dari

				blanko
Grol CO₂ = 0,5 Ct	0,5 x Ct1 = D1	0,5 x Ct2 = D2	0,5 x Ct3 = D3	
Vol CO₂ terlarut : {22,4 x (x+273)} = ----- x D 273	E1	E2	E3	CO ₂ / berat jar/ Vol. KOH dititer

MASALAH V :
KLOROFIL DAN FOTOSINTESIS

Kegiatan 7

Topik : Pengukuran kandungan klorofil daun

Tujuan : Mengetahui kandungan klorofil dan faktor lingkungan yang mempengaruhi pembentukannya.

Prinsip dasar

Pengukuran klorofil dapat dilakukan dengan metode Kolorimetri, menggunakan spektrofotometer UV

Prinsip Dasar

1. Larutan yang berwarna akan menyerap panjang gelombang sinar tertentu. Setiap larutan akan menyerap panjang gelombang tertentu secara maksimal. Angka serapan terbesar untuk panjang gelombang tertentu menggambarkan panjang gelombang yang paling sesuai untuk larutan tersebut. Angka ini akan tergantung dari jenis zat terlarut dan pelarutnya. Semakin banyak zat terlarut akan menyerap panjang gelombang tertentu lebih besar. Dengan demikian perbedaan serapan sinar menunjukkan intensitas zat terlarut yang diukur. Ada hubungan antara penyerapan sinar atau panjang gelombang tertentu dengan konsentrasi larutan. Besarnya sinar diserap larutan disebut "*Optical density (OD)*" atau nilai

Absorbansi Sebagian sinar yang tidak terserap merupakan sinar yang dilewatkan (transmit), disebut nilai *transmitan*. Biasanya dinyatakan dalam persentase (%). Nilai absorbansi merupakan negatif dari log transmitansinya

$$\text{OD [A]} = - \log T$$

Nilai A (absorbansi) atau “Optical density” memiliki hubungan linier dengan konstanta (k), tebal larutan yang dilalui (b) dan konsentrasi. Hubungan itu dapat dinyatakan dalam persamaan berikut :

$$A = k \cdot b \cdot c$$

Keterangan : k = konstanta
b = tebal larutan dilalui
c = konsentrasi

PENENTUAN KADAR KLOOROFIL

Pengukuran kadar klorofil secara spektrofotometrik didasarkan pada hukum Lambert – Beer. Beberapa metode untuk menghitung kadar klorofil total, klorofil a dan klorofil b telah dirumuskan. Di antaranya adalah :

1. Metode Arnon (1949), menggunakan pelarut acetone 85 % dan mengukur nilai absorbansi larutan klorofil pada panjang gelombang (λ) = 663 dan 645 nm.
2. Metode Wintermans and De Mots (1965), menggunakan pelarut ethanol (ethyl alcohol) 96 % dan mengukur absorbansi (A) larutan klorofil pada panjang gelombang (λ) = 649 dan 665 nm.

ALAT DAN BAHAN :

- | | |
|-----------------------|---|
| 1. Beker gelas 500 ml | 6. Aceton (95 %) atau ethanol (96 %) |
| 2. Beker gelas 250 ml | 7. Corong |
| 3. Cuvet | 8. Kertas saring / kapas |
| 4. Pemanas | 9. Beberapa jenis daun (daun hijau dan daun warna, segar dan lunak) |
| 5. Spektrofotometer | |

CARA PENGUKURAN

a. Penyiapan larutan klorofil

1. Timbanglah 1 gram daun lalu diekstrak (digerus dengan cawan porselin) dengan sedikit pelarut acetone 85 % atau ethanol 96 %, tergantung metode yang digunakan.
2. Saring dan ambil filtratnya

Catatan :

- a. Untuk mempercepat pengambilan filtrat, dapat dipusingkan dengan centrifuge sekitar 1500 rpm (putaran / mnt), selama 10 menit.
 - b. Bila disaring, perlu dibantu dengan saringan Buchner dan disedot dengan pompa vacum
 - c. Pelarutan klorofil juga dapat dipanaskan dalam water bath 70° C sampai klorofillarut sempurna, namun perlu dikalibrasi dengan hasil cara penggerusan.
3. Masukkan filtrat ke labu takar 100 ml. Kemudian tambahkan dengan pelarut yang sama sehingga larutan menjadi 100 ml.

b. Kalibrasi Transmittan

Untuk mengukur klorofil, terlebih dahulu dilakukan dikalibrasi terhadap nilai transmitansinya. Nilai transmittan pelarutnya harus dibuat atau diatur 100%, sehingga nilai absorbansi yang dihasilkan saat pengukuran semata-mata ditentukan oleh klorofil sebagai zat terlarutnya (bukan oleh pelarut).

Langkah-langkahnya :

1. Hidupkan spektrofotometer sebelum digunakan untuk mengukur (lk 20 menit) agar alatnya stabil.
2. Tuangkan pelarut (acetone / ethanol : sesuai yang digunakan) ke dalam cuvet sampai garis batas
3. Bersihkan dan keringkan permukaan luar tabung cuvet
4. Atur panjang gelombang pengukuran pada spektrofotometer.
5. Masukkan cuvet ke spektrofotometer

- Aturlah nilai “transmittan”-nya menunjuk pada angka 100 %, dengan memutar tombol pengatur transmisinya.

c. Pengukuran klorofil

- Tuangkan larutan klorofil ke CUVET sampai garis batas
- Bersihkan permukaan CUVET dengan tissue, dan masukkan ke spektrofotometer.
- Catat nilai absorbansi ($A = OD$) untuk setiap panjang gelombangnya

Tabel : Data absorbansi larutan klorofil

Sampel ke	Pengukuran ke (Ulangan ukuran)	Absorbansi		Kandungan klorofil
		$\lambda-1$	$\lambda-2$	
I.	1
	2
	3
Rerata	
II.	1
	2
	3
		

Catatan, Lakukan pengukuran absorbansi masing-masing larutan klorofil (filtrat) dengan spektrofotometer UV sesuai metode / pelarut yang digunakan

= Dengan acetone : 645 dan 663 nm

= Dengan ethanol : 649 dan 665 nm

D. RUMUS MENGHITUNG KLOOROFIL

a. Pelarut ethanol 96 % (Wintermans & de Mots: 1965)

$$\text{Klo. a} = 13,7 D-665 - 5,76 D-649 \text{ (mg/ l)}$$

$$\text{Klo. b} = 25,8 D-649 - 7,60 D-665 \text{ (mg/ l)}$$

$$\text{Total klorofil} = 20,0 D-649 + 6,10 D-665 \text{ (mg/ l)}$$

b. Pelarut acetone 80 % (Arnon : 1949)

$$\text{Klo. a} = 12,7 \text{ D-663} - 2,69 \text{ D-645} \quad (\text{mg/l})$$

$$\text{Klo. b} = 22,9 \text{ D-645} - 4,68 \text{ D-663} \quad (\text{mg/l})$$

$$\text{Klo. Total} = 20,2 \text{ D-645} + 8,02 \text{ D-663} \quad (\text{MG/l})$$

Tabel : kandungan klorofil daun beberapa jenis tumbuhan

Sampel ke	Kandungan klorofil		Total klorofil
	Klorofil a	Klorofil b	
1
2
.			
n			

Diskusi / Pembahasan

1. Lebih banyak manakah antara klorofil a dan klorofil b ?
2. Adakah perbedaan kadar klorofil antara daun hijau dan daun berwarna ?
3. Bagaimana kualitas klorofil tanaman yang cukup cahaya dan kurang cahaya atau menurut tingkat umur daunnya ?
3. Kesimpulan apakah yang dapat dinyatakan dari hasil percobaan ini ?

Laporan Laporan :

- | | |
|-----------------------|----------------------------|
| 1. Topik permasalahan | 5. Hasil dan Pembahasan |
| 2. Tujuan kegiatan | 6. Masalah yang berkembang |
| 3. Alat dan Bahan | 7. Kesimpulan |
| 4. Prosedur | 8. Daftar Pustaka |

Tugas Pengembangan :

Bagaimana mekanisme transpor asimilum dari daun ke bagian organ yang lain ?

Kegiatan 8

Topik : Pengukuran Manometric terhadap Pengaruh Intensitas Cahaya Terhadap laju Fotosintesis ?

Tujuan : Untuk mengetahui cara pengukuran laju fotosintesis secara manometrik pada tumbuhan darat

Prinsip Dasar

Fotosintesis digerakkan oleh energi matahari (photon). Dari keseluruhan cahaya matahari yang terpancar, hanya sekitar 0,5 - 3,5 % saja yang diserap daun untuk fotosintesis. Daun mampu menangkap energi surya karena memiliki sistem penangkap energi surya (light harvesting system) atau sistem aseptor photon, dan sistem transfer elektron dalam kloroplast. Dalam kloroplast terdapat photosystem I dan II, yang merupakan kumpulan pigmen dan aseptor elektron yang lain, seperti klorofil a, klorofil b, karotenoida, sitokrom, plastosianin, guinon, plastoquinon, ferredoksin, pigment 680, pigment 700, dan sebagainya. Berbagai pigment tersebut memiliki kemampuan menyerap panjang gelombang tertentu dari cahaya matahari.

Cahaya matahari merupakan polichromatis, tersusun atas beberapa warna cahaya dengan panjang gelombang tertentu. Energi photon sangat tergantung dari panjang gelombang (λ). Sinar biru dan merah paling dominan diserap, namun jenis sinar yang lain juga terlibat dalam fotosintesis. Energi photon sinar matahari memenuhi rumus :

$$E = h \cdot \nu = \frac{h \cdot c}{\lambda}$$

Keterangan : E = energi photon

h = Konstanta Planck [$6,62 \times 10^{-27}$ Erg.Sec⁻¹.

c = Kecepatan cahaya [3×10^{10} cm Sec⁻¹.

λ = panjang gelombang

ν = frekuensi (Sec⁻¹.)

Karena energi photon tiap jenis sinar berbeda maka efek jenis sinar dan intensitasnya menarik untuk dipelajari.

Cahaya yang dapat dipergunakan dalam fotosintesis ini mempunyai syarat kualitas (jenis gelombang) dan kuantitas (intensitas cahaya) tertentu. Dalam kondisi normal, cahaya matahari memenuhi semua syarat itu, sehingga secara alami, cahaya matahari merupakan sumber energi bagi fotosintesis. Pigmen fotosintetik, sebagai penangkap energi cahaya matahari, berupa klorofil dan atau karotenoid.

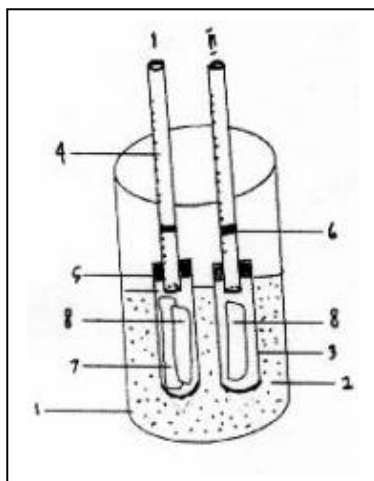
Energi surya merupakan penggerak proses fotosintesis yang terjadi di daun atau jaringan fotosintetik lainnya. Kemampuan organ atau jaringan ini ditopang oleh dimilikinya perangkat pigmen dan aseptor elektron lain yang membentuk perangkat fotosintem dan sistem enzimnya, yang berperan mengubah energi surya menjadi energi kimia. Sistem pigmen ini terutama berperan pada proses-proses pada tahapan reaksi cahaya, yang terkait dengan fotolisis H₂O, fotofosforilasi dan pembentukan reduktor kuat NADPH₂. Berapa macam pigmen yang terdapat pada daun ?

ALAT DAN BAHAN

- | | |
|----------------------------|-------------------------------------|
| 1. Botol jam / Beker gelas | 5. Contoh daun tanaman darat |
| 2. Tabung reaksi | 6. karet penyumbat, gunting, pinset |
| 3. Pipa kaca berskala | 7. Kawat |
| 4. Bufer karbonat | 8. Lart. Eosin |

CARA KERJA :

1. Perhatikan gambar rakitan alat percobaan pada gambar berikut



Keterangan :

1. Tabung gelas/ Beaker
2. Air
3. tabung reaksi
4. pipa kaca berskala
5. karet sumbat
6. Lart. Eosin
7. Irisan daun / jaringan
8. kertas saring

I : manometer perlak.
II : manometer kontrol

2. Siapkan tabung jar yang diisi air (sebagai “water bath”). Siapkan pula karet penutup yang rapat dengan dua lubang untuk memasukkan manometernya.
3. Lubang 1 untuk manometer percobaan dan lubang 2 untuk manometer kontrol.
4. Isikan tabung reaksi dengan potongan kertas saring ke dasar tabung.
5. Tuangkan lk 10 tetes bufer karbonat, dan biarkan merambat di kertas saring.
6. Masukkan potongan daun segar yang hendak diukur laju fotosintesisnya.
7. Tutup mulut tabung reaksi dengan pipa kaca berskala bersama sumbat karetnya
8. Masukkan larutan eosin pada pangkal pipa berskala dengan pipet bermulut kecil.
9. Masukkan manometer ini ke dalam tabung jar yang telah disiapkan.
10. Hitung perubahan volum udara tiap 5 menit, berdasar pergeseran eosin pada manometer yang menunjukkan produksi O₂ fotosintetik

Catatan : 1) Ada percobaan yang diletakkan di tempat terik dan teduk
 2) Bufer karbonat dibuat dengan melarutkan 1,38 g K₂CO₃ dan 9,01 g KHCO₃ dalam 100 ml akuades

Analisis Data

1. Masukkan data hasil pengukuran volume udara (O₂) dihasilkan ke tabel berikut

Tabel : Volume gas (O₂) dihasilkan oleh jaringan fotosintetik

5 menit Ke	Pergeseran eosin dalam manometer				Ket.
	Tempat terik		Tempat teduh		
	Perlakuan	Kontrol	Perlakuan	Kontrol	
1					
2					
3					

Rerata					
---------------	--	--	--	--	--

2. Ujilah ada tidaknya perbedaan laju fotosintesis ke dua kelompok tersebut dengan uji T

Diskusi / Pembahasan

1. Pada perlakuan manakah pergeseran eosin terjadi paling cepat ?
2. Jelaskan mengapa eosin terdesak ke arah luar ?
3. Bandingkan laju fotosintesis pada kondisi terik dan teduh ?

Laporan :

1. Topik permasalahan
2. Tujuan kegiatan
3. Alat dan Bahan
4. Prosedur
5. Hasil pengamatan
6. Pembahasan
7. Masalah yang berkembang
8. Kesimpulan
9. Daftar Pustaka

Tugas Pengembangan :

Jelaskan bagaimana mekanisme fisiologi-biokemisnya dalam fotosintesis sehingga dihasilkan O₂ sebagai salah satu produknya ?

Kegiatan 9

Topik : Determinasi macam pigmen daun dengan kromatografi kertas

Tujuan : Untuk mengidentifikasi macam pigmen pada jaringan daun

Prinsip Dasar

Di dalam daun sebagai organ fotosintetik terdapat bermacam-macam pigment aseptor elektron yang mendukung proses fotosintesis. Untuk melihat macam pigmen harus dilakukan ekstraksi jaringan daun, kemudian dilakukan pemisahan. Secara umum, ada beberapa metode pemisahan bahan yang dapat digunakan, meliputi kromatografi kertas

(KKt), kromatografi lapis tipis dengan silica gell (KLT), kromatografi gas-cair, dan elektroforesis. Dengan menggunakan pengembang yang sesuai untuk bermacam-macam pigment, maka kelompokan molekul menurut besar kecilnya ukuran akan dapat merambat naik dalam kertas kromatografi dan menjadi terpisah-pisah. Beberapa kelompok pigmen ada yang dapat dilihat dengan mata biasa, dan beberapa senyawa pigment yang lain dapat dilihat dengan bantuan larutan penyemprot bercak dan dilihat dibawah lampu UV. Di antara ke empat metode tersebut, metode KKt adalah metode yang paling sederhana.

Alat dan Bahan

Alat : Tabung Jar, kertas Whatman 3, alat penotol ekstrak, alat pengeksrak, penutup tabung jar, gelas piala

Bahan : Daun berwarna-warni yang segar, pelarut organik : aceton, petrolium eter

Cara Kerja

1. Geruslah atau ekstraklah daun dengan sedikit aceton.
2. Totolkan dengan alat penotol ekstrak pada kertas kromatografi, lk 1,5 Cm dari dasar kertas. Jarak antar titik totolan ekstrak minimal 1 cm. Pada bagian ujung kertas pada jarak lk 2 cm dari ujung, tetapkan garis batas menggunakan pensil.
3. Masukkan kertas tersebut dalam larutan pengembang yang telah disiapkan dalam tabung jar dengan ketinggian larutan 1 cm. Bercak totolan jangan sampai terendam larutan secara langsung.
4. Biarkan larutan pengembang merambat naik di kertas sambil membawa pigmen-pigmen yang ada.
5. Hentikan pemisahan pigment setelah salah larutan pengembang mencapai batas atas tersebut. Amati kelompok-kelompok warna yang muncul pada kertas. Tentukan nilai Rf masing-masing kelompok pigmen. Nilai Rf merupakan perbandingan jarak rambat maksimum tiap kelompok pigmen terhadap jarak rambat dari titik totolan hingga garis batas atas yang telah ditetapkan.
6. Masukkan data dalam tabel

Daun	Kelompok pigmen	Warna pigmen	Warna pigmen dibawah UV
A	1
	2
	N
B	1
	2
	N

Pertanyaan Diskusi

1. Berapa macam pigmen yang dapat ditemukan pada masing-masing jenis daun
2. Apakah macam kelompok pigment antar daun berbeda ?
3. Terdapat berapa macam warna di bawah lampu UV ?
4. Bagaimana nilai Rf antar kelompok pigmen dan apa artinya bila suatu pigmen ber Rf lebih besar ?
5. Apa yang dapat saudara simpulkan dari hasil pengamatan ini ?

<p>MASALAH VI : SENESCENS</p>

<p>Kegiatan 10</p>

Topik : Efek Hormon Tumbuh Terhadap Senescens

Tujuan : Mengetahui peran hormon pertumbuhan dalam peristiwa senescens

Prinsip :

Sistem hormon tumbuh berperan mengontrol pertumbuhan dan perkembangan organ daun, termasuk pula dalam biosintesis dan pemeliharaan klorofilnya sehingga memperlambat proses penuaan dan kerudakan klorofil. Hormon tumbuh yang bekerja pada organ daun meliputi IAA, sitokinin, GA, ABA dan ethylen. Hormon tersebut secara interaktif, baik secara sinergis maupun antagonis berperan mengendalikan berbagai

proses perkembangan pada daun. Hormon manakah diantara bermacam-macam jenis hormon tumbuh tersebut berperan dalam mengendalikan laju kerusakan klorofil, menarik untuk dipelajari.

Untuk melihat efek GA terhadap laju kerusakan klorofil (senescens), larutan GA digunakan untuk merendam jaringan daun dalam seri waktu. Laju kerusakan klorofil diukur dengan membandingkan kandungan klorofil daun pada perlakuan hormon, dibandingkan dengan kandungan klorofil daun pada kontrolnya. Pengukuran klorofil dilakukan dengan metode Arnon secara kolorimetri dengan menggunakan spektrofotometer. Pelarut digunakan ethanol 96 %, dan diukur absorbansin pada λ 649 dan 665 nm.

ALAT dan BAHAN

1. Spektrofotometer
2. Cawan petri
3. Lart. GA3, NAA/ IBA, Kinetin (BAP), masing-masing 0,05; 0,5 dan 5 ppm.

Metode Pengukuran : Bioassay hormon terhadap senescens

CARA KERJA :

1. Ambil daun dewasa suatu tanaman yang terkena cahaya penuh
2. Buatlah 125 potongan daun dengan pelubang gabus, diameter 1,0 cm
3. Simpan potongan daun dalam botol yang dilapisi kertas saring basah
4. Siapkan 10 buah petri yang dilapisi kertas saring, dan berilah perlakuan berikut :
 - a. 3 cawan ditetesi 1 ml lart. GA,
 - b. 3 cawan ditetesi 1 ml IAA (NAA/ IBA)
 - c. 3 cawan ditetesi 1 ml kinetin (BAP)
 - d. 1 cawan ditetesi 1 ml akuades
5. Ke dalam semua cawan tersebut masukkan 10 potong daun yang telah disiapkan.
6. Tutup cawan petri dan bungkuslah dengan kertas saring yang dibasahi. Selanjutnya, simpanlah cawan tersebut di tempat gelap.
7. Biarkan selama 3 - 4 hari, kemudian hitunglah kadar klorofil daunnya.

Cara Pengukuran :

1. Pengukuran klorofil

- Ambil 1 gram daun lalu ekstraklah dengan aceton 80 % (ethanol 96 %) dengan cawan porselin. Saring filtratnya, tambahkan aceton sampai ekstrak 100 ml.
- Lakukan pengukuran absorbansi masing-masing filtrat dengan spektrofotometer UV, pada panjang gelombang sbb :

= Dengan aceton : 645 dan 663 nm

= Dengan ethanol : 649 dan 665 nm

- Hitunglah kand. klorofil a, b dan totalnya seperti pada kegiatan “Fotosintesis”
- Masukkan data hasil pengamatan dalam tabel berikut

Tabr\el : Kandungan klorofil daun setelah diperlakukan

Klp	GA (ppm)			NAA (ppm)			BAP (ppm)		
	.005	.05	5	.005	.05	5	.005	.05	5
1									
2									
.									
N									
Rerata									

- Buatlah grafik laju penurunan klorofil pada ketiga perlakuan jenis hormon

Diskusi / Pembahasan

- Pada perlakuan mana kadar klorofil tidak banyak turun ?
- Hormon apa yang berperan menghambat laju penurunan klorofil daun tersebut ?
- Kesimpulan apakah yang dapat dinyatakan dari percobaan ini ?

Laporan :

1. Topik permasalahan
2. Tujuan kegiatan
3. Alat dan Bahan
4. Prosedur
5. Hasil pengamatan
6. Pembahasan
7. Masalah yang berkembang
8. Kesimpulan
9. Daftar Pustaka

Tugas Pengembangan

Bagaimana “mode of action” GA menghambat laju kerusakan klorofil daun ?

Kegiatan 11

Topik : Aktivitas enzim amilase pada biji dorman dan biji yang aktif germinasi

Tujuan : Mendeteksi aktivitas amilase pada biji dorman dan biji berkecambah pada perombakan amilum endosperm

Prinsip Dasar :

Di dalam jaringan hidup terjadi aktivitas metabolisme, baik proses yang bersifat sintesis, konversi menjadi bahan lain atau pembentukan turunannya, maupun proses yang bersifat degradasi. Sebagian besar proses terjadi secara enzimatik, yang dipengaruhi baik oleh faktor internal maupun eksternal. Pada proses perkecambahan biji, proses penting yang terjadi adalah mobilisasi nutrisi dari jaringan endosperm ke lembaga yang sedang atau akan bertumbuh. Proses ini diawali oleh berbagai proses perombakan bahan organik penting, meliputi protein, lemak dan karbohidrat.

Perombakan amilum endosperm dilakukan oleh aktivitas enzim amilase. Faktor internal yang akan berpengaruh terhadap proses tersebut antara lain adalah suhu, pH, substrat, tingkat kebutuhan sel dan aktivitasnya, serta konsentrasi enzimnya. Secara teoritik, perbandingan enzim – substrat akan berpengaruh langsung terhadap laju aktivitas perombakan, disamping faktor daya katalitik enzimnya sendiri. Demikian pula aktivitas perombakan cadangan makanan juga dipengaruhi langsung oleh faktor lingkungannya.

Alat dan Bahan

Alat : Cawan porselin, gelas ukur, tabung reaksi, alat pemusing, lempeng penguji (drople plate), pipet dan water bath

Bahan : Kecambah kacang hijau umur 2 – 3 hari
Larutan amilum 2,5 %, larutan Iodine / YKY

Cara Kerja :

1. Tumbuklah biji kacang hijau yang sedang berkecambah dan biji yang tidak sedang berkecambah, kemudian larutkan dalam 100 ml akuades

2. Pindahkan larutan ekstrak ke dalam tabung gelas pemusing pada kecepatan sekitar 400 – 1000 rpm.
3. Ambil supernatan (ekstrak). Cairan supernatan dianggap konsentrasi 100%.
4. Ambil dengan pipet ukur 5 ml supernatan dan tuangkan ke 2 ml larutan amilum 2,5 % yang telah disiapkan dalam tabung reaksi dan diaduk hingga bercampur merata.
5. Ujilah dengan uji Iodine (IKI) setiap 0,5 menit dengan cara :
 - Teteskan beberapa tetes larutan ke lempeng uji
 - Tetesi dengan 1 – 2 tetes iodine
 - Amati perubahan warna yang terjadi
 - Uji pula larutan amilum yang tidak diberi larutan supernatan.
6. Catat reaksi warna setiap kali melakukan uji dan masukkan dalam tabel
7. Buatlah grafik hubungan antara kadar enzim dengan perubahan warna

Tabel : Reaksi warna terhadap uji Iodine

Periode 0,5 mnt ke	Reaksi warna uji Iodine		Keterangan
	Aktif berkecambah	Tidak berkecambah	
1			
2			
3			
.			
N			

Pertanyaan Diskusi

1. Pada kelompok supernatan biji manakah yang memberi reaksi warna yang lebih cepat ?
2. Apakah cepat lambat reaksi warna menggambarkan cepat lambatnya aktivitas amilase dalam supernatan biji tersebut ?
3. Bagaimana peran amilase dalam usaha mobilisasi nutrisi dari endosperm ?
4. Apa kesimpulan yang dapat saudara nyatakan berdasar percobaan ini ?

Pengembangan

1. Dapatkah laju perombakan amilum diuji dengan uji kualitatif lain seperti uji Benedict atau uji Fehling ? Bagaimana uji ini dilakukan ?
3. Dapatkah laju perombakan diukur secara kuantitatif dengan metode kolorimetri dengan spektrofotometri ? Bagaimanakah hal ini dapat dilakukan ?

Kegiatan 12

Topik : Aktivitas katalase pada jaringan tua / mengalami senescens

Tujuan : Untuk mengetahui gambaran aktivitas katalase pada beberapa jaringan tumbuhan

Prinsip Dasar

Tingkat aktivitas metabolisme suatu jaringan merupakan cerminan dari tingkat aktivitas enzimatis yang terjadi. Tingkat aktivitas ini dipengaruhi baik oleh faktor internal maupun eksternal. Faktor-faktor internal seperti umur jaringan, kondisi dan jenis jaringan atau organnya turut menentukan. Demikian pula aktivitas enzimatis merupakan fungsi dari berbagai faktor eksternal.

Variasi kondisi internal menentukan tingkat aktivitas jaringan. Periode pertumbuhan dan perkembangan buah, daun, biji dan umbi (tingkat umur) atau lama simpan biji, ada tidaknya infeksi parasit dan kondisi fisiologis tanaman berefek langsung pada aktivitas enzim-enzim, termasuk di antaranya katalase. Katalase ini merupakan enzim yang terkait dengan detoksifikasi hidrogen peroksida (H_2O_2) yang selalu dihasilkan di dalam mikrobodi. Daya katalitik katalase dapat diukur dengan cara mengkontakkan langsung supernatan berisi katalase dengan substrat H_2O_2 .

Alat dan Bahan

Alat : Alat pemusing (centrifuge), cawan porselin dengan penggerusnya, air es, water bath, gelas beker, selang plastik, gelas ukur

Bahan : Umbi lapis lama dan baru (sebagaipembanding)

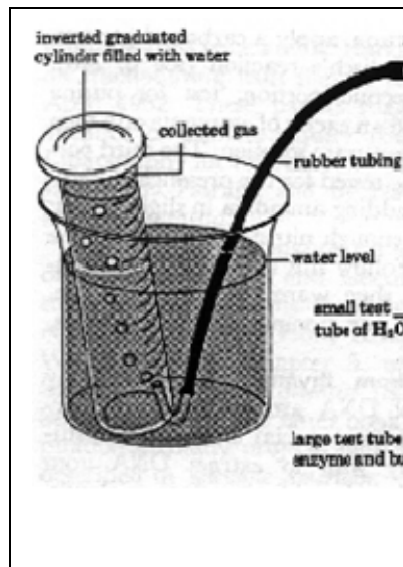
Buah lewat masak dan buah muda (sebagai pembanding)

Daun tua dan daun muda / pucuk (sebagai pembanding)

H₂O₂, 10 %

Cara Kerja :

1. Gerus lk 1 g jaringan yang hendak diukur aktivitas katalasenya dengan cawan porselin dengan sedikit akuades dingin, dan dalam lingkungan dingin.
2. Siapkan tabung reaksi dan masukkan ke dalamnya 25 ml 10 % H₂O₂.
3. Masukkan gerusan / ekstrak tadi ke dalam tabung reaksi berisi H₂O₂ tersebut.
4. Tutup rapat dengan tutup karet yang dilengkapi dengan selang karet, terhubung dengan gelas ukur dalam bejana (lihat konstruksi alat berikut)
5. Masukkan tabung reaksi dalam water bath dengan suhu lk 35 oC.
6. Amatilah pada bagian tabung reaksi dan catat gejala yang terjadi
7. -Ukurlah volume gas yang dihasilkan tiap 5 menit



Gb : Konstruksi percobaan

Tabel : Volume gas oleh aktivitas katalase jaringan

Jaringan/ organ	Produksi gelembung / 5 menit		Keterangan
	Tua	Muda	
1. Daun			
2. Umbi lapis			
3. Dst			

Diskusi / Pembahasan

1. Apakah terbentuk gelembung-gelembung udara ? Bila ya, gas apakah gelembung tersebut ?
2. Adakah perbedaan jumlah gelembung atau volume gas dihasilkan antar kelompok perlakuan.
3. Jelaskan mengapa terjadi perbedaan jumlah / volume gas ?.
4. Kesimpulan apakah yang dapat dinyatakan berdasar percobaan ini ?

Pengembangan :

Apakah akan terjadi perbedaan bila suhu inkubasi selama aktivitas enzim berbeda ?

MASALAH VI : FISIOLOGI STRESS

Kelangsungan hidup tumbuhan ditentukan oleh berbagai faktor lingkungannya. Tumbuhan dapat melakukan semua aktivitas hidup secara optimal bila lingkungannya sangat mendukung. Sebaliknya, aktivitas fisiologis akan terganggu bila kondisi lingkungannya tidak mendukung. Seperti halnya organisme pada umumnya, tumbuhan memiliki variasi kemampuan adaptasi dan daya toleransi terhadap berbagai kondisi lingkungan. Kondisi stress ditandai oleh menurunnya tingkat aktivitas fisiologinya.

Kondisi yang buruk atau perubahan yang memburuk akan menyebabkan tumbuhan mengalami stress, tekanan atau cekaman. Banyak faktor lingkungan yang dapat menyebabkan tumbuhan menjadi stress, baik yang bersumber dari tekanan keadaan fisik, kimia maupun biologis. Stress akibat faktor tekanan lingkungan antara lain seperti suhu yang ekstrim (sangat panas atau sangat dingin), udara kering, intensitas matahari yang sangat terik, kekeringan, atau tergenang air bagi tumbuhan darat. Stress oleh tekanan kimia terutama akibat adanya berbagai bahan toksik meliputi logam berat, bahan beracun seperti polusi minyak / senyawa hidrokarbon lain, biosida, asam keras, atau kondisi kimia lingkungan lain yang buruk seperti pH terlalu asam atau terlalu basa, kadar garam yang tinggi, aerasi yangat buruk, dan sebagainya. Stress akibat logam berat yang terbuang ke lingkungan bebas dari berbagai industri, antara lain Crom (Cr), Cadmium (Cd), Merkuri (Hg), Plumbun (Pb) dan Argentum (Ag). Sedangkan stress oleh faktor biologis timbul dari adanya kompetisi, interaksi yang parasitik dan alelopatik. Efek bahan-bahan beracun dapat bersifat kronis dan akut, ditentukan oleh lama kontak, konsentrasi dan daya tahan tumbuhan yang dikenai itu sendiri.

Kegiatan 13

Topik : Pengukuran Fitotoksisitas herbisida terhadap perkecambahan

Tujuan : Untuk mengetahui bentuk pengaruh herbisida terhadap perkecambahan dan pertumbuhan kecambah suatu tanaman.

Prinsip Dasar

Herbisida merupakan bahan aktif sintetik yang oleh karena menggunakan yang ekstensif, akan terserap oleh tumbuhan atau juga terjadi akumulasi di lingkungan, yang pada gilirannya akan terserap oleh tanaman. Untuk melihat daya efek bahan toksik ini perlu dilakukan pengujian (bioassay) , dengan melakukan pengukuran terhadap beberapa parameter atau indikator penting. Salah satu bentuk bioassay dilakukan dengan metode perkecambahan atau pertumbuhan pada taraf awal (semai / seedling). Untuk ini akan dipilih bioassay perkecambahan dan pertumbuhan kecambah. Sebagian tumbuhan bersifat sensitif (“suseptable”) dan sebagian lainnya bersifat toleran (“unsuseptable”). Untuk kepentingan ini akan sangat baik dilakukan terhadap tumbuhan uji yakni tumbuhan yang sensitif / responsif terhadap herbisida yang diberikan. Dengan metode ini, parameter yang perlu diukur meliputi daya berkecambah biji, pertumbuhan akar, hipokotil, epikotil dan pertumbuhan daun kecambahnya. Bila mungkin dilakukan pula pengukuran aktivitas fisiologisnya, seperti respirasi dan aktivitas enzimnya.

Alat dan Bahan

Alat : Autoclave, cawan petri, pipet, low inkubator, erlenmeyer, perangkat alat titrasi, botol jam, kain kasa, termometer, penggaris

Bahan : Beberapa jenis biji, kertas saring, kertas payung, akuades, herbisida, larutan dan reagent untuk titrasi (0,5 N KOH, 0,1 N HCl, BaCl₂, Indikator pp)

Cara Kerja :

A. Sterilisasi alat dan bahan uji pengecambahan :

1. Siapkan sejumlah cawan petri dengan penutupnya yang bersih. Masukkan kertas saring Whatman-3 ke dalamnya, kemudian bungkus dengan kertas payung. Kemudian masukkan dalam autoclave.
2. Siapkan 200 ml akuades dalam erlenmeyer, dan tutup rapat dengan aluminium foil. Bungkus pula pipet yang hendak digunakan. Masukkan pula dalam autoclave.
3. Sterilisasilah alat dan bahan tersebut pada t 121 oC, selama 15 menit.

B. Penyiapan larutan herbisida

1. Siapkan 3 seri larutan herbisida dengan akuades steril, dosis :
 - a. 1 x dosis minimal anjuran,
 - b. 2 x dosis minimal anjuran
 - c. 3 x dosis minimal anjuran
2. Tutup rapat dan Siapkan larutan ini di LAF.

E. Sterilisasi biji

1. Cuci biji-biji bahan uji dengan detergent, kemudian dibilas sampai bersih (3 kali).
2. Kemudian biji direndam dalam klorox atau pemutih beberapa saat (lk 2- 4 menit), lalu dicuci dengan akuades steril beberapa kali (3 x) sampai bersih.
3. Pindahkan biji-biji tersebut ke entcash atau LAF.

F. Pengecambahan biji

1. Siapkan cawan petri steril, pipet dan akuades steril , seri larutan herbisida dan biji-biji steril dalam entcash atau LAF
2. Buka cawan petri dan basahi kertas saringnya dengan 10 ml lart. Herbisida
3. Masukkan ke dalam tiap petri masing-masing dengan 10 biji. Kemudian tutuplah dengan penutupnya dan bungkus kembali dengan kertas payungnya.
4. Pindahkan cawan pengecambahan ke inkubator dalam suhu 30-35 oC.
5. Amatilah perkecambahan tiap hari (tanpa membuka tutup cawannya) dan catat perubahan pada bijinya. Tambahkan larutan herbisida bila kertas saring semakin kering di dalam entcash/ LAF.
6. Setelah hari ke 6, bukalah cawan dan lakukan pengukuran tentang panjang akar, hipokotil dan epikotil (jangan sampai rusak).

G. Pengukuran respirasi :

1. Siapkan sejumlah botol jam (sesuai kebutuhan perlakuan) dan isikan dengan 50 ml 0,5 N KOH.

2. Bungkuslah kecambah ke dalam kain kasa, kemudian masukkan ke botol jam secara menggantung dengan tali ke mulut botol.
3. Tutuplah dengan penutupnya dengan rapat dan biarkan selama lk 24 jam.
4. Bukalah botol, ambilah kecambah, lalu cepatlah ukur suhu larutan KOH-nya.
5. Ambil 10 ml larutan KOH tersebut, tambahkan beberapa tetes BaCl₂, lalu titerlah dengan 0,1 N HCl. Lakukan titrasi minimal dua kali dan catat volume HCl. Titer pula KOH unit kontrolnya.
6. Hitunglah berapa CO₂ dihasilkan oleh masing-masing kelompok kecambah perlakuan. Bandingkanlah dengan jumlah CO₂ kelompok kontrol.

H. CARA TITRASI

1. Ambilah larutan KOH dari botol jam sebanyak 25 ml. kemudian tambahkan
2. tetes demi tetes BaCl₂ 0,5 N sebanyak 5 ml.
3. Teteskan pada larutan tersebut 2 tetes phenol phtalin (indikator PP) hingga larutan berwarna merah.
4. Titirlah larutan tersebut dengan 0,1 N HCl.
5. Hentikan titrasi tepat pada saat warna merah larutan hilang. Catatlah berapa banyak larutan HCl yang dibutuhkan
6. Ulangi titrasi untuk tiap perlakuan sebanyak 2 kali.
7. Hitunglah CO₂ hasil respirasi dengan dikoreksi dari titrasi blankonya

I. Uji Pertumbuhan

1. Siapkan botol jam steril, pipet dan akuades steril, seri larutan herbisida dan biji-biji steril dalam entcash atau LAF
2. Siapkan seri larutan herbisida sesuai perlakuan yang diinginkan, dan masukkan ke dalamnya masing-masing lk100 biji. Biarkan selama sehari.
3. Pindahkan biji pada cawan petri steril dan lakukan seleksi terhadap biji-biji yang mulai berkecamabah secara serentak
4. Buka botol jam steril untuk penumbuhan kecambah dan basahi kertas saringnya dengan 10 ml lart. Herbisida.

5. Masukkan ke dalam masing-masing 10 kecambah yang telah diseleksi (yang baik), lalu tutup dengan rapat.
6. Tempatkan botol-botol ini pada tempat dengan cahaya cukup yang aman, suhu kamar. Biarkan kecambah tumbuh selama 10 hari.
7. Amatilah tiap hari, lakukan perawatan, tambahkan larutan herbisida bila mengalami kering. Penambahan larutan harus dalam entcash atau LAF.
8. Catat gejala-gejala visual yang teramati selama penumbuhan kecambah.
9. Setelah hari ke 10, bukalah botol dan lakukan pengukuran terhadap beberapa parameter pertumbuhan untuk tiap kecambah, pada :
 - (1) berat basah total, (2) panjang akar, (3) hipokotil dan (4) epikotil, (5) jumlah dan (6) ukuran daun. Bila mungkin ukur kadar klorofil daunnya

Kegiatan 14

Topik : Efek Logam Berat Terhadap Perkecambahan Biji

Tujuan : Untuk karakterisasi efek toksik beberapa logam terhadap perkecambahan

Prinsip Dasar

Di lingkungan tanah atau air tanah terdapat bermacam-macam polutan logam berat. Materi tersebut berasal dari berbagai aktivitas dan produk industri seperti pupuk, biosida, limbah cair industri, limbah pembakaran kendaraan bermotor dan sebagainya. Tingkat efek logam berat bervariasi, tergantung jenis, dosis dan lama kontak. Tingkat toksisitas logam berat berbeda-beda, demikian pula daya toleransi ataupun resistensi tumbuhannya. Tingkat resiko keracunan tumbuhan oleh logam berat akan lebih besar pada daerah-daerah yang terkena limbah industri atau pemakaian bahan – bahan kimia pertanian yang intensif. Efek toksik dapat dilihat baik gejala-gejala struktural / visual maupun gangguan aktivitas fisiologisnya.

Alat dan Bahan

Alat : perangkat alan bioassay seperti kegiatan 11 diatas

Bahan : Seri larutan Cu (CuSO_4), Hg (HgCl_2) atau Cd (CdCl_2)

Biji kacang hijau atau kacang merah, jagung atau padi

Cara Kerja

1. Lakukan sterilisasi biji-biji yang dipilih menjadi bahan uji
2. Lakukan sterilisasi cawan pengecambahan dan botol penumbuhan kecambah, serta bahan dan alat lainnya yang dibutuhkan
3. Siapkan seri larutan logam berat yang dibutuhkan dan unit kontrolnya :
 - a. CuSO_4 : $5 \cdot 10^{-8}$ M, $5 \cdot 10^{-6}$ M, $5 \cdot 10^{-4}$ M; $5 \cdot 10^{-2}$ M; $5 \cdot 10^0$ M
 - b. HgCl_2 : $5 \cdot 10^{-8}$ M, $5 \cdot 10^{-6}$ M, $5 \cdot 10^{-4}$ M; $5 \cdot 10^{-2}$ M; $5 \cdot 10^0$ M
 - c. CdCl_2 : $5 \cdot 10^{-8}$ M, $5 \cdot 10^{-6}$ M, $5 \cdot 10^{-4}$ M; $5 \cdot 10^{-2}$ M; $5 \cdot 10^0$ M
4. Siapkan bahan dan alat-alat steril dalam entcash atau LAF

A. Uji perkecambahan

1. Buka petri dan tuangkan 10 ml seri larutan logam berat yang telah disiapkan.
2. Masukkan ke dalamnya masing-masing 10 biji terseleksi (kondisi baik)
3. Tutuplah petri beserta kertas pembungkusnya, kemudian tempatkan ke dalam inkubator, suhu lk 35 oC.
4. Amati tiap hari, catat jumlah biji berkecambah. Tambahkan larutan logam berat bila semakin mengering.
5. Setelah 5 hari, buka cawan petri, dan ukur panjang akar dan batang kecambah.

B. Uji fisiologis : Respirasi

1. Masukkan kecambah dengan dibungkus kain kasa secara menggantung ke dalam botol jam yang telah diisi 50 ml lart. 0,5 N KOH.
2. Setelah 24 jam, lakukan titrasi terhadap larutan KOH seperti kegiatan 13

C. Uji aktivitas Enzim Amilase

Alat dan Bahan :

Alat : Cawan porselin, gelas ukur, tabung reaksi, alat pemusing, lempeng penguji (drople plate), pipet dan water bath

Bahan : Kecambah umur 5 hari (dari uji perkecambahan)

Larutan amilum 2,5 %, 200 ml

Larutan IKI, 50 ml

Cara Kerja :

1. Geruslah kecambah (berat tertentu), kemudian larutkan dalam 100 ml akuades
2. Pindahkan ekstrak (gerusan) ke dalam tabung gelas pemusing pada kecepatan sekitar 400 – 1000 rpm.
3. Ambil supernatan (ekstrak). Cairan supernatan ini dianggap konsentrasi 100%.
4. Ambil dengan pipet ukur 5 ml supernatan dan tuangkan ke 2 ml larutan amilum 2,5 % yang telah disiapkan dalam tabung reaksi dan diaduk merata.
5. Ujilah dengan uji Iodine (IKI) setiap 0,5 menit dengan cara :
 - Teteskan beberapa tetes larutan ke lempeng uji
 - Tetesi dengan 1 – 2 tetes iodine
 - Amati perubahan warna yang terjadi
 - Uji pula larutan amilum yang tidak diberi larutan supernatan.
8. Catat reaksi warna setiap kali melakukan uji dan masukkan dalam tabel
9. Buatlah grafik hubungan antara kadar enzim dengan perubahan warna

Tabel : Reaksi warna terhadap uji Iodine

Periode (0,5 mnt ke)	Reaksi warna yang terjadi			
	Supernatan Kecambah Perlakuan A	Supernatan Kecambah Perlakuan B	Supernatan Kecambah Perlakuan C	Supernatan Kecambah kontrol
1				
2				
3				
N				

Pertanyaan Diskusi

1. Bagaimana reaksi warna antara kelompok perlakuan dan kontrolnya ?
2. Pada kelompok manakah terjadi perubahan reaksi warna yang paling cepat ?
3. Apakah peristiwa itu menunjukkan perbedaan laju aktivitas amilase ?
4. Apa kesimpulan yang dapat dinyatakan berdasar hasil pengamatan ini ?

Pengembangan :

1. Dapatkah laju perombakan amilum ini diuji dengan uji Benedict / Fehling ?
Bagaimana uji ini dilakukan ?
2. Bagaimana analisis kuantitatif terhadap gula disakarida secara kuantitatif dapat dilakukan ?

BUKU ACUAN KEGIATAN

- Cleon w. Ross, 1970. *Plant Physiology Laboratory Manual* , Wadsworth Publ.Comp. Inc. California
- Dodds J.H.(ed) 1983. Tissue Culture of Trees. The Avi Publ. Comp. Inc. Connecticut.
- Esau, Khaterine. 1977. *Plant Anatomy of Seed Plants*. John Wiley & Sons. Sydney
- Hall, M.A. (ed). 1976. *Plant Structure, Function and Adaptation*. The English Language Book Socie. and Macmillan
- Joseph Arditti , 1969. Experiment Plant Physiology. Holt Rinehart Winston, Inc. NY.
- Krishnamoorthy, H.N. 1981. *Plant Growth Substances*. TataMcGraw-Hill Publ. New Delhi
- Moeso Suryowinoto. 1990. Pemuliaan Tanaman Secara In Vitro. Petunjuk Laboratorium, Fak. Biologi UGM
- Robert J. and Whitehouse, D.G. 1976. *Practical Plant Physiology*. Longman, London
- Stoker, Stephen and E.B.Walker. 1988. *Fundamentals of Chemistry*. Allyn and
- Thomas C..Moore. 1974 *Research experiences in Plant Physiology : A laboratory Manual. Springer-Verlag Berlin*
- Umaly R.C.; Irene Umboh; Sitti Soetarmi Tj.;Normah M.Noor(eds). 1992 Proceedings of the Symposium on Biotechnology for Forest Tree Improvement. Biotrop Special Publ. Bogor.
- Wetherell, F.D. 1982. Pengantar Propagasi Tanaman Secara In Vitro (Terjemahan : Koensoemardiyah). Avery Pub. Group,Inc. New Jersey.
- Wetter R.L. and F. Constabel. 1982. Metode Kultur Jaringan Tanaman (Terjemahan: Mathilda B. Adianto) Penerbit I