



REPUBLIK INDONESIA
KEMENTERIAN HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA

SERTIFIKAT PATEN SEDERHANA

Menteri Hukum dan Hak Asasi Manusia atas nama Negara Republik Indonesia berdasarkan Undang-Undang Nomor 13 Tahun 2016 tentang Paten, memberikan hak atas Paten Sederhana kepada:

Nama dan Alamat Pemegang Paten

: UNIVERSITAS DIPONEGORO
Jl. Prof. Soedarto, S.H.
Tembalang Semarang 50275
INDONESIA

Untuk Inovasi dengan Judul

: PROSES INDUKSI KALUS TANAMAN TEBU (*Saccharum officinarum* L.) SECARA KULTUR JARINGAN

Inventor

: Frendi Heri Utomo
Dwi Sulastri
Nurul Fadhilah
Florentina Kusmiyati, Ir. MSc

Tanggal Penerimaan

: 15 Juni 2017

Nomor Paten

: IDS000001827

Tanggal Pemberian

: 11 Mei 2018

Perlindungan Paten Sederhana untuk inovasi tersebut diberikan untuk selama 10 tahun dihitung sejak Tanggal Penerimaan (Pasal 23 Undang-Undang Nomor 13 Tahun 2016 tentang Paten).

Sertifikat Paten Sederhana ini dilampiri dengan deskripsi, klaim, abstrak dan gambar (jika ada) dari inovasi yang tidak terpisahkan dari sertifikat ini.



a.n. MENTERI HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA
DIREKTUR JENDERAL KEKAYAAN INTELEKTUAL

Dr. Freddy Harris, S.H., LL.M., ACCS.
NIP. 196611181994031001

Deskripsi

PROSES INDUKSI KALUS TANAMAN TEBU (*Saccharum officinarum* L.) SECARA KULTUR JARINGAN

5 Bidang Teknik Invensi

Invensi ini secara umum berhubungan dengan proses induksi kalus tanaman tebu secara kultur jaringan. Lebih khusus, invensi ini berhubungan dengan proses induksi kalus tanaman tebu (*Saccharum officinarum* L.) yang meliputi tahap pembuatan media kultur jaringan dan pengambilan eksplan.

Latar Belakang Invensi

Kebutuhan gula meningkat sementara produksi gula dalam negeri tidak mengalami peningkatan sehingga mengakibatkan impor gula. Usaha untuk meningkatkan produksi gula dalam negeri, salah satunya adalah dengan memperbesar produksi tebu sebagai bahan utama gula. Perluasan area kebun tebu harus diiringi dengan peningkatan kualitas dari tanaman tebu yang ada. Penyediaan bibit yang unggul merupakan salah satu upaya untuk mendukung peningkatan kualitas dan produktivitas perkebunan tebu. Perluasan tanaman tebu dalam areal yang besar harus didukung oleh ketersediaan bibit yang bermutu tinggi. Kultur jaringan merupakan salah satu solusi sebagai upaya penyediaan bibit tebu unggul karena bibit yang dihasilkan dari kultur jaringan bebas dari penyakit dan memiliki sifat unggul sama seperti induknya.

Penelitian tentang pengambilan eksplan pada kultur jaringan telah dilakukan oleh beberapa ahli. Penggunaan bahan eksplan pada kultur jaringan menggunakan akar, batang, daun dan bagian tanaman lainnya terdaftar nomer paten U2 7229828 B2. Nomor paten Us 20130174483 menjelaskan tentang metode penyediaan benih menggunakan kultur jaringan. Penelitian sebelumnya belum mengkaji terkait umur jaringan eksplan yang

digunakan untuk menginduksi kalus. Inovasi dari penelitian ini adalah mengkaji mengenai proses induksi kalus yang berhubungan dengan tahap pembuatan media kultur jaringan dan pengambilan eksplan

5 Keberhasilan dalam penerapan kultur jaringan ditentukan oleh beberapa faktor, salah satunya adalah bahan eksplan. Eksplan merupakan potongan/bagian jaringan yang diisolasi untuk inisiasi pada kultur jaringan yang selanjutnya ditumbuhkan menjadi kalus. Eksplan sangat menentukan baik
10 atau tidaknya pertumbuhan tanaman melalui kultur jaringan. Umur jaringan yang digunakan sebagai bahan eksplan berpengaruh terhadap pembentukan kalus. Eksplan merupakan tahapan pertama dari kultur jaringan. Eksplan adalah potongan/bagian jaringan yang diisolasi dari tanaman yang
15 digunakan untuk inisiasi suatu kultur in vitro. Bagian tanaman yang baik untuk dijadikan eksplan adalah bagian meristem yang memiliki sel aktif membelah dan juga hormon yang membantu pertumbuhan. Invensi yang diajukan ini adalah induksi kalus tanaman tebu dengan efisiensi tinggi.

20

Uraian Singkat Invensi

Tujuan dari invensi ini adalah mendapatkan kalus tebu (*Saccharum officinarum* L.) dengan efisiensi tinggi. Invensi ini mengenai proses induksi kalus tanaman tebu
25 (*Saccharum officinarum* L.) yang terdiri dari tahapan (a) Sterilisasi alat; (b) Pembuatan dan sterilisasi media, dimana media terdiri dari : Media MS dan asam 2,4 dikloro fenoksi asetat, (c) Pengambilan dan sterilisasi eksplan dimana eksplan diambil dari pucuk tanaman tebu berumur 5 bulan, dan
30 (d) Penanaman eksplan pada media invensi ini.

Uraian Singkat Gambar

Gambar 1 adalah perbandingan foto ukuran kalus pada 6 minggu setelah ditanam/inisiasi yang diambil dari eksplan pada umur tebu yang berbeda : A. 2 bulan. B. 3 bulan. C. 4 bulan. D. 5 Bulan

Uraian Lengkap Invensi

Tujuan dari Invensi ini adalah proses induksi kalus tanaman tebu dengan efisiensi tinggi. Tahapan proses induksi kalus tanaman tebu ini adalah (a) sterilisasi alat, (b) pembuatan dan sterilisasi media kultur jaringan, (c) pengambilan dan sterilisasi eksplan , (d) penanaman eksplan.

a. Sterilisasi alat.

Alat yang akan digunakan untuk kultur jaringan dicuci hingga bersih menggunakan sabun cuci kemudian disterilkan menggunakan autoclaf pada tekanan 15 psi suhu 121° C selama 30 menit hingga steril. Alat yang telah steril diletakkan kedalam ruang kultur. Penyemprotan alkohol dilakukan setiap hari agar ruang kultur tetap steril.

20 b. Pembuatan media kultur jaringan

Pembuatan media diawali dengan membuat larutan stok. Komposisi larutan stok adalah sebagai berikut :

Stok	Jenis	Nama	Takaran	Aquadest	
A	NH ₄ NO ₂	Ammonium nitrate	16,5	500ml	
B	KNO ₃	Potasium nitrate	19	500ml	
C	CaCl ₂ .2H ₂ O	Calsium chloride dehydrate	4,4	100 ml	
D	1	N ₃ BO ₃	Boric acid	0,062	100 ml
	2	KH ₂ PO ₄	Potassium dihydrogen phospate	1,7 g	100 ml
	3	CaCl ₂ PO ₄	Cobalt (II)	0,013	100 ml
	4	Na ₂ MnO ₄ .2H ₂ O	Sodium molybdate	0,025	100 ml

			dihydrate		
	5	KI	Potassium iodide	0,083	100 ml
E	1	MgSO ₄ .7H ₂ O	Magnesium sulfate heptahydrate	3,7 g	100 ml
	2	ZnSO ₄ .7H ₂ O	Zinc sulfate heptahydrate	0,068	100 ml
	3	CuSO ₄ .5H ₂ O	Copper (II)	0,013	100 ml
	4	MnSO ₄ .7H ₂ O	Manganese (II)	0,223	100 ml
F	1	Na ₂ EDTA	Titriplex	0,372	100 ml
	2	FeSO ₄ .7H ₂ O	Besi (II)	0,278	100 ml
G	1	Vitamin	Inositol	0,01 g	100 ml
	2		Thiamin	0,04 g	100 ml
	3		Pyridoxin	0,04 g	100 ml
	4		Biotin	0,02 g	100 ml
H	1	Auksin	2,4-D	0,02 g	50ml

Larutan stok A sampai dengan G adalah media Murashige Skoog (MS). Auksin yang ditambahkan adalah 2,4- asam dikloro penoksi asetat dengan konsentrasi 0,02 gram dalam 50 ml.

5

Pembuatan media MS diawali dengan menimbang sebanyak 30 gram sukrosa. Sukrosa dilarutkan kedalam 400 ml aquades dan distirer hingga larut. Larutan Stok A dan B diambil sebanyak 50 ml, larutas stok C, D, E, F dan G diambil masing-masing 10 ml. Semua larutan tersebut dimasukkan kedalam Erlenmeyer kemudian distirer selama 2 menit. Hormon auksin *2,4-asam dikloro fenoksi asetat* (2,4-D) sebanyak 5 mldimasukaan kedalam campuran media dan distirer selama 5 menit. Setelah auksin larut, kemudian sebanyak 8 gram agar dimasukkan, ditambah aquades hingga 1 liter selanjutnya dimasak pada *magnetic hot plate stirer* hingga mendidih. Setelah mendidih sebanyak 35 botol kultur

10

15

disiapkan dan menuangkan media kedalam 35 botol kultur tersebut setinggi 1 cm dari permukaan botol kultur kemudian ditutup. Media di sterilisasi menggunakan autoklaf pada tekanan 15 psi suhu 121⁰C selama 30 menit. Setelah selesai, ditunggu hingga suhu 20⁰C selama 20 menit kemudian diangkat. Media disimpan pada rak kultur. Penyemprotan alkohol dilakukan setiap hari agar ruang penyimpanan tetap steril

c. Pengambilan eksplan.

10 Eksplan berasal dari pucuk tanaman tebu yang berumur 5 bulan sejak ditanam. Kemudian pucuk dipotong 20 cm dan dikupas hingga pangkal sarung daun. Setelah itu dicuci menggunakan air mengalir hingga bersih dan dikeringkan menggunakan tisu. Pucuk tanaman tebu kemudian dibawa ke 15 ruang *Laminar Air Flow* yang sebelumnya sudah disterilkan dengan sinar UV selama 30 menit. Pucuk tanaman tebu yang sudah dibersihkan dikupas kembali menggunakan pisau kultur hingga ke titik merah. Bahan eksplan dipotong kecil-kecil diambil 10 potongan dari titik merah yang paling ujung.

20 d. Penanaman eksplan

Potongan eksplan ditanam pada media invensi (MS dan 2,4-asam dikloro fenoksi asetat (auksin)) yang sebelumnya disterilisasi dan dikeringkan dari embun yang ada dalam botol dengan cara dipanaskan menggunakan Bunsen. Hal 25 tersebut dimaksudkan untuk mengurangi kontaminasi. Setelah itu eksplant ditanam 1 potong per botol. Botol kultur diletakkan pada ruang gelap dengan suhu 20⁰C.

Hasil Pengamatan :

30 Parameter yang diamati adalah waktu awal pembentukan kalus dan pertumbuhan kalus yang terbentuk yang dilakukan setiap minggu. Pada pengamatan pertumbuhan dilakukan dengan cara sistem skor untuk menilai pertumbuhan dari kalus yang

terbentuk. Nilai skor dari masing-masing kalus didasarkan pada panjang diagonal 1 dan diagonal 2 :

Skor	Panjang diagonal 1 (mm)	Panjang diagonal 2 (mm)
1	0 - 5	0 - 5
2	5 - 8	5 - 8
3	8 - 11	8 - 11
4	11 - 14	11 - 14

5 Proses induksi kalus tercepat dan terbaik pada eksplan yang berasal dari pucuk tanaman tebu yang berumur 5 bulan. Pada minggu ke 1 sudah terlihat proses terbentuknya kalus yang ditandai dengan warna putih yang terbentuk di sekitar eksplan. Pada minggu ke 6, kalus
 10 tebu yang terbentuk memiliki panjang diagonal 1 sebesar 9,6 mm dan panjang diagonal 2 sebesar 11,2 mm dengan skor 3,2. Presentase keberhasilan terbentuknya kalus adalah 100%.

15

20

25

Klaim

1. Proses induksi kalus tanaman tebu (*Saccharum officinarum* L.) yang terdiri dari tahapan :
 - a. Sterilisasi alat;
 - 5 b. Pembuatan dan sterilisasi media, dimana media terdiri dari :
 - + Media MS;
 - + asam 2,4 dikloro fenoksi asetat dengan konsentrasi 0,02 gram dalam 50 ml;
 - 10 c. Pengambilan dan sterilisasi eksplan dimana eksplan diambil dari pucuk tanaman tebu berumur 5 bulan;
 - d. Penanaman eksplan dari tahap (c) yang dibuat pada tahap (b).

15

20

25

30

Abstrak**PROSES INDUKSI KALUS TANAMAN TEBU****5 (*Saccharum officinarum* L.) SECARA KULTUR JARINGAN**

Telah diungkapkan invensi mengenai proses induksi kalus tanaman tebu (*Saccharum officinarum* L.) yang terdiri dari tahapan (a) Sterilisasi alat; (b) Pembuatan dan sterilisasi
10 media, dimana media terdiri dari : Media MS dan asam 2,4 dikloro fenoksi asetat dengan konsentrasi 0,02 gram dalam 50 ml , (c) Pengambilan dan sterilisasi eksplan dimana eksplan diambil dari pucuk tanaman tebu berumur 5 bulan, dan (d) Penanaman eksplan pada media invensi ini. Dengan adanya
15 invensi ini diperoleh proses pertumbuhan kalus tebu dengan efisiensi tinggi. Kalus yang terbentuk kemudian bisa dipecah kembali/ di subkultur sampai beberapa kali sehingga akan terbentuk kalus yang banyak.

20

25

30

