

TOPIK XI. PROTOPLAS

Cobalah pahami isi kuliah dengan topik protoplas dengan mempelajari pertanyaan-pertanyaan yang diberikan.

ISOLASI PROTOPLAS

Dinding sel tanaman berfungsi sebagai penunjang mekanik, pelindung dari kerusakan fisik maupun serangan patogen, dll. Pada tahun 1960 EC Cocking menemukan enzim pendeградasi selulosa sbg. Salah satu komponen dinding sel sehingga diperoleh protoplas. Selanjutnya dengan nutrisi yang sesuai protoplas yang dikultur ternyata mempunyai kemampuan membelah. Selanjutnya pada tahun 1971 protoplas telah berhasil diupayakan untuk mengalami regenerasi planlet. Dari hasil penelitian tersebut maka protoplas mulai digunakan sebagai dasar kajian bioteknologi.

Pertanyaan : Pengaruh keberadaan dinding sel dapat sebagai a)..... b).....dan c)..... Bagaimana sejarah perkembangan protoplas ? Yang pertama kali menggunakan enzim untuk isolasi protoplas adalah.....

Protoplas adalah bagian sel tanaman yang telah dihilangkan dinding selnya baik dengan metode mekanik maupun enzimatik. Tanpa adanya dinding sel sebagai pelindung maka protoplas menjadi sangat fragil terhadap perubahan tekanan osmotik maupun stres mekanik yang lain. Bila protoplas dibebaskan pada lingkungan air dengan osmolaritas rendah protoplas akan pecah karena air banyak masuk ke dalam protoplas. Adanya dinding sel menahan ekspansi protoplas sehingga menimbulkan tekanan turgor. Untuk isolasi protoplas diperlukan cairan dengan osmolaritas sedikit lebih tinggi sehingga dengan adanya pergerakan cairan keluar menyebabkan protoplas sedikit mengkerut, volumenya menurun dan plasmalema terpisah dari dinding sel. Selama proses berikutnya harus dapat mencapai keseimbangan dimana tekanan osmotik di luar sama dengan di dalam sehingga membentuk protoplas yang sferis.

Pertanyaan : Apa yang dimaksud protoplas ? Bagaimana protoplas bisa dihasilkan ? bagaimana tekanan osmotik yang dibutuhkan ? Bagaimana bisa diperoleh bentuk protoplas yang sferikal ?

Pada prinsipnya isolasi protoplas baik secara mekanik maupun enzimatik didahului dengan proses plasmolisis. Prinsip metode mekanik adalah adanya pemotongan bagian dinding sel setelah sel mengalami plasmolisis yang tujuannya adalah untuk memberi jalan bagi 'keluarnya' protoplas. Dengan adanya tekanan turgor dari vakuola sel selanjutnya protoplas akan terdorong 'keluar'. Oleh karena itu metode ini sesuai untuk sel-sel dewasa. Keuntungannya adalah tidak adanya resiko toksik yang disebabkan oleh senyawa kimia. Tetapi metode ini menghasilkan protoplas dalam jumlah sedikit. Isolasi secara enzimatik menggunakan enzim pendeградasi komponen dinding sel. Metode ini dapat menghasilkan sub protoplas, proses plasmolisis konveks maupun konkaf. Walaupun ada pengaruh toksik dari bahan kimia tsb. metode enzimatik yang sesuai untuk sel meristematik ini menghasilkan protoplas dalam jumlah

arutan protoplas murni, debris dan supernatan selama purifikasi atau pemurnian ?

FUSI PROTOPLAS / HIBRIDISASI SOMATIK

Fusi protoplas adalah tujuannya adalah proses ini menunjang program hibridisasi somatik

Ada 2 metode fusi yaitu secara kimiawi dan elektris. Proses yang dimaksud untuk masing-masing metode tersebut adalah Apa kelemahan dan keuntungan masing-masing metode tersebut ? Apa yang dimaksud homokarion ? heterokarion ? sibirid ?

Beberapa hal yang dapat menginduksi fusi adalah

Hasil fusi yang didapatkan adalah fusi biner. Apa fusi biner ? mengapa dianggap lebih baik ?

Permasalahan mendasar yang harus dipahami pada fusi protoplas adalah

Beberapa hal penentu keberhasilan fusi protoplas adalah

Setelah fusi perlu dilakukan seleksi hasil fusi dan uji viabilitas. Apa yang dimaksud dengan hal tersebut ? Mengapa perlu dilakukan ?

KULTUR PROTOPLAS atau KULTUR HASIL FUSI

Viabilitas kondisi kultur yang perlu diperhatikan adalah Mengapa kerapatan protoplas menjadi suatu hal penting dalam kultur ? Bagaimana komposisi medium, kondisi lingkungan serta jenis atau teknik kulturnya ?

Ada beberapa faktor yang mempengaruhi regenerasi protoplas, yaitu respon stres, mekanisme 'perbaikan', dediferensiasi, pembelahan sel, serta morfogenesis. Apa yang dimaksud dengan masing-masing faktor tersebut ?

Bagaimana metabolisme protoplas pada medium kultur ? bagaimana mendeteksi telah terjadi regenerasi dinding sel ?

Teknologi protoplas dapat dimanfaatkan untuk *plant breeding* dan beberapa kajian dasar. Apa yang dimaksud dengan hal tersebut ?

Pustaka yang dianjurkan untuk dibaca :

yang akan lebih baik bila diikuti dengan purifikasi. Metode yang sering dilakukan adalah : HPLC, GC, elektroforesis kertas atau TLC. Karena kultur sel hanya mengakumulasi fraksi dari produk sekunder yang dijumpai di tanaman asalnya maka prosedurnya harus mengalami modifikasi. Kelemahannya, akan mengandung banyak 'kontaminan' dan bila dihasilkan pada sel yang belum berdiferensiasi kemungkinan senyawa tersebut disimpan atau terikat pada bagian lain yang tidak bisa didapat dengan ekstraksi secara konvensional.

.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

Sumber pustaka :

- (1) Bassetti, L. dan J. Tramper. 1995. Use of non-conventional media in *Morinda citrifolia* cell cultures.
- (2) Fu, Tong-jen, 1998. Safety considerations for food ingredients produced by plant cell and tissue culture. <http://pubs.acs.org/hotartcl/chemtech/98/jan/safety.html>
- (3) Linus, H.W., ... 1995. Relation between primary and secondary metabolism in plant cell suspension.
- (4) Luckner, M. 1977. Secondary Metabolism and Cell Differentiation.
- (n) Misawa, M. 1994. Plant Tissue Culture : An Alternative for Production of Useful Metabolite.
- (5) Stafford, A. Natural products and metabolites from plants and plant tissue culture. dalam A. Stafford dan G. Warren 1993. Plant Cell and Tissue Culture.
- (6) Stockigt, J., 1995. Natural products and enzymes from plant cell cultures.