



Universitas Mulawarman

MANUAL PENYIAPAN LARUTAN KIMIA UNTUK PENELITIAN FUNGI MIKORIZA ARBUSKULA

Disusun oleh:
Fitria Dewi Kusuma, M.Si.

Laboratorium Budidaya Hutan
Fakultas Kehutanan
2023

LEMBAR PENGESAHAN

Judul : Manual Penyiapan Larutan Kimia untuk Penelitian Fungi Mikoriza
Arbuskula
Penulis : Fitria Dewi Kusuma, M.Si.
NIP : 198901222022032006

Samarinda, 26 Juni 2023

Menyetujui,

Kepala Laboratorium Budidaya Hutan


Dr. Ir. Syahrudin, M.Sc.
NIP. 196705251992031014

Dosen Pengampu Mata Kuliah


Dr. rer. nat. Harmonis, S.Hut., M.Si.
NIP. 197404121998021001

Mengetahui,
Dekan



Prof. Dr. Rudianto Amirta, S.Hut., M.P.
NIP. 197210251997021001

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Allah SWT atas rahmat-Nya hingga Manual Penyiapan Larutan Kimia untuk Penelitian Fungi Mikoriza Arbuskula (FMA) dapat diselesaikan dengan baik. Manual ini disusun sebagai penuntun bagi mahasiswa dalam menyiapkan larutan kimia untuk penelitian atau praktek di laboratorium.

Penyusunan manual ini diharapkan dapat memudahkan mahasiswa, teknisi, dan peneliti dalam penyiapan bahan kimia dalam penelitian yang berkaitan dengan FMA. Selain itu, dengan adanya manual ini diharapkan dapat meningkatkan kemampuan dan pengetahuan baik secara materi maupun teknis bagi mahasiswa.

Penulis menyadari bahwa manual ini masih jauh dari kata sempurna. Saran dan kritik membangun dari para pihak, sangat penulis harapkan untuk menyempurnakan manual ini.

Samarinda, Juni 2023

Penulis



Outline

1. Pembuatan larutan polyvinil lactoglycerol (PVLG)
2. Pembuatan larutan Melzer
3. Pembuatan larutan KOH 20%
4. Pembuatan larutan HCL 0,1 M
5. Pembuatan larutan laktogliserol
6. Larutan pewarna biru tripan 0,05%
7. Pembuatan larutan *destaining*



Pembuatan Larutan Polyvinil Lactoglyserol (PVLG)

Larutan polyvinyl lactoglyserol (PVLG) digunakan dalam pembuatan preparat kering spora untuk proses identifikasi fungi mikoriza arbuskula (FMA). PVLG memiliki fungsi untuk mengawetkan spora sehingga dapat disimpan dalam waktu relatif lama. Alat yang digunakan dalam pembuatan larutan PVLG adalah timbangan, *water bath*, gelas ukur, gelas beaker, labu ukur, dan botol kaca berwarna gelap. Bahan-bahan yang dibutuhkan untuk pembuatan PVLG yaitu:

No.	Bahan	Kuantitas
1	Polyvinil alcohol	8,33 g
2	Asam laktat	50 mL
3	Gliserin	5 mL
4	Aquades	50 mL



Langkah kerja pembuatan Larutan PVLG

1. Siapkan bahan-bahan sesuai kebutuhan;
2. Masukkan polyvinil alkohol dalam aquades, kemudian larutkan dengan menggunakan *water bath* pada suhu 70 – 80°C;
3. Campurkan larutan polyvinil alkohol dengan asam laktat dan gliserin, kemudian aduk hingga homogen;
4. Masukkan larutan PVLG pada botol kaca berwarna gelap dan beri label (nama larutan dan tanggal pembuatan).





Pembuatan Larutan Melzer

Larutan Melzer merupakan larutan yang digunakan pada proses identifikasi spora FMA. Larutan Melzer digunakan sebagai salah satu indikator dalam menentukan tipe spora FMA. Beberapa spora FMA ada yang bereaksi dengan larutan Melzer dan ada yang tidak. Bereaksi dan tidaknya seluruh atau bagian tertentu spora pada larutan Melzer dijadikan sebagai indikator dalam proses identifikasi spora FMA. Alat yang digunakan dalam pembuatan larutan Melzer adalah timbangan, gelas ukur, gelas beaker, dan botol kaca berwarna gelap. Pembuatan larutan Melzer membutuhkan bahan-bahan sebagai berikut:

No.	Bahan	Kuantitas
1	Iodine	1,5 g
2	<i>Potassium iodine</i> (KI)	5 g
3	Aquades	100 mL



Langkah kerja pembuatan Larutan Melzer

1. Siapkan bahan-bahan sesuai kebutuhan;
2. Haluskan iodine menggunakan *mortar* dan *pestle*;
3. Larutkan iodine yang telah halus dan *potassium iodine* ke dalam aquades, kemudian homogenkan;
4. Campurkan larutan tersebut dengan larutan PVLG dengan perbandingan 1:1 (volume/volume);
5. Simpan larutan pada botol kaca berwarna gelap (nama larutan dan tanggal pembuatan).



Pembuatan Larutan KOH 20%

Fungi Mikoriza Arbuskula merupakan salah satu jamur yang membentuk simbiosis dengan tanaman. Hubungan antara fungi dan tanaman ini saling menguntungkan, fungi mendapatkan karbohidrat dan unsur pertumbuhan lain dari tanaman, sedangkan tanaman dibantu oleh fungi dalam menyerap unsur hara terutama unsur P dan air. Fungi Mikoriza Arbuskula yang menginfeksi (kolonisasi) akar tanaman terdapat hifa yang menembus membrane sel pada akar tanaman dan akan membentuk suatu struktur berupa vesikula dan arbuskula di dalam jaringan akar tanaman. Ada atau tidaknya kolonisasi FMA pada akar tanaman ditandai dengan kehadiran struktur FMA, yaitu arbuskula, hifa, vesikula, spora, dan struktur lainnya. Pengamatan struktur FMA tersebut harus menggunakan bantuan mikroskop. Struktur FMA pada akar akan terlihat apabila senyawa yang mewarnai dinding akar, cairan sitoplasma dan inti sel-sel akar dapat dihilangkan atau dilarutkan. Salah satu senyawa yang dapat menghilangkan warna pada dinding, melarutkan cairan sitoplasma, dan inti sel-sel akar adalah senyawa alkali. Salah satu senyawa alkali yang digunakan adalah KOH.



Pembuatan larutan KOH 20% (bobot/volume) membutuhkan bahan-bahan:

1. 200 g KOH
2. 1.000 mL aquades

Langkah kerja pembuatan Larutan KOH 20%

1. Timbang KOH sebanyak 200 g;
2. Masukkan KOH ke dalam labu ukur berukuran 1.000 mL;
3. Tambahkan aquades sampai tanda garis 1.000 mL;
4. Simpan KOH dalam botol kaca dan beri label (nama larutan dan tanggal pembuatan).



Pembuatan Larutan HCL 0,1 M

Setelah dilakukan proses penghilangan warna pada dinding sel, melarutkan cairan sitoplasma, dan inti sel-sel akar, tahap selanjutnya adalah pewarnaan akar. Penyerapan pewarnaan akar akan lebih mudah jika menggunakan larutan HCL dengan konsentrasi tertentu. Fungsi larutan HCL 0,1 M adalah untuk masuknya larutan biru tripan pada saat pewarnaan akar. Bahan dan alat yang digunakan untuk membuat larutan HCL 0,1 M adalah:

1. HCL pekat
2. Aquades
3. Labu ukur



Cara membuat larutan HCL dengan konsentrasi 0,1 M

Misalkan: akan membuat 500 mL larutan HCL 0,1 M dari HCL 32%

1. Menghitung molaritas larutan HCL 32%

$$\begin{aligned} M &= \frac{\rho \times \% \times 10}{Mr} \\ &= \frac{1,19 \times 32 \times 10}{36,5} \\ &= 10,43 \text{ M} \end{aligned}$$

Keterangan:

M = molaritas larutan HCL

ρ = massa jenis larutan HCL

% = kadar/persen masa HCL

Mr = massa molekul relatif HCL



2. Menghitung kebutuhan HCL 32% (volume) dengan rumus pengenceran
Misalkan akan membuat 500 mL HCL 0,1 M

$$V1 \cdot M1 = V2 \cdot M2$$

$$V1 \cdot 10,43 = 500 \cdot 0,1$$

$$10,43 V1 = 50$$

$$V1 = \frac{50}{10,43} = 4,79 \text{ mL}$$

Keterangan:

V1 = volume larutan sebelum pengenceran

M1 = molaritas larutan sebelum pengenceran

V2 = Volume larutan setelah pengenceran

M2 = molaritas larutan setelah pengenceran

3. Ambil sebanyak 4,79 mL HCL 32% dan masukan kedalam labu berukuran 500 mL;
4. Tambahkan aquades hingga batas 500 mL, kemudian kocok hingga homogen;
5. Simpan larutan dalam botol kaca dan beri label (nama larutan dan tanggal pembuatan).



Pembuatan Larutan Laktogliserol

Larutan laktogliserol digunakan untuk campuran dalam membuat larutan biru tripan. Alat yang digunakan untuk membuat larutan laktogliserol diantaranya adalah gelas ukur dan labu ukur. Bahan yang digunakan untuk membuat 1 liter larutan laktogliserol adalah:

No.	Bahan	Kuantitas
1	Gliserin teknis	400 mL
2	Asam laktat teknis	400 mL
3	Aquades	200 mL



Langkah kerja pembuatan Larutan Laktogliserol

1. Siapkan bahan-bahan sesuai kebutuhan;
2. Masukkan bahan-bahan ke dalam labu ukur, kemudian kocok hingga homogen;
3. Simpan larutan pada botol kaca dan beri label (nama larutan dan tanggal pembuatan).



Pembuatan Larutan Pewarna Biru Tripan 0,05%

Larutan pewarna biru tripan digunakan untuk mewarnai struktur FMA pada jaringan akar. Pembuatan pewarna biru tripan harus menggunakan saring tangan, karena biru tripan bersifat karsinogenik. Alat yang digunakan untuk membuat larutan pewarna biru tripan diantaranya adalah timbangan dan gelas beaker. Bahan yang digunakan untuk membuat larutan pewarna biru tripan 0,05% adalah:

No.	Bahan	Kuantitas
1	Larutan laktogliserol	1 liter
2	Asam laktat teknis	0,5 g



Langkah kerja pembuatan Larutan Pewarna Biru Tripian 0,05%

1. Siapkan bahan-bahan sesuai kebutuhan;
2. Masukkan bahan-bahan ke dalam gelas beaker, kemudian kocok hingga homogen;
3. Simpan larutan pada botol kaca dan beri label (nama larutan dan tanggal pembuatan).



Pembuatan Larutan *Destaining*

Larutan desatining digunakan agar warna akar yang telah direndam biru tripan tidak terlalu pekat (pengurangan warna). Alat yang digunakan dalam pembuatan larutan *destaining* adalah gelas ukur dan gelas beaker. Bahan yang digunakan untuk membuat 500 mL larutan *destaining* adalah:

No.	Bahan	Kuantitas
1	Asam laktat teknis	475 mL
2	Aquades	25 mL



Langkah kerja pembuatan Larutan destaining

1. Siapkan bahan-bahan sesuai kebutuhan;
2. Masukkan bahan-bahan ke dalam gelas beaker, aduk hingga homogen;
3. Simpan larutan pada botol kaca dan beri label (nama larutan dan tanggal pembuatan).



Terima Kasih