

Respons Pembentukan Tunas Aksiler dan Adventif pada Kultur Anthurium secara In Vitro

Winarto, B.

Balai Penelitian Tanaman Hias, Segunung, Jl. Raya Ciherang Pacet, Cianjur 43253
Naskah diterima tanggal 24 Januari 2006 dan disetujui untuk diterbitkan tanggal 24 Juli 2006

ABSTRAK. Perbanyakan bahan tanaman merupakan salah satu masalah penting dalam budidaya anthurium untuk tujuan komersial. Secara konvensional, tanaman ini diperbanyak melalui biji dan anakan, tetapi teknik ini memerlukan waktu dan proses yang lama hingga 3 tahun. Penelitian bertujuan mengetahui respons pembentukan tunas aksiler dan adventif pada kultur anthurium secara in vitro. Penelitian dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan, Balai Penelitian Tanaman Hias dari bulan Juli 2004 hingga Februari 2005. Variasi eksplan, seperti ruas batang kesatu dan kedua digunakan untuk induksi pembentukan tunas aksiler, sementara akar, hipokotil, dan daun muda digunakan untuk induksi tunas adventif. Eksplan-eksplan tersebut dipanen dari beberapa kultivar dan aksesori anthurium. Medium M2, M4, dan modifikasi medium M4 menggunakan 150 ml/l air kelapa, 2,5 mg/l 2,4-D, 2 g/l asam pantotenat, dan 50 ppm cefotaxim diuji dalam penelitian ini. Hasil penelitian menunjukkan bahwa keberhasilan kultur jaringan anthurium dipengaruhi oleh kultivar, jenis, dan kondisi eksplan, dan media tumbuhnya. Tiap eksplan dan kultivar/aksesori memiliki kompatibilitas yang berbeda dengan medium tumbuhnya. Induksi tunas adventif merupakan teknik perbanyakan yang lebih potensial dan sesuai dikembangkan pada anthurium dibandingkan induksi tunas aksiler. M4 merupakan medium dasar yang potensial dan sesuai untuk dikembangkan pada perbanyakan anthurium secara in vitro. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi salah satu bahan pertimbangan dalam mengembangkan dan mengaplikasikan teknik kultur jaringan pada perbanyakan anthurium.

Katakunci: *Anthurium* sp.; Tunas aksiler; Tunas adventif; In vitro.

ABSTRACT. Winarto, B. 2007. **Response of Axillary and Adventitious Shoot Formation of In Vitro Anthurium Culture.** Planting material propagation is one of important problems in anthurium cultivation for commercial purposes. Conventionally, the plant is generally propagated by seed and shoot, however those technique were time consuming. The objective of this experiment was to know response of axillary and adventitious shoot formation of in vitro anthurium culture. The experiment was conducted at Tissue Culture Laboratory, Indonesian Ornamental Crops Research Institute from July 2004 to February 2005. Variation of explant such as first and second node was used for induction of axillary shoot formation, while young root, hypocotyl, and leaf were used for stimulating adventitious shoot regeneration. The explants harvested from several cultivars and accessions of anthurium. Media of M2, M4, and modified-M4 using 150 ml/l coconut water, 2.5 mg/l 2,4-D, 2 g/l pantothenic acid, and 50 ppm cefotaxim were used in this experiment. Results of the study indicated that the success of anthurium tissue culture was affected by cultivars, explant type and condition, and growth medium. Each explant and cultivar had its compatibility to different growth media. Adventitious shoot formation was potential and suitable technique to be developed than axillary shoot proliferation. M4 was the appropriate and suitable basic medium that could be developed for in vitro propagation of anthurium. Results of this research could be expected as one of important consideration points in developing and applying tissue culture technique on anthurium propagation.

Keywords: *Anthurium* sp.; Axillary shoot; Adventive shoot; In vitro.

Anthurium merupakan salah satu tanaman hias yang penting (Teng 1997). Tanaman ini merupakan satu di antara genus Araceae yang paling populer dan bernilai ekonomi tinggi, dengan bunga menarik dan memiliki periode ketahanan segar yang panjang. Tanaman ini terutama digunakan sebagai bunga

potong dan tanaman pot.

Secara konvensional, anthurium diperbanyak dengan biji, tetapi biji-biji tersebut tidak dapat disimpan. Diperlukan waktu yang lama (± 3 tahun) sejak penyerbukan hingga biji masak, untuk perkembangan tanaman hingga tanaman berbunga dan dapat diseleksi. Tanaman hasil seleksi selanjutnya digunakan sebagai tanaman induk baik jantan maupun betina dalam program pemuliaan (Geier 1990, Hamidah *et al.* 1997).

Selain itu biji yang diperoleh dari perbanyakan tanaman juga tidak seragam (Geier 1990).

Kultur jaringan anthurium pertama kali dilaporkan oleh Pierik *et al.* (1974), kemudian diperbaiki oleh peneliti-peneliti lain (Geier 1990) dan sekarang diaplikasikan secara meluas. Teknik tersebut digunakan untuk produksi anthurium secara komersial baik pada media padat maupun cair. Perbanyakan anthurium melalui teknik ini dilaporkan menggunakan berbagai macam

sumber eksplan, seperti daun, petiole, spadik, spathe, biji, tunas lateral, dan ujung tunas (Geier 1990). Seluruh helaian daun dan tunas etiulasi yang dihasilkan dari plantlet secara *in vitro* dari beberapa kultivar juga dapat diregenerasi membentuk tanaman secara utuh (Kuehnle dan Chen 1994). Akar tanaman yang dikoleksi dari tanaman yang sudah tua juga digunakan sebagai sumber eksplan dalam induksi kalus pada *Anthurium andraeanum* L., tetapi tidak ada organogenesis yang dilaporkan (Finnie dan van Staden 1986 dalam Kuehnle dan Sugii 1991).

Beberapa teknik perbanyakkan anthurium yang telah dicoba adalah induksi kalus yang diikuti dengan pembentukan tunas adventif (Pierik *et al.* 1974), induksi tunas aksiler, dan pembentukan biji sintetik (Hamidah *et al.* 1997). Keberhasilan beberapa teknik ini sangat dipengaruhi oleh respons eksplan dan jenis media yang digunakan. Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa perbanyakkan cepat menggunakan eksplan daun melalui induksi tunas adventif belum memberikan hasil yang memuaskan. Tunas adventif diperoleh setelah 6 bulan inkubasi diruang gelap dan hanya sedikit eksplan yang responsif. Induksi tunas aksiler dihadapkan pada masalah terbatasnya bahan tanaman, sedangkan produksi biji sintetik-pun belum pernah diteliti, sehingga teknik perbanyakkan cepat anthurium perlu terus dikembangkan dengan berbagai modifikasi perlakuan guna mendapatkan sistem perbanyakkan cepat yang menghasilkan tanaman yang seragam dalam waktu yang singkat.

Penelitian ini bertujuan mengetahui respons pembentukan tunas aksiler dan adventif pada kultur *in vitro* anthurium. Beberapa eksplan dan media diteliti dalam penelitian ini. Dari penelitian ini diharapkan dapat diperoleh teknik perbanyakkan yang sesuai untuk dikembangkan pada anthurium, terkait dengan jenis eksplan dan medium yang digunakan. Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai salah satu bahan pertimbangan dalam mengembangkan teknik kultur jaringan anthurium.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan, Balai Penelitian Tanaman Hias

Segunung dari bulan Juli 2004 hingga Februari 2005.

Bahan tanaman yang digunakan dalam penelitian ini diambil dari biji-biji yang dikecambahkan secara aseptik, baik pada biji hasil silangan maupun yang menyerbuk sendiri. Biji dipanen setelah buah berwarna kuning dan matang. Biji dibersihkan dari daging biji yang membungkusnya, kemudian direndam dalam larutan 1% HCl untuk menghilangkan selaput biji. Biji selanjutnya disterilisasi dengan larutan Benlate 1% selama 15-30 menit dan dibilas dengan air bersih/suling beberapa kali. Selanjutnya biji disterilisasi dengan 45% alkohol selama 1 menit, 1,5 % klorox selama 10 menit, dan 3% klorox selama 5 menit.

Setelah sterilisasi, biji ditanam dalam MS-0. Setiap botol diisi dengan 5 biji. Kultur biji selanjutnya diinkubasi dalam ruang gelap selama 1,5 bulan kemudian dipindahkan di bawah lampu fluoresen dengan intensitas cahaya 15 $\mu\text{mol}/\text{m}^2$ detik hingga biji tumbuh dan membentuk 2-3 daun baru. Tanaman-tanaman dari biji inilah yang selanjutnya digunakan sebagai sumber bahan penelitian.

Bibit anthurium yang telah siap sebagai materi percobaan selanjutnya dipotong-potong dan dipisahkan sesuai jenis eksplan yang akan digunakan dalam percobaan. Untuk tujuan induksi tunas aksiler eksplan yang digunakan adalah nodus/ruas batang yang pertama dan kedua. Sementara untuk induksi tunas adventif eksplan yang digunakan adalah akar, batang, dan daun yang masih muda.

Induksi Tunas Aksiler

Pada percobaan induksi tunas aksiler, eksplan yang digunakan adalah nodus/ruas batang yang pertama dan kedua. Sedangkan media yang diuji dalam percobaan ini adalah media M2 dan M4 (Tabel 1) serta modifikasinya, yaitu (1) M2, (2) M4, (3) M4 + air kelapa (100 ml/l), (4) M4 + 2,4-D (2,5 mg/l), (5) M4 + air kelapa (100 ml/l) + 2,4-D (2,5 mg/l), (6) M4 + C (50 ppm cefotaxim), (7) M4 + P (2 g/l asam pantotenat) + C (50 ppm cefotaxim), dan (8) M4 + P (2 g/l asam pantotenat).

Pada tahap ini tiap perlakuan terdapat 2-4 botol. Tiap botol berisi 5 nodus eksplan, yang kesemuanya diamati.

Table 1. Medium MS yang telah dimodifikasi dan digunakan dalam penelitian (mg/l) (MS medium modified and used in this experiment) mg/l

Kategori (Komponen)	Mg/l	Mg/l
Mikro elemen (Akselerator)	4	4
Mikro elemen (Akselerator)	100	100
Na-FeEDTA (Akselerator)	100	100
Asam nikotinat (Akselerator)	0,1	0,1
Pindolin-HCl (Akselerator / CI)	0,2	0,2
Thiamin-HCl (Akselerator / CI)	0,2	0,2
Gibberin (Gibberin)	0,1	0,1
Mikroelemen (Akselerator)	100	100
2,4-D	-	0,10
IAA	0,2	-
B ₆ IAA-P	1,0	-
Gibberin	-	0,2
TBI	0,2	0,2
Aur Inokula (Cocokorutan)	100	-
Sulfonil (Sulfonil) g/l	10	10
Gibberin (Gibberin) g/l	10	-
Gibberin (g/l)	1,0	1,0
Inokulum kultur (2,4-D / 2,4-D / 2,4-D / 2,4-D)	1,2-1,0	1,2-1,0
pH	5,2	5,2

Induksi Tunas Adventif

Eksplan yang digunakan dalam percobaan ini adalah (1) daun muda, (2) hipokotil/batang muda, dan (3) ujung akar. Sedangkan media yang diuji sama dengan yang digunakan dalam induksi tunas aksiler. Pada tahap ini tiap perlakuan menggunakan 2-4 botol. Tiap botol berisi 5 eksplan yang kesemuanya diamati.

Induksi Tunas Adventif dari Kalus yang Disubkultur

Eksplan yang digunakan adalah kalus yang dihasilkan/tumbuh dari pangkal batang yang tumbuh karena pengaruh media yang sama. Kalus ini kemudian ditanam pada beberapa media yang sama dengan percobaan sebelumnya. Tiap botol diisi dengan 5 kalus yang ditanam secara terpisah. Tiap perlakuan terdiri dari 3 botol.

Mengingat keterbatasan jumlah eksplan, rancangan percobaan tidak digunakan dalam percobaan ini. Semua hasil pengamatan dicatat dan dihitung. Percobaan diulang sebanyak jumlah eksplan tersedia. Data yang disajikan adalah data rerata pengukuran dan pengamatan.

Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah (1) kalus, (2) persentase pembentukan kalus, (3) jumlah tunas aksiler, (4) jumlah bakal tunas adventif, (5) persentase eksplan yang membentuk tunas adventif, (6) persentase regenerasi,

(7) jumlah tunas adventif, (8) jumlah akar, (9) persentase pembentukan tunas, (10) persentase pembentukan bakal tunas, dan (11) persentase pembentukan akar. Pengamatan dan pengambilan data dilakukan 2,5 bulan setelah penanaman eksplan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Induksi Tunas Aksiler dalam Perbanyakan Anthurium

Hasil percobaan menunjukkan bahwa induksi tunas aksiler menggunakan bahan tanaman hasil pengecambahan biji secara in vitro pada medium M2 dan M4 yang telah dimodifikasi memberikan hasil yang beragam (Tabel 2). Respons pertambahan jumlah tunas aksiler tiap kultivar juga beragam dan jumlahnya sangat sedikit. Pada umumnya tunas yang ditanam terinduksi membentuk kalus pada bagian pangkal batang dan dari kalus ini terbentuk bakal tunas adventif. Tunas aksiler dan bakal tunas dari kalus yang tumbuh pada pangkal batang dapat diamati berkisar antara 55-75 hari setelah kultur. Setiap kultivar memberikan respons yang berbeda terhadap jenis media yang diuji. Medium yang optimal untuk induksi tunas aksiler pada 1 kultivar tidak selalu memberikan hasil yang sama pada kultivar yang lain.

Tabel 2 terlihat bahwa eksplan yang dipanen dari biji kultivar Obake yang dikecambahkan pada berbagai media uji tidak memberikan respons jumlah tunas aksiler yang maksimal. Dari 4 media yang dicoba tiap nodus yang ditanam hanya menghasilkan 1 tunas aksiler artinya tidak ada penggandaan jumlah tunas aksiler. Sementara itu pembentukan kalus pada nodus yang ditanam hanya sedikit hingga moderat dengan persentase bakal tunas yang rendah. Pada kultivar ini medium M4 + AK merupakan media yang paling potensial untuk pengembangan lebih lanjut. Sedang pada eksplan yang dihasilkan dari biji kultivar Lady Jane yang dikecambahkan secara in vitro, respons pembentukan tunas aksiler terbaik ditemukan pada medium M4+AK+2.4-D. Tiap eksplan yang ditanam mampu membentuk 2 tunas aksiler. Hasil yang sama juga terlihat pada pembentukan kalus dan bakal tunas adventif. Pada medium M4+AK+2.4-D, persentase pembentukan kalus mencapai 100% dan bakal tunas

Tabel 2. Pengaruh beberapa media tumbuh dalam induksi tunas aksiler pada beberapa kultivar anthurium (*Effect of growth media in axillary shoot induction on several anthurium cultivars*)

Kultivar Identiikasi	Jumlah eksplan ke per media sawah	Eksplan eksplan ke per eksplan					Eksplan yang membentuk tunas aksiler ke per eksplan sawah
		Callus ke per eksplan	Pembentukan kalus ke per eksplan (persen %)	Jumlah tunas ke per eksplan sawah	Jumlah tunas ke per eksplan sawah	Eksplan yang membentuk tunas aksiler ke per eksplan sawah	
Kultivar Chak (100% sawah)							
M3	3	1-11	100	6	1	33%	
M4	0	-	0	13	-	0	
M4 102	0	1-11	100	13	1	10	
M4 102.1	0	1-11	100	10	-	0	
3,4-0							
Kultivar Lady (100% sawah)							
M4	0	-	0	3	-	0	
M4 17	0	-	0	3	-	0	
M4 102	0	-	0	3	-	0	
M4 102.1	0	11-111	100	13	11	40	
3,4-0							
Kultivar Lani (100% sawah)							
M3	0	-	-	-	-	-	
M4	3	1-11	100	3	1	33%	
M4 102	0	-	-	13	-	0	
M4 102.1	0	11-111	37%	16	111	37%	
3,4-0							
Kultivar Pink (100% sawah)							
M3	0	11-111	100	36	111	47%	
M4	24	1	7%	34	111	3,1	
M4 102	0	1	100	13	-	0	
M4 102.1	0	1	100	14	-	0	
3,4-0							
Kultivar Pink (100% sawah)							
M3	0	-	0	13	-	0	
M4	0	-	0	3	-	0	
M4 10	0	111	100	34	111	70	
M4 10 17	0	1-11	100	14	-	0	
M4 102.1	0	1	33%	3	-	0	
3,4-0							
Kultivar Supreme (100% sawah) + Nishik Chakita							
M3	0	1	100	13	1	11,1	
M4	20	1-11	100	36	-	0	
M4 102	0	1-11	100	16	-	0	
M4 102,40	0	1-11-11	100	63	1-11-111	20,7	
M4 102.1	0	1	7%	16	11	70	
3,4-0							
Kultivar Super (100% sawah) + Chakita							
M4	0	1-11	100	30	11-111	66,7	
M4 17	0	-	0	10	-	0	
M4 102,40	0	-	0	3	-	0	
M4 102.1	0	1-11	100	14	111	33,3	
3,4-0							
Kultivar Lady (100% sawah) + Super + Lady (100% sawah)							
M3	0	1	100	10	-	0	
M4	26	1	39%	16	-	0	
M4 102	20	1-11	30	36	1-11	30	
M4 102,40	0	1-11	100	34	111	3%	

Kalus (*Callus*), - tidak terbentuk kalus (*no callus formation*), +- terbentuk sedikit kalus (*less callus formation*) (1-25% dari total eksplan, *1-25% of total explant*), ++ - agak banyak (*moderate callus formation*) (26-50% dari total eksplan, *26-50% of total explant*), +++ - banyak (*abundant callus formation*) (> 50% dari total eksplan, *more than 50% of total explant*). Jumlah bakal tunas adventif (*Number of initial adventitious shoots*): - tidak ada (*no initial adventitious shoot formed*), + - 1-5 bakal tunas (*1-5 initial adventitious shoot formed*), ++ - 6-10 bakal tunas (*6-10 initial adventitious shoot formed*), +++ - > 10 bakal tunas (*more than 10 initial adventitious shoot formed*)

adventif hingga 40%.

Pada kultivar Laura, semua media yang diuji tidak efektif dalam menginduksi tunas aksiler. Tiap eksplan hanya menghasilkan 1 tunas aksiler. Tetapi pada induksi pembentukan tunas adventif, medium M4 + 2,4-D merupakan medium yang pa-ling potensial untuk menginduksinya dengan persentase regenerasinya mencapai 88%. Hasil yang hampir sama juga terlihat pada *anthurium* jenis yang lain (aksesi Pink, aksesii Putih, kultivar Kaumana x Merah Belanda, kultivar Amigo x Obake, kultivar Lady Jane tipe besar). Pembentukan tunas aksiler tidak memberikan hasil yang optimal. Tiap eksplan hanya menghasilkan 1-2 tunas aksiler saja. Sementara untuk induksi tunas adventif yang di mulai dari pembentukan kalus hingga terbentuk bakal tunas, masing-masing kultivar/aksesii yang diuji memberikan respons yang optimal pada media yang berbeda. Aksesii Pink optimal pada medium M2, aksesii Putih pada medium M4+C, Kaumana x Merah Belanda pada medium M4+2,4-D, Amigo dan Obake pada medium M4 dan kultivar Lady Jane (tipe besar) pada medium M4+2,4-D.

Pada studi induksi pembentukan tunas aksiler terlihat bahwa semua kultivar/aksesii dan media yang diujicoba tidak memberikan hasil yang optimal. Respons pembentukan tunas aksiler yang rendah mungkin terjadi akibat belum optimalnya komposisi media yang diuji untuk induksi tunas aksiler karena menurut Kunisaki (1980) dengan $\frac{3}{4}$ kekuatan medium MS yang mengandung 15% air kelapa dan 2% sukrosa mampu menginduksi pembentukan tunas aksiler 5-10 per eksplan. Ketidakmaksimalan media uji juga ditandai dengan adanya pembentukan kalus pada pangkal batang yang ditanam pada semua kultivar/aksesii yang diuji hingga pembentukan bakal tunas adventif. Rendahnya pembentukan tunas aksiler ini juga mendukung pendapat Geier (1990) yang menyatakan bahwa induksi tunas aksiler dan penggandaannya dalam perbanyakan *anthurium* sangat dimungkinkan tetapi umumnya memberikan hasil yang minimal.

Induksi tunas aksiler yang seharusnya menghasilkan beberapa tunas aksiler dengan sedikit kalus (Geier 1990), namun umumnya pada penelitian ini justru menginduksi terbentuknya kalus dan bakal tunas adventif. Fenomena ini diduga

terjadi akibat perubahan rasio sitokinin dan auksin yang ada didalam eksplan. Perubahan tersebut terutama disebabkan oleh dampak pembuangan tunas terminal yang diketahui berpengaruh terhadap hilangnya pengaruh dominasi pertumbuhan apikal, menstimulasi pertumbuhan dan pembelahan tunas aksiler, serta menurunkan kandungan auksin endogenus (Petridou dan Bangerth 1997). Hilangnya pengaruh dominasi pertumbuhan apikal pada eksplan *anthurium* yang diharapkan dapat menginduksi pembentukan dan pembelahan tunas aksiler ternyata tidak banyak berpengaruh pada kultur nodus *anthurium*. Diduga pengaruh absorpsi hormon eksogenus baik sitokinin (BA, kinetin, TDZ, dan air kelapa) maupun auksin (2,4-D dan NAA) yang ada dalam media uji justru berpengaruh banyak pada terbentuknya kalus.

Rasio sitokinin dan auksin yang lebih tinggi yang berada pada pangkal eksplan yang dikultur akan menyebabkan aktivitas pembelahan sel berlangsung lebih cepat sehingga terbentuk kalus (George dan Sherrington 1984, George 1993). Sel-sel parenkim pada batang yang memiliki kemampuan regenerasi yang tinggi (van Alvorst *et al.* 1992, Lin *et al.* 2000) pada mulanya akan mengalami deferensiasi. Sel-sel selanjutnya secara bertahap menebal dan jumlah lapisan selnya pun meningkat akibat pembelahan sel. Sel-sel ini terus membelah ke semua arah (Chevreu *et al.* 1997), sel-sel menjadi pendek, membulat dan bersifat meristematik. Sel-sel meristematik ini akan terus membelah dan bertumbuh membentuk kalus pada ukuran yang lebih besar dan makin besar. Selanjutnya sel-sel meristematik dalam kalus akan membentuk meristem apikal (Broertjes dan Keen 1980). Meristem apikal inilah yang selanjutnya akan tumbuh dan membentuk bakal tunas adventif (van Altvorst *et al.* 1992). Pembentukan kalus yang lebih cepat akibat akumulasi hormon di pangkal batang inilah yang diduga berpengaruh besar terhadap rendahnya pembentukan tunas aksiler pada induksi tunas aksiler.

Induksi Tunas Adventif dalam Perbanyakan Anthurium

Hasil percobaan dan kondisi yang sama juga ditemukan pada induksi tunas adventif (Tabel 3). Setiap eksplan dari masing-masing kultivar/aksesii yang ditanam dalam media uji memberikan respons yang berbeda. Pembentukan tunas adventif dapat diamati setelah 50-70 hari setelah

Tabel 3. Pengaruh beberapa media tumbuh dalam induksi tunas adventif pada berbagai kultivar anthurium (*Effect of growth media in adventitiously shoot induction on several anthurium cultivars*)

Media tumbuh (Growth media)	Jumlah tunas (Number of shoots)	Dates (Date)	Persentase pembentukan tunas (Percentage of shoot formation)	JT (Number of shoots)	JBT (Number of initial shoot)
Salvia (Salvia) (Pembentuk tunas) + Dapt. old (Hormone)					
N3	22	1-11	100	8	25,91
N3 1 & 2	12	1	100	2**	16,67
N4 1 & 2	26	1-11	100	2	7,7
N4 1 & 2	26	1-11	100	8	30,8
N4 1 & 2 17	14	1-11	100	110*	78,6
N4 1 & 2 12 + 0	18	1-11	100	.	.
Salvia (Salvia) (Pembentuk tunas) + Salvia (Salvia)					
N4	48	1-11	100	4	8,3
N4 12 + 0	12	.	.	110*	91,7
N4 1 & 2 12 + 0	14	.	.	4**	28,6
Salvia (Salvia) (Pembentuk tunas) + Salvia (Salvia)					
N4	12	1-11	100	.	.
N4 17	18	1	100	1**	5,6
N4 1 & 2	12	1-11	100	.	.
Salvia (Salvia) (Pembentuk tunas) + Salvia (Salvia)					
N3	24	1-11	100	.	.
N4	28	1-11	100	.	.
N4 1 & 2	16	1-11	100	1**	6,3
Gladiolus (Gladiolus) (Pembentuk tunas) + Salvia (Salvia)					
N4 1 & 2	14	1-11	100	110*	78,6
N4 1 & 2 17	12	1-11	100	110*	91,7
Gladiolus (Gladiolus) (Pembentuk tunas) + Salvia (Salvia)					
N4 1 & 2	18	1-11	100	2**	11,1
N4 1 & 2 17	2	1-11	100	.	.
Gladiolus (Gladiolus) (Pembentuk tunas) + Dapt. old (Hormone)					
N3	18	1-11	100	110**	61,1
N4	2	1	100	.	.
N4 1 & 2	16	11	100	2	12,5
N4 1 & 2	16	11	100	1**	6,3
N4 12 + 0	16	1	100	8**	50,0
N4 1 & 2 12 + 0	26	1-11	100	.	.
N4 1 & 2 17	16	1-11	100	.	.
Salvia (Salvia) (Pembentuk tunas) + Dapt. old (Hormone) + Salvia (Salvia)					
N3	18	11	100	110*	61,1
N4 1 & 2 12 + 0	18	1-11	100	110*	61,1
Salvia (Salvia) (Pembentuk tunas) + Dapt. old (Hormone) + Salvia (Salvia)					
N3	18	1-11-111	100	110*	61,1
N4 17	18	11	100	2**	11,1
N4 1 & 2 12 + 0	28	1-11	100	110*	61,1
N4 1 & 2 17	28	1-11	100	.	.
Salvia (Salvia) (Pembentuk tunas) + Dapt. old (Hormone) + Salvia (Salvia)					
N4	26	11	100	.	.
N4 17	18	1-11	100	.	.
Salvia (Salvia) (Pembentuk tunas) + Salvia (Salvia)					
N4	18	1-11	100	2	11,1
N4 1 & 2	2	1-11	100	110*	61,1
N4 1 & 2	2	1-11	100	2**	11,1
N4 1 & 2	2	1-11	100	110*	61,1
N4 1 & 2	2	1-11	100	4**	22,2

JT – jumlah tunas (*number of shoots*), JBT – jumlah bakal tunas (*number of initial shoot*), JA – jumlah akar (*Number of root*), PPT – Persentase pembentukan tunas (*Percentage of shoot formation, %*), PPBT – Persentase pembentukan bakal tunas (*Percentage of initial shoot formation, %*), PPA – Persentase pembentukan akar (*Percentage of root formation, %*)

kultur. Tiap kultivar memiliki medium optimal masing-masing dan tingkat kesesuaian eksplan dan medium pada penelitian ini ditunjukkan oleh tingginya persentase regenerasi, kalus yang terbentuk, jumlah tunas/bakal tunas per eksplan dan jumlah akar per eksplan.

Pada kultivar Obake, eksplan hipokotil membentuk tunas adventif, bakal tunas, dan akar optimal pada media M2 dan M4+C, sedangkan pada eksplan akar medium M4 tanpa modifikasi merupakan medium yang paling sesuai. Pada kultivar Lady Jane, baik kecil maupun besar hanya terdapat pembentukan kalus sedikit hingga agak banyak pada semua eksplan yang diuji. Sedikit pembentukan bakal tunas terlihat pada medium M4 pada eksplan daun dan M4+AK pada eksplan akar.

Pada aksesori Putih, media M4+C, dan M4+C+P mampu menstimulasi pembentukan kalus dan bakal tunas secara maksimal, baik pada eksplan daun maupun akar. Pada aksesori Putih Belanda, medium M2 dan M4 + AK merupakan media yang paling sesuai untuk induksi tunas adventif. Pada hasil persilangan Kaumana x Merah Belanda, medium M2 dan M4 + AK + 2,4-D merupakan media yang paling sesuai dan potensial dikembangkan pada penelitian lebih lanjut. Media ini menginduksi pembentukan kalus dan bakal tunas lebih potensial dibanding yang lain pada eksplan daun dan akar. Sementara eksplan daun hasil persilangan Amigo dan Obake kurang responsif. Eksplan ini hanya membentuk kalus saja. Sedangkan pada eksplan daun dari *A. xandreachii* penggunaan medium M4 dan M4+AK mampu menstimulasi pembentukan kalus yang banyak, beberapa tunas adventif, bakal tunas, dan akar.

Dari hasil penelitian induksi tunas adventif terlihat bahwa sebagian besar eksplan dan media yang diuji memberikan respons yang positif dalam membentuk tunas adventif, meskipun terdapat keragaman yang nyata pada tiap eksplan tiap kultivar/aksesori dengan media ujinya. Berdasarkan hasil penelitian ini terlihat bahwa perbanyakkan *anthurium* melalui induksi tunas adventif merupakan teknik perbanyakkan yang potensial untuk dikembangkan lebih lanjut. Perbanyakkan diawali dengan diferensiasi, pembentukan sel-sel meristematis, pembentukan, dan pertumbuhan kalus hingga pembentukan tunas adventif (Pierik *et al.*

1974), baik pada eksplan akar, hipokotil maupun daun. Keberhasilan teknik ini dipengaruhi oleh respons kultivar (genotip), jenis eksplan dan media yang digunakan (Larkin dan Scowcroft 1981, Geier 1990, Hamidah *et al.* 1997).

Tabel 3 terlihat bahwa perbedaan kultivar/aksesori *anthurium* memiliki pengaruh yang besar terhadap keberhasilan kultur jaringan, bahkan menurut Pierik (1975) genotip ini merupakan salah satu faktor yang kritis dalam kultur jaringan *anthurium*. Hasil penelitian lain juga menunjukkan bahwa pembentukan kalus pada 38 genotip memberikan respons yang beragam, dari yang tidak membentuk kalus hingga yang menghasilkan kalus dalam jumlah banyak. Respons yang sama juga dilaporkan oleh Leffring dan Hoogstrate (1977), Leffring dan Soede (1978) dalam Geier (1990), hingga pada akhirnya mereka mengambil kesimpulan bahwa pertumbuhan kalus sangat lambat dan tidak konsisten. Kondisi ini juga diduga kuat menyebabkan terjadinya perbedaan respons pembentukan kalus, bakal tunas, dan akar pada beberapa kultivar *anthurium* yang diuji dalam percobaan ini.

Jenis eksplan yang digunakan juga berpengaruh besar terhadap keberhasilan kultur jaringan *anthurium*. Geier (1990) menyatakan bahwa pemilihan eksplan dalam kultur jaringan *anthurium* berperan penting dalam menunjang keberhasilan. Pemilihan eksplan ini berkaitan erat dengan kemampuan regenerasi (Teng 1997) juga tujuan yang ingin dicapai (Chen *et al.* 1997). Regenerasi plantlet dapat diperoleh dengan mengkultur bagian-bagian dari tanaman, seperti lembaran daun, petiole, tangkai bunga, spathe, dan spadik (Geier 1990), pemanfaatan akar pun telah digunakan pada perbanyakkan tanaman ini (Chen *et al.* 1997), sedangkan pada percobaan ini penggunaan hipokotil memiliki respons terbaik dalam membentuk kalus dan bakal tunas. Pada percobaan ini penggunaan daun muda, hipokotil, dan ujung akar memiliki kemampuan regenerasi yang sebanding dengan beberapa kultivar yang berbeda. Kemampuan regenerasi sebanding ini terlihat pada eksplan daun *A. andreanum* dengan hipokotil dari kultivar Obake dengan akar dari kultivar Obake dengan akar dari hasil silangan Kaumana dan Merah Belanda.

Ukuran dan kondisi eksplan yang ditanam

juga berpengaruh terhadap perbanyakan anthurium secara *in vitro*. Hal ini juga dilaporkan oleh Geier (1990), Teng (1997), dan Hamidah *et al.* (1997). Geier (1990) yang menyatakan bahwa daun yang masih muda dan ukurannya hingga $\frac{1}{2}$ bagian dari lembaran daun dari bagian pangkal daun memiliki kemampuan regenerasi yang lebih tinggi dibanding eksplan yang lain. Sedang Teng (1997) menggunakan daun muda yang belum membuka dan memanjang, dipotong dengan ukuran 2-3 cm untuk mendapatkan hasil yang terbaik. Pada percobaan ini $\frac{1}{2}$ bagian eksplan daun muda, 0,5 cm hipokotil, dan ujung akar mungkin belum optimal, tapi mampu menunjukkan kemampuan regenerasi yang tinggi, sehingga ukuran eksplan yang tepat masih perlu dipelajari lebih lanjut.

Media yang digunakan dalam penelitian ini juga menunjukkan pengaruh yang berbeda terhadap kemampuan regenerasi eksplan. Seperti peneliti sebelumnya (Pierik *et al.* 1975 dalam Geier 1990) pada penelitian ini modifikasi MS juga telah dilakukan untuk mendapatkan kemampuan regenerasi yang optimal. Pada percobaan ini reduksi hara makro menjadi $\frac{1}{2}$ bagian dan menggantikan NH_4NO_3 dengan $(\text{NH}_4)\text{SO}_4$, menurunkan konsentrasi asam nikotin dari 0,5 ke 0,3 mg/l, dan piridoxin HCl dari 0,5 ke 0,4 mg/l, kemudian menaikkan konsentrasi thiamin HCl dari 0,1 ke 0,5 mg/l merupakan modifikasi yang paling sesuai untuk regenerasi eksplan anthurium. Hamidah *et al.* (1997) juga memodifikasi medium MS dengan reduksi hara makro menjadi $\frac{1}{2}$ konsentrasi, meningkatkan konsentrasi sukrosa menjadi 6%, dan modifikasi komponen vitamin untuk mendapatkan respons regenerasi yang tinggi eksplan daun dari *A. scherzerianum* Schott. Sedangkan Kuehnle dan Sugii (1991) memodifikasi medium Pierik dengan mengganti sukrosa dengan glukosa sebagai sumber carbon dan *gelrite* dengan bacto agar untuk mendapatkan respons yang bagus pada eksplan yang diambil dari anthurium Hawaii.

Selain komponen dasar medium, hormon pertumbuhan, dan bahan pelengkap lain ditambahkan untuk mendapatkan kemampuan terbaik medium dalam menstimulasi regenerasi eksplan. Hamidah *et al.* (1997) meningkatkan konsentrasi 2,4-D dari $6,75\mu\text{M}$ menjadi $18\mu\text{M}$ untuk induksi kalus dan

mengganti 2,4-D dengan kinetin untuk mendukung pemasakan biji sintetis. Kuehnle dan Sugii (1991) menggunakan kombinasi $0,36\mu\text{M}$ 2,4-D dan $4,4\mu\text{M}$ BA pada modifikasi medium Pierik. Sedang pada percobaan ini penambahan air kelapa/cefotaxim/pantotenat pada media M4 dan meningkatkan konsentrasi 2,4 D dari 0,1 menjadi 2,5 mg/l mampu menstimulasi regenerasi eksplan secara optimal pada beberapa kultivar anthurium yang digunakan.

Secara keseluruhan dari hasil penelitian ini menunjukkan bahwa respons pembentukan tunas aksiler dan adventif dipengaruhi oleh beberapa faktor. Perbedaan kultivar (genotip), jenis eksplan, ukuran dan kondisinya, serta media tumbuh berpengaruh besar terhadap regenerasi eksplan anthurium. Pembentukan tunas adventif dalam penelitian ini memberikan hasil yang maksimal dibanding induksi pembentukan tunas. Pembentukan tunas adventif umumnya terjadi melalui pembentukan kalus terlebih dahulu (*indirect organogenesis*). Setelah kalus mencapai ukuran tertentu, stimulasi pembentukan tunas adventif terjadi. Hasil penelitian ini juga mendukung hasil penelitian sebelumnya.

KESIMPULAN

1. Keberhasilan kultur jaringan anthurium dipengaruhi oleh jenis kultivar/aksesi, jenis, ukuran dan kondisi eksplan, serta media tumbuhnya. Kultivar Laura, membentuk kalus optimum dengan jumlah tunas adventif yang tinggi (+++ dan 87,5%) pada medium M4 + 2,4-D, sementara aksesori Pink pada medium M2.
2. Tiap eksplan dan kultivar/aksesi memiliki kompatibilitas yang berbeda dengan medium tumbuhnya. Eksplan daun *A. xandreachii*, menghasilkan tunas adventif optimal pada medium M4, sementara eksplan daun kultivar Kaumana pada medium M2.
3. Induksi tunas adventif merupakan teknik perbanyakan yang lebih potensial dan sesuai dikembangkan pada anthurium dibandingkan induksi tunas aksiler.

4. M4 dan modifikasinya potensial dan sesuai untuk dikembangkan pada perbanyak anthurium secara in vitro, khususnya pada induksi tunas adventif.

UCAPAN TERIMA KASIH

Pelaksana kegiatan penelitian ini mengucapkan banyak terima kasih kepada Sdr/i. Nina Marlina, Euis Rohayati, Dedi Rusnandi, dan Supenti yang telah turut membantu proses penelitian dari sejak persiapan, pelaksanaan, dan pengambilan data.

PUSTAKA

1. Broertjes, C. and A. Keen. 1980. Adventitious Shoots: Do they Develop from One Cell. *Euphytica*. 29:73-87.
2. Chen, F.C., A.R. Kuehnle and N. Sugii. 1997. *Anthurium* Roots for Micropropagation and *Agrobacterium tumefaciens* Mediated Gene Transfer. *Plant Cell, Tissue and Organ Cult.* 49:71-74.
3. Chevreau, E., F. Mourgues, M. Neveu, and M. Chevalier. 1997. Effect of Gelling Agents and Antibiotics on Adventitious Bud Regeneration From *In Vitro* Leaves of Pear. *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant* 33:173-179.
4. Geier, T. 1990. *Anthurium*. In: Ammirato, P.V., D.A. Evans, W.R. Sharp and Y.P.S. Bajaj. (Eds.) *Handbook of Plant Cell Culture, Ornamental Species*, McGraw-Hill, New York. 5:228-252.
5. George, E.F. and P.D. Sherrington. 1984. *Plant Propagation by Tissue Culture*. Exegetics Limited, England. 709p.
6. _____. 1993. *Plant Propagation by Tissue Culture: The Technology*. 2nd Edition. Exegetics Limited. England. 574p.
7. Hamidah, M., A.G.A. Karim, and P.C. Debergh. 1997. Somatic Embryogenesis and Plant Regeneration in *Anthurium scherzerianum*. *Plant Cell, Tissue and Organ Cult.* 49:23-27.
8. Kuehnle, A.R. and N. Sugii. 1991. Callus Induction and Plantlet Regeneration in Tissue Cultures of Hawaiian Anthuriums. *Hortsci*. 26(7):919-921.
9. _____ and F.C. Chen. 1994. *Agrobacterium*-mediated Transformation of *Anthurium* In: Bajaj, Y.P.S. (Eds.) *Biotechnology in Agriculture and Forestry, Plant Protoplasts and Genetic Engineering V*. Springer Verlag, Berlin. 2:215-225 .
10. Kunisaki, J.T. 1980. *In Vitro* Propagation of *Anthurium andreanum* Lind. *Hortsci*. 26:1325-1328.
11. Larkin, P.J and W.R. Scowcroft. 1981. Somaclonal Variation: A Novel Source of Variability from Cell Cultures for Plant Improvement. *Theor. Appl. Genet.* 60:197-214.
12. Lin, H.S., M. de Jeu, and E. Jacobsen. 2000. The Application of Leafy Explant Micropropagation Protocol in Enhancing the Multiplication Efficiency of *Alstroemeria*. *Sci. Hort.* 85:307-318.
13. Petridou, M.A.K. and F. Bangerth. 1997. Effect of Changing the Endogenous Concentration of Auxins and Cytokinins and the Production of Ethylene in Pea Stem Cuttings on Adventitious Root Formation. *Plant Growth Regul.* 22:101-108.
14. Pierik, R.L.M., H.H.M. Stoegmans, and J.A.J. van Der Mays. 1974. Plantlet Formation in Callus Tissues of *Anthurium andreanum* Lind. *Sci. Hort.* 2:193-198.
15. _____. 1975. Callus multiplication of *Anthurium andreanum* Lind. In *Liquid Media*. *Neth. J. Agric. Sci.* 23:299-302.
16. Teng, W.L. 1997. Regeneration of *Anthurium* Adventitious Shoots Using Liquid or Raft Culture. *Plant Cell, Tissue and Organ Cult.* 49:153-156.
17. van Altvorst, A.C., H.J.J. Koehorst, T. Bruinsma, J. Jansen, J.B.M. Custers, J. de Jong, and J.J.M. Dons. 1992. Adventitious Shoot Formation from *In Vitro* Leaf Explants of Carnation (*Dianthus caryophyllus* L.). *Sci. Hort.* 51:223-235.