

INDUKSI KERAGAMAN SOMAKLONAL TANAMAN KANTONG SEMAR (*Nepenthes mirabilis*) DENGAN MUTAGEN KIMIA KOLKISIN SECARA *IN VITRO*

Fitri Damayanti¹, Ika Roostika², Samsurianto³

¹ Program Studi Pendidikan Biologi F. PMIPA Universitas Indraprasta,
Jalan Nangka No. 58 Jagakarsa, Jakarta Selatan

² Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian,
Jalan Tentara Pelajar 3A Bogor 16111

³ Jurusan Biologi FMIPA Universitas Mulawarman, Jalan Barong Tongkok Samarinda
email: fitri_damai@yahoo.com

ABSTRAK

Nepenthes merupakan salah satu tanaman yang berada pada tingkat erosi genetik yang tinggi akibat dari penjarahan hutan dan eksploitasi yang berlebihan tanpa diikuti upaya peremajaan. Konsekuensinya, keragaman tanaman ini menjadi sempit seiring dengan punahnya spesies tertentu dari waktu ke waktu. Perbaikan tanaman secara *in vitro* dapat dilakukan antara lain melalui keragaman somaklonal yang dapat memberikan peluang baru untuk pengembangan bibit yang berguna dalam menunjang program pemuliaan tanaman. Keragaman somaklonal dapat ditingkatkan dengan pemberian mutagen kimia (kolkisin) atau mutagen fisika (radiasi sinar gamma). Eksplan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tunas *in vitro* dari *N. mirabilis*. Mutagen yang digunakan adalah mutagen kimia kolkisin (0, 0.05, 0.075, dan 0.1%) dengan lama perendaman tiga hari. Induksi keragaman somaklonal dengan menggunakan kolkisin terbukti dapat meningkatkan keragaman genetik pada tanaman *Nepenthes* dan kultur lebih mudah beregenerasi. Keragaman somaklonal yang dihasilkan terlihat dari penampilan morfologi dan karakter sitologi. Pada beberapa perlakuan mutasi dihasilkan tanaman varigata/khimera, seperti: daun belang (setrip putih dan hijau), daun dengan ukurannya yang sempit, daun dengan bentuk memanjang, daun dengan ukuran kecil, warna daun lebih gelap, ukuran kantong yang lebih besar diikuti dengan peningkatan ukuran stomata dan jumlah kloroplas. Perlakuan kolkisin 0.05% dapat menginduksi embriogenesis somatik yang sangat potensial dalam perbaikan sifat tanaman.

Kata Kunci: *Nepenthes mirabilis*, keragaman somaklonal, kolkisin.

PENDAHULUAN

Tanaman *Nepenthes* memiliki daya tarik estetika dalam penampilannya, yaitu memiliki bentuk, ukuran, dan corak warna kantong yang menarik sehingga tanaman ini mempunyai potensi yang baik untuk dikembangkan. Permintaan masyarakat terhadap tanaman hias *Nepenthes* semakin meningkat sejalan dengan meningkatnya taraf hidup dan minat akan keunikan. Selera konsumen secara umum lebih tertarik pada jenis-jenis baru yang langka, mempunyai kantong dengan warna, bentuk, dan ukuran yang unik dan lebih beragam. Namun demikian, selama ini tanaman *Nepenthes* yang diperjualbelikan adalah hasil eksploitasi dari hutan-hutan tanpa adanya upaya pembudidayaan. Konsekuensinya, tanaman ini menjadi salah satu tanaman yang termasuk dalam kategori langka dengan tingkat erosi genetik yang tinggi.

Keragaman genetik yang tinggi merupakan salah satu faktor utama dalam upaya pemuliaan atau perbaikan sifat tanaman. Varietas-varietas baru yang lebih indah dan menarik dapat diperoleh dengan mendatangkan jenis atau varietas dari luar negeri tetapi memerlukan waktu adaptasi dan seleksi yang relatif lama serta umumnya lebih rentan terhadap hama dan penyakit setempat. Selain itu, persilangannya dengan varietas lokal seringkali tidak efisien karena adanya kendala inkompatibilitas seksual.

Salah satu teknologi yang dapat digunakan untuk mengatasi permasalahan tersebut adalah teknik kultur *in vitro*. Perbaikan tanaman secara *in vitro* dilakukan antara lain melalui keragaman somaklonal (Duncan and Widholm, 1990; Van den Bulk, 1991) Keragaman somaklonal dapat dilakukan dengan menggunakan mutagen fisika seperti sinar gamma kimia (Sangsiri *et al.*, 2005; Puchooa, 2005; Cheng *et al.*, 2010; Damayanti dkk. 2011) atau mutagen kimia seperti: EMS dan kolkisin (Seneviratne *et al.*, 2002; Damayanti dan Mariska, 2003; Mujib, 2005; Jadrna *et al.*, 2010). Kolkisin adalah jenis mutagen kimia umum yang digunakan untuk meningkatkan keragaman genetik. Telah banyak dilaporkan keberhasilan kolkisin dalam menghasilkan mutan.

Setiap jenis atau varietas tanaman memiliki daya ketahanan yang berbeda terhadap konsentrasi kolkisin yang diberikan sehingga suatu metode yang berhasil diterapkan pada suatu jenis atau varietas tanaman tidak langsung dapat diterapkan pada jenis atau varietas lainnya. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian untuk mendapatkan metode yang efektif untuk menghasilkan keragaman somaklonal yang tinggi. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan dosis mutagen kimia kolkisin yang efektif meningkatkan keragaman somaklonal sehingga dapat dihasilkan mutan-mutan yang menarik.

Hasil penelitian ini diharapkan berdampak luas bagi pengembangan komoditi *Nepenthes* secara komersial dan peningkatan pendapatan petani tanaman hias. Selain itu, juga akan memberi dampak pada peningkatan keragaman genetik (plasma nutfah) sebagai sumber gen dalam program pemuliaan tanaman dan sekaligus secara tidak langsung akan berdampak positif pada upaya pelestarian tanaman *Nepenthes* secara kultur *in vitro*.

BAHAN DAN METODE

Spesies *Nepenthes* yang digunakan dalam penelitian ini adalah *N. mirabilis*. Tahapan kegiatan penelitian ini adalah induksi mutasi eksplan secara kimia, *recovery* dan regenerasi biakan pasca mutasi serta pengamatan sitologi pada biakan hasil mutasi.

1. Induksi Mutasi secara Kimia

Eksplan yang digunakan pada tahap ini adalah tunas *in vitro* dari *N. mirabilis*. Taraf kolkisin yang digunakan yaitu 0, 0.05, 0.075, dan 0.1% dengan lamanya perendaman tiga hari masing-masing dengan lima ulangan. Setelah perlakuan kolkisin eksplan dipindahkan dalam media regenerasi yaitu media dasar Murashige and Skoog dengan pengenceran empat kali. Peubah yang diamati adalah persentase hidup biakan, jumlah dan tinggi tunas, jumlah daun, jumlah kantong, dan penampakan biakan secara visual.

2. Recovery dan Regenerasi Biakan Pasca-Mutasi

Pada tahap ini, biakan yang pulih setelah perlakuan mutasi disubkultur secara rutin minimal setiap satu bulan untuk memacu kecepatan tumbuhnya. Media multiplikasi yang digunakan adalah media dasar Murashige and Skoog dengan pengenceran empat kali yang diperkaya dengan Polyvinilpyrrolidone (PVP) 100 mg/l. Biakan diinkubasi pada ruang kultur dengan intensitas cahaya 800-1000 lux selama 16 jam dan bersuhu ruang 25°C. Peubah yang diamati adalah jumlah dan tinggi tunas, jumlah daun, jumlah kantong, ada tidaknya kalus yang terbentuk, dan penampakan biakan secara visual.

3. Pengamatan Sitologi

Pengamatan sitologi dilakukan dengan mengamati stomata pada permukaan atas dan bawah daun dengan membuat sediaan mikroskopis berupa sayatan membujur (paradermal). Pembuatan sayatan paradermal menggunakan metode utuh (*whole mount*) yang diwarnai dengan safranin 1% (Sass, 1951). Karakter anatomi daun yang diamati adalah kerapatan stomata, panjang dan lebar sel penjaga stomata, indeks stomata, dan jumlah kloroplas pada sel penjaga. Data kerapatan stomata dan ukuran stomata yang diperoleh merupakan nilai rata-rata dari pengukuran lima bidang pandang yang dipilih secara acak masing-masing dengan lima ulangan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian ini memperlihatkan semua tunas *N. mirabilis* mampu hidup 100% pada semua perlakuan kolkisin. Dari hasil yang diperoleh terlihat bahwa tunas *Nepenthes* memiliki ketahanan yang tinggi terhadap mutagen kolkisin terlihat dari masih tingginya persentase hidup tunas pada konsentrasi kolkisin yang paling tinggi (0.1%). Kolkisin adalah senyawa mutagen kimia yang dapat menghambat pembentukan benang-benang gelendong yang pada akhirnya dapat menghambat pertumbuhan bahkan dapat menyebabkan kematian tanaman.

Induksi mutasi secara kimia dengan menggunakan kolkisin ternyata mampu meningkatkan pertumbuhan biakan, terlihat dari beberapa parameter pertumbuhan biakan hasil perlakuan kolkisin menunjukkan pertumbuhan yang lebih baik dari pada kontrol. Konsentrasi kolkisin bersifat kritis dimana konsentrasi yang beragam menyebabkan pengaruh yang beragam pula. Berbagai konsentrasi kolkisin memberikan pengaruh yang berbeda-beda terhadap parameter-parameter pertumbuhan, antara lain tinggi tunas, jumlah daun, jumlah kantong yang terbentuk, dan tingkat multiplikasi tunas.

Tabel 1. Pengaruh perlakuan kolkisin terhadap pertumbuhan tunas *N. mirabilis* umur dua bulan setelah perlakuan.

Paramater Pengamatan	Dosis Kolkisin (%)			
	0.00	0.05	0.075	0.10
Persentase Hidup Biakan (%)	100	100	100	100
Tinggi Tunas (cm)	1.06b	0.94a	1.06b	1.04b
Jumlah Daun	6.50a	8.10b	7.70b	6.50a
Jumlah Kantong	3.90a	6.00ab	6.30b	3.90a
Jumlah Tunas	1.50b	1.20a	1.60b	1.70b

Angka yang diikuti dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf $p=0.05$



Pada penelitian ini belum diperoleh letal dosis 50% hal ini disebabkan masih rendahnya dosis kolkisin yang diberikan. Bahkan biakan mampu hidup pada semua dosis kolkisin, hal ini memperlihatkan tunas *Nepenthes* memiliki kemampuan bertahan hidup yang tinggi sehingga perlu dilakukan percobaan pada dosis yang lebih tinggi atau diperpanjang waktu perendamannya. Hasil yang diperoleh dari penelitian ini bertolak belakang dengan penelitian-penelitian sebelumnya dimana pada beberapa tanaman rentan terhadap perlakuan kolkisin yang menyebabkan rendahnya parameter pertumbuhan, seperti pada tanaman: Kluai Khai (Saradhulhat and Silayoi, 2001), *Plantanus acerifolia* (Liu *et al.*, 2007), dragonhead (Omidbaigi *et al.*, 2010), *Echinacea purpurea* L (Nilanthi *et al.*, 2009), *Pelargonium x hortorum* (Jadrna *et al.*, 2010), dan *Gossypium arboretum* L (Rauf *et al.*, 2006).

Kegiatan *recovery* dan regenerasi pasca mutasi dilakukan untuk melihat kemampuan biakan beregenerasi dan bermultiplikasi pasca perlakuan mutasi. Setelah delapan bulan pasca perlakuan mutagen kimia kolkisin, tunas *N. mirabilis* mampu tumbuh 100% pada semua perlakuan mutagen kimia kolkisin. Tunas yang pada awalnya mengalami kematian akibat mutagen kolkisin setelah perlakuan pada media *recovery* ternyata mampu tumbuh menjadi tunas bahkan dengan pertumbuhan yang lebih dari kontrol. Bahkan semakin tinggi persentase kolkisin tunas menunjukkan pertumbuhan yang jauh lebih baik dari kontrol dilihat dari tinggi tunas, jumlah daun, jumlah kantong, jumlah tunas yang dihasilkan lebih tinggi dari kontrol (Tabel 2). Hal ini merupakan fenomena yang jarang terjadi, karena umumnya perlakuan kolkisin dapat menghambat pertumbuhan kultur bahkan menyebabkan kematian kultur. Sedangkan dari hasil penelitian ini memperlihatkan dengan adanya perlakuan kolkisin ternyata dapat merangsang pertumbuhan kultur lebih baik daripada kontrol walaupun di awal perlakuan menunjukkan penghambatan pertumbuhan.

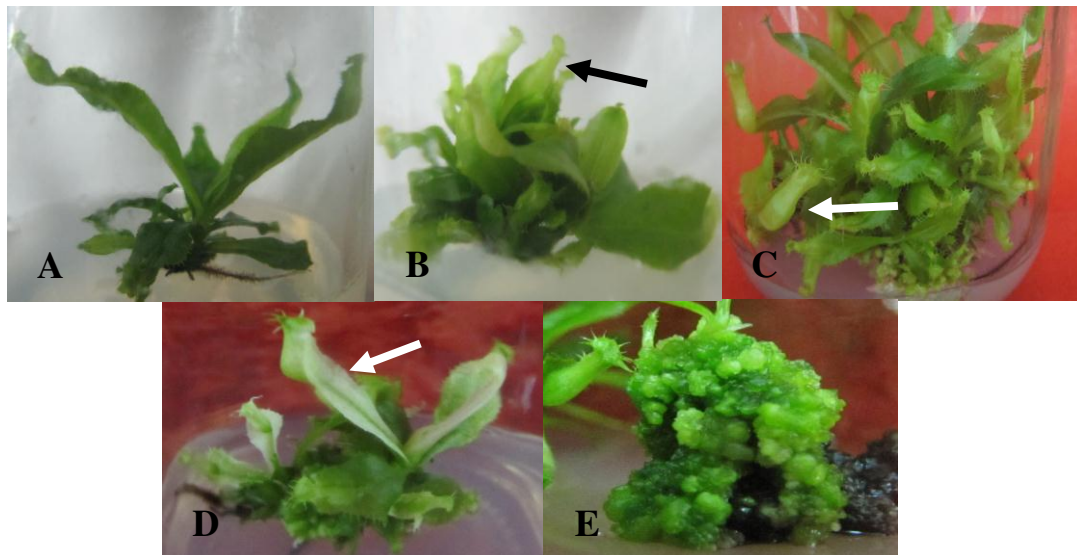
Tabel 2. Pengaruh kolkisin terhadap pertumbuhan kultur *N. mirabilis*, umur delapan bulan setelah perlakuan.

Paramater Pengamatan	Dosis Kolkisin (%)			
	0.00	0.05	0.075	0.10
Tinggi Tunas (cm)	3.29b	2.28a	3.17b	3.26b
Jumlah Daun	18.75a	23.30b	21.00ab	24.14b
Jumlah Kantong	18.75a	23.30b	21.00ab	24.14b
Jumlah Tunas	3.75a	8.20b	7.30b	8.57b
Penampakan kultur	Normal	Ukuran daun yang sempit, warna tunas hijau muda	daun memanjang kecil-kecil	kantong besar, daun memanjang, daun belang (setrip putih dan hijau)
Pembentukan kalus	-	+	+	+

Angka yang diikuti dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf $p=0.05$ + = terbentuk kalus; - = tidak terbentuk kalus

Hasil pengamatan secara visual terlihat adanya bentukan-bentukan baru dari penampakan fenotipe, hal ini diduga telah terjadinya perubahan genetik pada setiap perlakuan. Pada Gambar 1 dapat dilihat penampakan biakan umur delapan bulan setelah perlakuan kolkisin. Biakan tanpa perlakuan mutagen kolkisin memiliki tunas yang berwarna hijau tua sedangkan biakan dengan perlakuan kolkisin memiliki tunas yang berwarna hijau muda dan memiliki tingkat multiplikasi yang tinggi. Bahkan pada beberapa biakan mampu merangsang pembentukan kalus dan dihasilkan somaklon yang bersifat varigata. Banyak penelitian yang telah membuktikan keuntungan aplikasi kolkisin untuk meningkatkan keragaman genetik, seperti pada African Violet (Seneviratne *et al.*, 2002), nanas (Mujib, 2005), dan Gerbera (Altaf *et al.*, 2009). Perlakuan kolkisin ternyata mampu menghasilkan tanaman-tanaman dengan warna bunga dan daun yang lebih menarik, ukuran daun atau bunga yang lebih besar serta menghasilkan tanaman albino.





Gambar 1. Induksi keragaman somaklonal pada tunas *N. mirabilis* dengan kolkisin. (A) kontrol, 0%; (B) tunas berwarna hijau muda demikian juga dengan warna kantongnya dari kolkisin 0.075%; (C) kantong berukuran besar dari kolkisin 0.10%; (D) daun berwarna putih dengan tulang daun tetap hijau dari kolkisin 0.10%, dan (E) kalus embriogenik dari kolkisin 0.05%.

Tanaman varigata merupakan tanaman dengan penampilan yang berbeda dari asalnya dengan ukuran kantong yang lebih besar dari kontrol dan strip pada daun (hijau dan putih). Perlakuan kolkisin 0.10% menghasilkan tunas dengan ukuran kantong yang lebih besar (Gambar 1). Hal ini terjadi kemungkinan telah terjadi perubahan jumlah ploidi akibat mutasi kolkisin. Kolkisin 0.10% juga mampu menghasilkan tunas dengan daun berwarna putih namun warna tulang daun tetap hijau dan kantong yang berwarna putih. Menurut Larkin dan Scowcroft (1981), keragaman somaklonal dapat terjadi karena hasil mutasi epigenetik, perubahan epigenetik, atau kombinasi kedua proses tersebut. Diharapkan somaklon yang dihasilkan bersifat genetik bukan epigenetik sehingga tidak terjadi perubahan sifat pada saat pengujian di rumah kaca.

Hasil yang menarik adalah pada perlakuan kolkisin 0.05% terjadi pembentukan kalus. Kalus yang dihasilkan sangat remah (mudah untuk dipisah) dan sangat mudah beregenerasi menjadi planlet. Kalus yang dihasilkan bersifat somatik embriogenik, hal ini sangat potensial untuk perbaikan tanaman melalui teknik kultur jaringan dan rekayasa genetik.

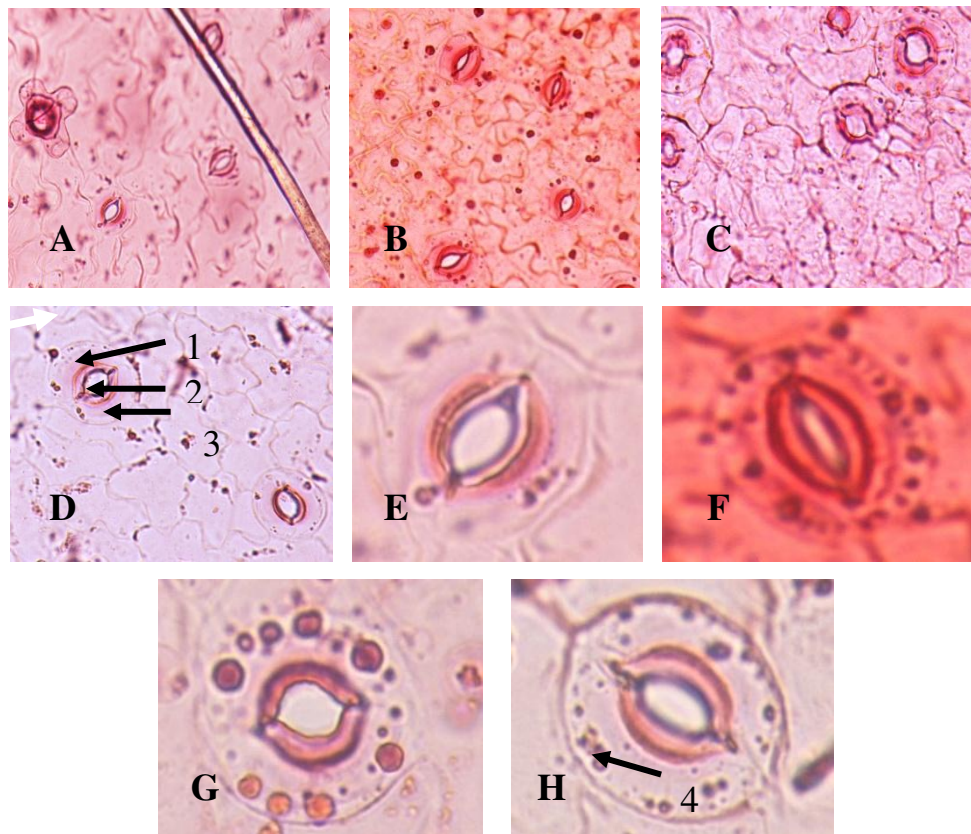
Pengamatan sitologi memperlihatkan bahwa perlakuan kolkisin berpengaruh terhadap karakter stomata, yaitu: panjang dan jumlah stomata pada konsentrasi 0.075 dan 0.1% (Tabel 3). Peningkatan ukuran stomata diikuti dengan peningkatan jumlah kloroplas pada sel penjaga dan tingkat ploidi. Hasil penelitian ini memperlihatkan pada tanaman kontrol ($2n$, diploid) memiliki tujuh kloroplas sedangkan pada perlakuan kolkisin terjadi peningkatan jumlah kloroplas yaitu 14, hal ini berarti telah terjadi peningkatan tingkat ploidi (Gambar 2).

Tabel 3. Pengaruh kolkisin terhadap karakteristik stomata pada kultur *N. mirabilis*.

Karakteristik Stomata (Nilai Rerata)	Dosis Kolkisin (%)			
	0.00	0.05	0.075	0.10
Panjang Stomata (μm)	59.92 \pm 0.00	61.63 \pm 0.25	53.07 \pm 0.25	65.91 \pm 0.25
Lebar Stomata (μm)	27.39 \pm 0.40	40.23 \pm 0.25	32.53 \pm 0.25	44.51 \pm 0.25
Kerapatan Stomata (jumlah.mm ⁻²)	130.64 \pm 0.92	135.26 \pm 1.08	208.09 \pm 0.71	63.58 \pm 0.45

Jumlah kloroplas pada sel penjaga dapat menunjukkan tingkat ploidi. Lozykowska (2003); Liu *et al.* (2007); dan Omidbaigi *et al.* (2010) melaporkan bahwa ukuran stomata dapat mengindikasikan tingkat ploidi dimana semakin besar ukuran stomata semakin tinggi tingkat ploidi. Hal senada dihasilkan dari penelitian Ho (1990); Lozykowska (2003) bahwa ukuran panjang stomata berhubungan dengan jumlah kloroplas pada sel penjaga. Semakin panjang ukuran stomata maka semakin banyak jumlah kloroplas pada sel penjaga dan semakin tinggi tingkat ploidi.





Gambar 2. Variasi ukuran stomata dan jumlah kloroplas pada sel penjaga pada *N. mirabilis* hasil mutasi kolkisin (perbesaran 10x40). (A,E) kontrol; (B,F) 0.05%; (C,G) 0.075%; dan (D,H) 0.10%.

1. Sel penutup; 2. Mulut stomata; 3. Sel penjaga; dan 4. Kloroplas pada sel penjaga.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Biakan *N. mirabilis* mampu hidup pada semua perlakuan dosis kolkisin demikian juga pada tahap *recovery* hal ini berarti mutagen kolkisin mampu merangsang pertumbuhan tunas *Nepenthes*. Perlakuan kolkisin mampu menginduksi keragaman somaklonal pada tanaman *Nepenthes*. Keragaman somaklonal yang dihasilkan terlihat dari penampilan morfologi dan karakter sitologi. Pada perlakuan kolkisin 0.10% dihasilkan tunas dengan daun belang (setrip putih dan hijau) dan ukuran kantong yang lebih besar diikuti dengan peningkatan ukuran stomata dan jumlah kloroplas. Perlakuan kolkisin 0.05% dapat menginduksi kalus embriogenik yang sangat potensial dalam perbaikan sifat tanaman.

Saran

Perlu dilakukan pengujian somaklon di rumah kaca untuk melihat apakah mutasi yang terjadi bersifat genetik atau epigenetik dan perlu dilakukan percobaan dengan dosis kolkisin yang berbeda dengan lama perendaman yang berbeda.

DAFTAR PUSTAKA

- Altaf, N., A.R. Khan., L. Ali., and I.A. Bhatii. (2009). Tissue culture of *Gerbera*. *Pak. J. Bot.* 41(1): 7-10.
- Cheng L., H. Yang., B. Lin., Y. Wang., W. Li., D. Wang., and F. Zhang. (2010). Effect of gamma ray radiation on physiological, morphological characters and chromosome aberrations of minitubers in *Solanum tuberosum* L. *Int. J. Radiat. Biol* 86(9): 791-799.
- Damayanti, F. dan I. Mariska. (2003). Induksi poliploidi pada hibrid F1 hasil persilangan antar spesies pada tanaman panili secara *in vitro*. *Jurnal Ilmiah Mulawarman Scientifie* 2(2): 12-17.
- Damayanti, F., I. Roostika, dan M. Masur. (2011). Induksi keragaman somaklonal pada tunas kantong semar (*Nepenthes* spp.) dengan radiasi sinar gamma secara *in vitro*. *Seminas Sains dan Teknologi Nuklir PTNBR-BATAN dan UPI Bandung 22 Juni 2011*.
- Duncan, D. R. and J. M. Widholm. (1990). Techniques for selecting mutan from plant tissue culture. In: J. W. Pollaer, J. M. Walker, (ed.). *Methods in Moleculer Biology*. Vol ke-6. Plant Cell, Tissue Culture. New York: The Human Press. hlm 443-465.
- Ho, I., Y. Wan., J.M. Widhlo., and A.L. Rayburn. (1990). The use of stomatal chloroplast number for rapid determination of ploidy level in maize. *Plant Breeding* 105(3): 203-210.



- Jadrna, P., O. Plavcova., and F. Kobza. (2010). Morphological changes in colchicine-treated *Pelargonium x hortorum* L.H. Bailey greenhouse plants. *Hort. Sci.* 37(1): 27-33.
- Larkin, P.J. and W.R. Scowcroft. (1981). Somaclonal variation an novel source of variability from cell culture for plant improvement. *Theor. Appl. Genet.* 60: 197-214.
- Liu, G., Z. Li., and M. Bao. (2007). Colchicine-induced chromosome doubling in *Plantanus acefolia* and its effect on plant morphology. *Euphytica* DOI 10.1007/s10681-007-9406-6.
- Lozykowska, K.S. (2003). Determination of the ploidy level in chamomile (*Chamomilla recutita* (L.) Rausch.) strains rich in α -bisabol. *J. Appl. Genet.* 44(2): 151-155.
- Mujib, A. (2005). Colchicine induced morphological variants in pineapple. *Plant Tissue Cult. & Biotech* 15(2): 127-133.
- Nilanathi, D., Xiao-Lu., Fu-Cheng, Yue-Sheng, and H. Wu. (2009). Induction of tetraploids from petiole explants through colchicine treatments in *Echinacea purpurea* L. *J. of Biomedicine and Biotechnology* ID 343485.
- Omidbaigi, R., S. Yavari., M.E. Hassani., and S. Yavari. (2010). Induction od autotetraploidy in dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L.) by colchicine treatment. *J. of Fruit and Ornamental Plant Research* 18(1): 23-35.
- Puchooa, D. (2005). *In vitro* mutation breeding of Anthurium by gamma radiation. *Internasional J. of Agriculture & Biology* 1560-8530/2005.
- Rauf, S., I.A. Khan., and Khan, F.A.. (2006). Colchicine-induced tetraploidy and changes in allele frequencies in colchicine-treated populations of diploid assessed with RAPD markers in *Gossypium arboretum* L. *Turk. J. Biol.* 30: 93-100.
- Sangsiri, C., W. Sorajjapinum., and P. Srinives. (2005). Gamma radiation induced mutations in mungbean. *Science* 31: 251-255.
- Saradhulhat, P. and B. Silayoi. (2001). Some chemical treatments on Kluai Khai through tissue culture for mutation breeding. *Kasetsart J. (Nat. Sci.)* 35: 231-241.
- Sass, J.E. (1951). Botanical Microtechnique. Ed. Ke2. The Iowa State Collage Press. Iowa.
- Seneviratne, K.A.C.N., S.A. Krisnarajah. and D.S.A. Wijesundara. (2002). First African Violet (*Saintpaulia ionantha* H. Wendl.) with a changing color pattern induced by mutation. *American J. of Plant Physiology* 2(3): 233-236.
- Van den Bulk, R.W. (1991). Application of cell and tissue culture and *in vitro* selection for disease resistance breeding—a review. *Euphytica* 56: 269-285.

DISKUSI

Penanya 1 (Erma Prihastanti – Jurusan Biologi Fak. Sains dan Matematika Univ Diponegoro)

Explan apa yang digunakan? kemudian pada konsentrasi 0,05% terjadi embriogenik kalus, hal tersebut apakah menggunakan metode yang sama untuk setiap konsentrasi atau menggunakan metode yang berbeda? Dan berapa lama waktu yang dibutuhkan dari explan hingga selesai penelitian?

Jawab:

Explan yang digunakan adalah tunas *in vitro* yang didalam penelitian sebelumnya dikatakan untuk mendapatkan perlakuan awal yang terbaik menggunakan tunas in vitro. Untuk penelitian menggunakan biji yang dapat diinduksi lamanya 1-4 bulan tergantung jenis spesiesnya, untuk Nepenthes sendiri memerlukan waktu 1-2 bulan dan bila dialam memerlukan waktu 1-2 tahun.

Pada konsentrasi kolkisin 0,05 % terjadi embriogenik kalus menggunakan metode yang sama selama 5 kali pengulangan.

Penanya 2 (Shanti Listyawati – Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret)

Dalam melihat hasil penelitian menggunakan karakter sitologi, kemudian dari karakter sitologi yang terlihat, dalam pengembangannya fungsinya apa dalam menghasilkan kantong-kantong semar yang bermutan tersebut?

Jawab:

Perubahan genetik yang paling mudah dan murah adalah dengan melihat karakter stomatanya, karena dengan perubahan ukuran, penambahan jumlah kloroplas pada sel penjaga memperlihatkan perubahan pada tingkat ploidi.

Saran moderator (Yudi Rinanto – Pendidikan Biologi FKIP UNS)

Perlakuan kolkisisn sebagai mutagen (kolkisin) bersifat acak (Random) dan tidak diketahui khromosom mana yang mengalami perubahan. Oleh karena itu indikator jangan hanya menggunakan karakter sitologi tetapi juga analisa DNA seperti perubahan urutan basa-basanya, sehingga lebih pasti diketahui secara genetis terjadinya perubahan sifat dari Mutan.

