

Studi Kultur Anther pada Aksesi *Anthurium* Lokal

Winarto, B.¹ dan N.A. Mattjik²

¹ Balai Penelitian Tanaman Hias, Jl. Raya Ciherang-Pacet, Cianjur 43253

² Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Jl. Meranti No.1 Dramaga, Bogor

Naskah diterima tanggal 7 Januari 2008 dan disetujui untuk diterbitkan tanggal 4 Februari 2009

ABSTRAK. Kultur anther merupakan salah satu terobosan teknologi dalam kultur jaringan untuk menyediakan tanaman homozigot dalam waktu yang singkat. Aplikasi kultur anther pada aksesi *Anthurium* lokal dapat dilakukan untuk menyediakan tetua homozigot yang tahan terhadap penyakit hawar daun. Penelitian bertujuan menguji respons beberapa aksesi *Anthurium* lokal terseleksi dalam kultur anther dan kemampuan regenerasi kalus pada berbagai media regenerasi. Penelitian dilakukan di Laboratorium dan Rumah Kaca Balai Penelitian Tanaman Hias dari bulan Januari hingga Desember 2006. Anther diisolasi dari aksesi *Anthurium* lokal Cipanas Merah, Cipanas Putih, Ciwideung-Lembang Merah, Sukabumi Putih, dan Salatiga Putih. Hasil penelitian menunjukkan bahwa beberapa aksesi *Anthurium* lokal memberikan respons yang berbeda terhadap kemampuan induksi kalus. Aksesi Cipanas Putih merupakan aksesi yang paling responsif dibandingkan aksesi lainnya dengan persentase pembentukan kalus tertinggi (5,2%). Kalus yang terbentuk dalam kultur anther memiliki kemampuan adaptasi yang baik terhadap inkubasi terang dan tumbuh lebih cepat dibandingkan dengan aksesi yang lain. Kalus hasil kultur anther aksesi Cipanas Putih memiliki kemampuan regenerasi yang tercepat (1,5-2,5 bulan) dan jumlah bakal tunas terbanyak (2,2-5,7 tunas). Media MMS-IIIR dan MMS-TBN merupakan media yang sesuai untuk regenerasi tunas dari kalus hasil kultur anther aksesi Cipanas Putih. Media tersebut juga sesuai untuk inisiasi kalus.

Katakunci: *Anthurium* spp.; Aksesi lokal; Kultur anther; Media in vitro; Regenerasi.

ABSTRACT. Winarto, B. and N.A. Mattjik. 2009. Studies on Anther Culture of Local Accessions of *Anthurium*. Anther culture is a technological breakthrough in tissue culture to provide homozygous plants in a shorter period compared to conventional method. Anther culture applied for local *Anthurium* accession for getting desistant mother plant against light blight. Anther culture application aimed to evaluate responses of anther culture of local accession of *Anthurium* and capacity of callus regeneration derived from it, in different regeneration media. The study was conducted at Tissue Culture Laboratory and Glasshouse of Indonesian Ornamental Crops Research Institute from January to December 2006. Anthers of local accession of Cipanas Merah, Cipanas Putih, Ciwideung-Lembang Merah, Sukabumi Putih, and Salatiga Putih were used in this research. The results indicated that among local accessions of *Anthurium* tested had different responses in their capacity to produce callus. Cipanas Putih accession was the most responsive accession in callus formation (5.2%). Callus derived from this accession grew better and faster than other accessions and easily adapted under light incubation. Callus resulted from anther culture of Cipanas Putih accession exhibited faster regeneration (1.5-2.5 months) and produced highest number of shoots per callus (2.2-5.7 shoots). The MMS-IIIR and MMS-TBN media were the appropriate media for shoot regeneration of callus produced from anther culture of Cipanas Putih accession. The media was also suitable for callus initiation.

Keywords: *Anthurium* spp.; Local accession; Anther culture; In vitro media; Regeneration.

Kultur anther merupakan salah satu teknik kultur jaringan yang dapat digunakan untuk menghasilkan tanaman haploid ganda atau homozigot murni yang sangat bermanfaat dalam pemuliaan tanaman *Anthurium*. Pada masa kini, teknik ini telah diaplikasikan secara luas pada banyak tanaman serealia, sayuran, dan buah-buahan (Maluzynski *et al.* 2003). Pada tanaman hias, teknik ini telah diaplikasikan pada petunia, geranium, lily, *Camellia japonica*, dan helianthus (Epp dan Smith 1974, Han *et al.* 1997, Mohan-Jain dan Balla-Sharin 1997, Pedroso dan Pais 1997, Izhaki *et al.* 2002), sedangkan pada *Anthurium* pemanfaatan teknik ini masih sangat

terbatas. Produksi tanaman haploid pada famili *Araceae* pertama kali dilaporkan oleh Eeckhaut *et al.* (2001) pada tanaman *Spatiphyllum wallisii* melalui kultur ovul.

Keberhasilan kegiatan penelitian awal tentang kultur anther *Anthurium* pada kultivar Tropical dan Carnaval yang dilakukan beberapa tahun terakhir, memberikan peluang untuk mengaplikasikan teknik serupa pada *Anthurium* jenis yang lain (Winarto dan Rachmawati 2005, Rachmawati 2005). Dari penelitian terdahulu diketahui bahwa (1) *Anthurium andraeanum* Linden ex Andre cv. Tropical merupakan salah satu kultivar yang dapat digunakan sebagai tanaman model pada

pengembangan kultur anther, (2) anther paling responsif adalah anther yang diisolasi dari daerah transisi pada spadiks yang 50% pistilnya reseptif, (3) dua jenis kalus yang berbeda, yaitu yang tumbuh cepat dan lambat berhasil diregenerasi dari anther, (4) modifikasi medium Murashige dan Miller Syngonium (MMS) yang mengandung 0,25 mg/l 2,4-D, 1,5 mg/l TDZ, 0,75 mg/l BAP, dan 0,02 mg/l NAA merupakan medium optimal untuk induksi dan regenerasi kalus, (5) MMS yang mengandung 1,0 mg/l kinetin dan 0,2 mg/l NAA sesuai untuk pengakaran, dan (6) 9% planlet hasil regenerasi adalah haploid, 3% dihaploid (diduga), 73% diploid, dan 15% tetraploid.

Tahun 2003, 1 aksesi lokal berwarna putih yang berasal dari Cipanas diketahui tahan terhadap serangan penyakit hawar daun yang disebabkan oleh *Xanthomonas campestris* pv. *dieffenbachiae*. Ketahanan itu ditunjukkan dengan tidak adanya gejala bercak kuning pada permukaan daun bagian atas setelah daun tersebut diinokulasi patogen (Hanudin dan Sulyo 2003). Selanjutnya pada tahun 2005, hasil pengujian beberapa aksesi lokal yang berasal dari beberapa daerah sentra tanaman hias (Cipanas-Cianjur, Cihideung-Lembang, Bandungan-Ambarawa, Kopeng-Salatiga, dan Seleka-Malang) diketahui bahwa semua aksesi termasuk dalam kategori moderat tahan (Winarto *et al.* 2005). Aksesi-aksesi hasil uji ini merupakan sumber genetik yang sangat berharga dalam pemuliaan tanaman *Anthurium*, khususnya dalam memperbaiki *Anthurium* potong dan pot yang rentan terhadap serangan penyakit hawar daun.

Produksi tanaman haploid dan atau haploid ganda dari aksesi *Anthurium* lokal terseleksi hasil penelitian sebelumnya, sangat bermanfaat bagi peningkatan dan kemajuan program pemuliaan tanaman *Anthurium*, khususnya dalam merakit kultivar-kultivar baru yang tahan terhadap penyakit hawar daun dan tahan terhadap cekaman lingkungan.

Penelitian bertujuan untuk menggali potensi produksi tanaman haploid dan atau haploid ganda dari beberapa aksesi lokal terseleksi. Secara khusus penelitian bertujuan untuk mengetahui kemampuan regenerasi anther dalam membentuk kalus dari beberapa aksesi lokal terseleksi terhadap media dalam kultur in vitro.

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah (1) terdapat 1 aksesi lokal terseleksi yang potensial digunakan sebagai tanaman model untuk mendapatkan tanaman haploid dan atau haploid ganda pada *Anthurium* dan (2) terdapat 1 medium regenerasi yang potensial untuk meregenerasi kalus hasil kultur anther *Anthurium*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan dan Rumah Kaca Balai Penelitian Tanaman Hias, Segunung (1.100 m dpl.) dari bulan Januari hingga Desember 2006.

Seleksi Aksesi Lokal *Anthurium* dalam Kultur Anther

Pada tahap seleksi aksesi lokal yang responsif dalam kultur anther digunakan 5 aksesi, yaitu (1) Cipanas Merah, (2) Cipanas Putih, (3) Cihideung-Lembang Merah, (4) Sukabumi Putih, dan (5) Salatiga Putih. Bahan yang digunakan dalam percobaan ini adalah spadiks yang 50% stigmanya berada pada masa reseptif.

Spadiks yang dipanen selanjutnya disterilisasi sesuai prosedur baku yang telah dikembangkan pada penelitian sebelumnya (Winarto dan Rachmawati 2005). Spadiks diletakkan di bawah air mengalir selama 0,5-1,0 jam, dipindahkan ke dalam larutan 1% benomil dan abamektin selama 30 menit, kemudian dibilas dengan air destilasi beberapa kali hingga bersih. Setelah itu spadiks dibawa ke dalam *laminar flow*, direndam sambil digojok dalam larutan 2% natrium hipoklorida (NaOCl)+5 tetes Tween 20 selama 5 menit. Selanjutnya spadiks dipindahkan dalam larutan 1% NaOCl+5 tetes Tween 20 selama 10 menit, kemudian dibilas dengan air destilasi steril hingga bersih (5-6 kali, masing-masing 5 menit). Setelah steril, spadiks diletakkan ke dalam cawan petri steril yang berisi kertas tisu basah untuk menjaga kelembaban dan kesegaran.

Anther yang digunakan dalam percobaan diisolasi dari daerah transisi spadiks (Winarto dan Rachmawati 2005). Anther diisolasi menggunakan *scalpel* di bawah mikroskop binokuler. Setelah korola yang berbentuk seperti sisik dibuka, setengah bagian anther dipotong menggunakan pisau kultur pada posisi di atas

daerah perlekatan filamen dengan kotak anther. Setengah bagian anther yang telah dipotong selanjutnya dikultur pada media perlakuan, yaitu MMS yang mengandung 0,5 mg/l TDZ, 0,5 mg/l BAP, dan 0,02 mg/l NAA (MMS-TBN) dan MMS yang mengandung 1,5 mg/l TDZ, 0,5 mg/l BAP, dan 0,02 mg/l NAA (MMS-3). Lima puluh anther diisolasi dari setiap aksesi yang dikultur dalam 10 botol dan tiap botol berisi 5 anther. Kultur anther diinkubasi dalam ruang gelap selama ± 2 bulan, selanjutnya dipindahkan pada inkubasi terang dengan 16 jam fotoperiode di bawah lampu fluoresens.

Peubah yang diamati adalah (1) persentase kontaminasi, (2) potensi tumbuh, (3) waktu induksi kalus (minggu setelah kultur), (4) persentase pembentukan kalus, (5) pertumbuhan kalus, (6) jenis kalus, dan (7) warna kalus. Data disajikan dalam bentuk nilai rerata dengan nilai simpangan bakunya. Pengamatan dilakukan secara periodik hingga pembentukan kalus.

Perbanyakan dan Regenerasi Kalus Hasil Kultur Anther Aksesi *Anthurium* Lokal

Kalus yang digunakan dalam percobaan ini adalah hasil perbanyakan pada kegiatan sebelumnya yang belum teregenerasi. Kalus dipotong menjadi potongan-potongan kecil yang diusahakan seragam. Potongan kalus selanjutnya dikultur pada media regenerasi yang diuji pada percobaan ini.

Pada percobaan ini kalus yang diregenerasi berasal dari anther 4 aksesi lokal yang berbeda, yaitu (1) L1=Cipanas Putih, (2) L2=Salatiga Putih, (3) L3 =Cihideung-Lembang Merah, dan (4) L4=Cipanas Merah. Kalus-kalus tersebut diregenerasikan pada media regenerasi yang berbeda. Media regenerasi tunas yang digunakan adalah (1) MMS+1 mg/l TDZ+0,02 mg/l NAA (MMS-3R), (2) MMS+0,25 mg/l 2,4-D+1,50 mg/l TDZ (MMS-IIIR), dan (3) MMS + 0,5 mg/l Thidiazuron+0,5 mg/l BA+0,02 mg/l NAA (MMS-TBN). Media dasar mengandung 3% sukrosa dan 2,0 g/l gelrite dengan pH 5,8.

Setiap perlakuan terdiri atas 10 botol kultur yang masing-masing berisi 1 potongan kalus. Dengan demikian terdapat 10 kalus untuk masing-masing aksesi *Anthurium* lokal. Subkultur dilakukan sebanyak 3 kali untuk mendapatkan hasil yang lebih akurat dan konsisten.

Peubah yang diamati adalah waktu regenerasi tunas (bulan setelah subkultur/BSS), jumlah bakal tunas per kalus, jumlah tunas/kalus yang berhasil diregenerasi, dan kondisi planlet.

Data yang disajikan adalah nilai rerata hasil pengamatan yang diikuti dengan nilai standar deviasinya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Studi Inisiasi Kultur Anther pada Aksesi Lokal *Anthurium*

Hasil penelitian menunjukkan bahwa beberapa anther yang diisolasi dari spadiks aksesi lokal *Anthurium* warna putih (lokal Cipanas dan Salatiga) dan merah (Cihideung-Lembang dan Cipanas) memberikan respons yang positif dalam membentuk kalus pada media regenerasi MMS-3. Kalus mulai terinisiasi setelah 1,5 bulan kultur dipelihara di bawah kondisi gelap. Kalus berwarna putih yang terbentuk terus tumbuh yang ditandai dengan ukuran kalus yang terus bertambah. Setelah 2 bulan masa inkubasi, kalus selanjutnya diinkubasi di bawah kondisi terang menggunakan lampu fluoresens. Di bawah kondisi terang, tidak semua kalus mampu terus tumbuh dan berkembang. Bahkan beberapa kalus berubah dari putih menjadi putih kecoklatan dan akhirnya seluruh kalus berwarna coklat dan mati (Gambar 1ab). Hal ini menjadi kendala utama yang dihadapi pada kalus-kalus hasil kultur anther aksesi lokal.

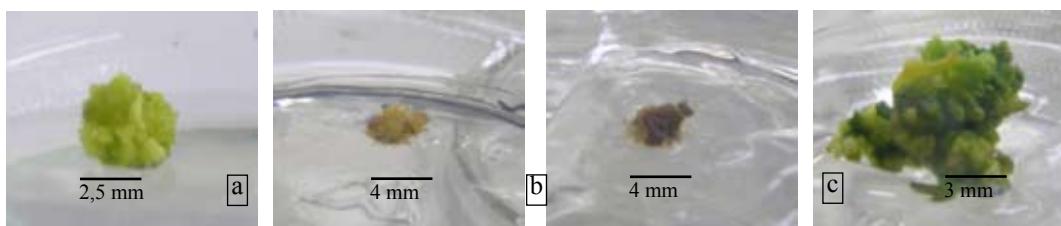
Beberapa kalus yang dapat beradaptasi di bawah kondisi terang terus mengalami pertumbuhan, yang ditandai dengan perubahan warna kalus dari putih menjadi hijau segar. Kalus yang berasal dari anther aksesi lokal Cipanas Putih terlihat memiliki kemampuan tumbuh dan berkembang yang lebih baik dibandingkan kalus yang lain (Tabel 1). Kalus mudah beradaptasi di bawah kondisi terang dan tumbuh lebih cepat. Pada 4 bulan setelah kultur inisiasi bakal tunas mulai teregenerasi (Gambar 1c).

Keberhasilan induksi kalus yang rendah pada kultur anther lokal ternyata masih menghadapi kendala adaptasi di bawah kondisi terang. Dari 5 aksesi lokal yang diteliti, kecuali aksesi lokal Cipanas Putih (5 kalus), jumlah kalus yang adaptif dan terus tumbuh sangat rendah, rerata 1

**Tabel 1. Keragaan hasil inisiasi kultur anther dari beberapa aksesi *Anthurium* lokal terseleksi
(Performance of initial results of anther culture of several selected local accessions of *Anthurium*)**

Peubah (Variable)	Data hasil pengamatan (Data of observation)				
	CM	CP	CLM	SP	Sal-P
Kontaminasi (Contamination), %	18±10,7	25±11,1	41±6,3	38±16,9	28±14,4
Potensi tumbuh (Growth potential), %	82±10,7	75±11,1	59±6,3	62±16,9	72±14,4
Waktu induksi kalus (Period of callus-induction), bulan (month)	2,6±0,55	2,5±0,63	2,7±0,25	3,0±0,39	2,6±0,24
Induksi kalus (Callus-induction), %	3,8±0,85	5,2±0,45	2,2±0,65	1,9±0,45	3,1±0,61
Respons pertumbuhan kalus (Response of callus growth)	AC	C	AL	L	AL
Jenis kalus (Callus type)	O	O	O	O	O
Warna kalus (Color of callus)	H-K	H-K	H-K	H-K	H-K

CM (Cipanas Merah), CP (Cipanas Putih), CLM (Cihideung Lembang Merah), SP (Sukabumi Putih), dan Sal-P (Salatiga Putih), AC = Agak cepat (Slightly fast), C = Cepat (Fast), AL = Agak lambat (Slightly slow), L = Lambat (Slow), O = Organogenik (Organogenic), H-K = Hijau kuning (Yellow green)



Gambar 1. Pertumbuhan kalus 1 bulan periode inkubasi di bawah kondisi terang (a) kalus sehat CP, (b) kalus CM, SP, dan Sal-P yang tidak adaptif, kecoklatan dan mati, (c) kalus Cipanas Putih yang mulai teregenerasi membentuk bakal tunas 4 bulan setelah inkubasi terang (Callus growth 1 month after light incubation. (a) healthy callus of Cipanas Putih, (b) non-adaptive callus, browning and death of Cipanas Merah, Sukabumi Putih, and Salatiga Putih, and (c) local callus of Cipanas Putih starting regeneration to form initial shoots 4 months after light incubation)

kalus per aksesi. Akibatnya perbanyak kalus untuk kegiatan berikutnya membutuhkan waktu yang lebih lama. Perbanyak kalus yang rentan terhadap inkubasi terang, dilakukan di dalam ruang gelap.

Perbanyak dan Regenerasi Kalus Hasil Kultur Anther Aksesi *Anthurium* Lokal

Tabel 2 menunjukkan bahwa setiap kalus aksesi lokal yang diteliti memiliki kemampuan regenerasi yang berbeda, ketika disubkultur pada media regenerasi. Kalus aksesi lokal Cipanas Putih merupakan aksesi yang paling responsif dalam membentuk tunas dibandingkan ketiga aksesi lainnya. Indikasi responsif tersebut ditunjukkan oleh jumlah bakal tunas yang terbentuk, laju

pertumbuhan pada ketiga media regenerasi yang diteliti. Selain itu 2 aksesi *Anthurium* lokal, yaitu Cihideung-Lembang Merah dan Cipanas Merah tidak mampu beregenerasi menjadi tunas pada ketiga media regenerasi yang diuji. Kalus dari kedua aksesi tersebut yang disubkulturkan ke media regenerasi umumnya berubah warna dari warna putih menjadi kecoklatan dan akhirnya mati, sedangkan pada kalus aksesi Salatiga Putih mampu beregenerasi menjadi tunas pada media MMS-IIIR. Hal ini menunjukkan bahwa regenerasi aksesi Salatiga Putih cocok pada media MMS-IIIR.

Media MMS-IIIR dan MMS-TBN merupakan media regenerasi yang sesuai untuk regenerasi tunas pada kalus hasil kultur anther aksesi

Tabel 2. Kemampuan regenerasi tunas dan jumlah bakal tunas per kalus pada 4 aksesi *Anthurium* lokal pada media regenerasi yang berbeda (Shoot regeneration capacity and number of initial shoots per callus in 4 local accessions of *Anthurium* in different regeneration media)

Aksesi lokal (Local accession)	Kemampuan regenerasi (Regeneration capacity)			Jumlah bakal tunas per kalus (Number of initial shoots per callus)		
	MMS-3R	MMS-IIIR	MMS-TBN	MMS-3R	MMS-IIIR	MMS-TBN
L-1	Sedang	Cepat	Cepat	**	***	***
L-2	-	Lambat	-	-	*	-
L-3	-	-	-	-	-	-
L-4	-	-	-	-	-	-

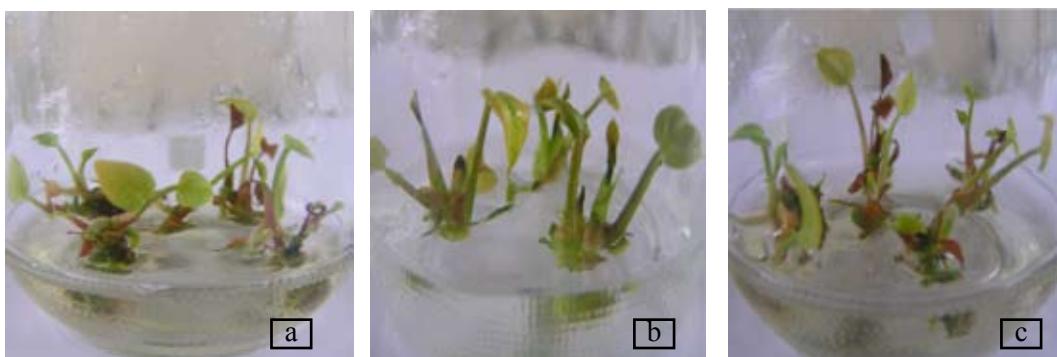
MMS-3R = MMS + 1 mg/l TDZ + 0,02 mg/l NAA, MMS-IIIR = MMS + 0,25 mg/l 2,4-D + 150 mg/l TDZ, MMS-TBN = MMS 0,5 mg/l Thidiazuron + 0,1 mg/l BA + 0,2 mg/l NAA

L1 = CP, L2= Sal-P; L3= C-LM; dan L4= CM. - = tidak ada regenerasi tunas, kalus yang disubkultur menjadi kecoklatan dan mati (*There were no shoot regeneration and callus subcultured was to be brownish and die*). * = 1-5 bakal tunas /kalus (1-5 initial shoots per callus); ** = 6-10 bakal tunas /kalus (6-10 initial shoot per callus); *** = > 10 bakal tunas/kalus (*more than 10 callus per callus*)

Cipanas Putih. Pada kedua media tersebut waktu pembentukan tunas berlangsung lebih cepat, jumlah tunas yang terbentuk cukup banyak dengan kondisi tunas yang tegar. Keragaan tunas aksesi Cipanas Putih berbeda dengan kalus pada ketiga media regenerasi. Pada media MMS-3R, tunas yang dihasilkan sedikit, pendek kecil, dan kurang tegar dengan warna daun hijau kekuningan. Pada media MMS-IIIR, meskipun tunas yang terbentuk tidak sebanyak pada media MMS-TBN tetapi ukuran tunas lebih besar dan tegar dengan warna hijau segar. Pada media MMS-TBN tunas banyak, tinggi kecil, dan warna tunas hijau (Gambar 2).

Tabel 3 dapat dilihat bahwa waktu pembentukan tunas pada kalus aksesi Cipanas Putih berkisar antara 1-3 BSS. Pembentukan tunas tercepat (1-2 bulan dengan nilai rerata 1,47 bulan) terdapat kalus Cipanas Putih yang ditanam pada media MMS-TBN, diikuti oleh kalus yang disubkultur pada media MMS-IIIR (1,55 BSS), sedangkan pada media MMS-3R waktu pembentukan relatif lebih lama, yaitu sekitar 2-3 bulan.

Dari Tabel 4 terlihat bahwa jumlah tunas terbanyak, yaitu sekitar 5-7 tunas per kalus terdapat pada kalus aksesi Cipanas Putih yang diregenerasikan pada media MMS-TBN, diikuti 3-5 tunas per kalus pada media MMS-IIIR dan 1-3



Gambar 2. Respons pertumbuhan tunas dari kalus CP pada 3 media regenerasi yang berbeda

(a) Media MMS-3R: tunas kecil dan pendek dengan daun hijau kekuningan, **(b) media MMS-IIIR:** tunas besar dan tegar dengan daun hijau segar, dan **(c) media MMS-TBN:** tunas tinggi kecil dengan daun hijau (*Shoot growth type of Cipanas Putih callus on 3 different regeneration media, (a) MMS-3R medium: small and short shoots with green-yellowish leaves, (b) MMS-IIIR medium: big and vigorous shoots with green and fresh leaves, and (c) MMS-TBN medium: thin and tall shoots with green shoots leaves*)

Tabel 3. Waktu regenerasi tunas dari 4 kalus aksesi *Anthurium* lokal pada media regenerasi yang berbeda (Time of shoot regeneration of 4 calluses of local accession of *Anthurium* on different regeneration media)

Aksesi lokal (Local accession)	Waktu regenerasi tunas (Period of shoot regeneration) BSS (MAS)					
	MMS-3R		MMS-IIIR		MMS-TBN	
	Kisaran (Range)	Rerata (Mean)	Kisaran (Range)	Rerata (Mean)	Kisaran (Range)	Rerata (Mean)
L-1	2-3	2,5±0,47	1-2	1,6 ±0,42	1-2	1,5±0,51
L-2	-	-	4-5	4,6±0,44	-	-
L-3	-	-	-	-	-	-
L-4	-	-	-	-	-	-

BSS (MAS) = Bulan setelah subkultur (Months after subculture)

tunas per kalus pada media MMS-3R. Sementara pada kalus Salatiga Putih yang disubkultur pada media MMS-IIIR hanya mampu menghasilkan 1-2 tunas dengan jumlah rerata mencapai 1,4 tunas per kalus.

Berdasarkan 2 percobaan inisiasi dan regenerasi tersebut, terlihat bahwa terdapat perbedaan respons dan keberhasilan kultur anther pada beberapa aksesi *Anthurium* lokal yang diteliti. Aksesi Cipanas Putih merupakan aksesi lokal yang sesuai digunakan sebagai tanaman model untuk pengembangan sistem kultur anther pada *Anthurium*. Selain itu beberapa teknik yang berhasil diaplikasikan pada *Anthurium* potong, khususnya pada kultivar Tropical dan Carnaval, juga dapat diterapkan pada *Anthurium* lokal (Winarto dan Rachmawati 2005, Rachmawati 2005). Hasil ini juga makin memperkuat peluang produksi tanaman haploid dan atau haploid ganda pada *Anthurium*. Tahapan proses induksi hingga regenerasi tunas pada kalus hasil kultur anther disajikan pada Gambar 3.

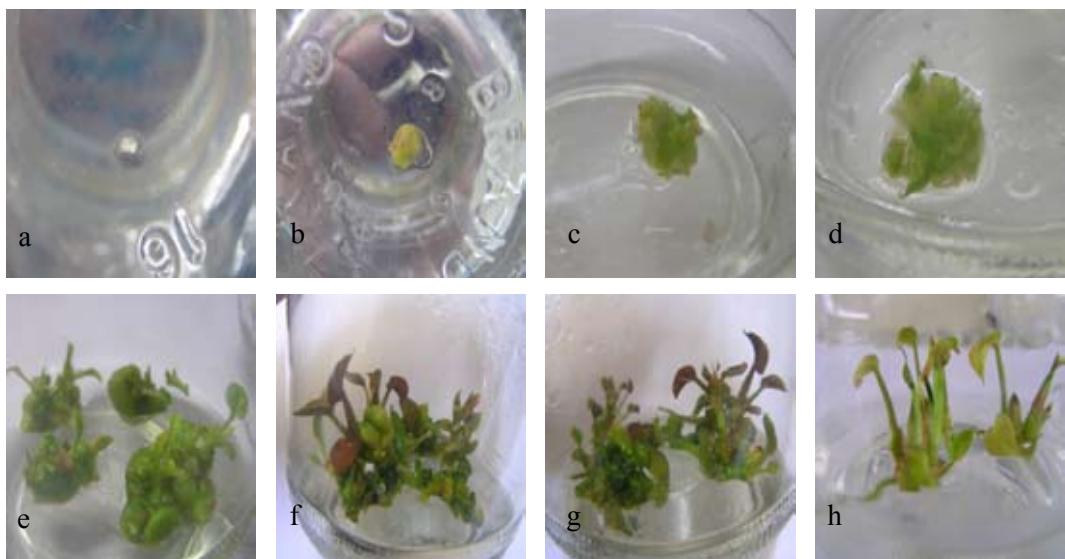
Media MMS-IIIR dan MMS-TBN merupakan media regenerasi yang sesuai untuk meregenerasi tunas pada kalus hasil kultur anther pada aksesi *Anthurium* lokal, khususnya Cipanas Putih. Media ini ternyata juga sesuai untuk induksi kalus dan

regenerasi tunas pada beberapa klon *Anthurium* hasil persilangan para pemulia Balai Penelitian Tanaman Hias (Rachmawati 2006). Saat ini berbagai modifikasi media MMS-TBN dan MMS-III juga digunakan sebagai medium dasar induksi kalus dan regenerasinya pada tanaman hias daun yang lain.

Perbedaan respons kultur anther pada beberapa aksesi *Anthurium* lokal ini dipengaruhi oleh adanya perbedaan genotip tanaman. Perbedaan tersebut berpengaruh terhadap kemampuan regenerasi kalus dan tunasnya. Perbedaan tersebut terlihat pada kecepatan terbentuknya kalus, tipe pertumbuhan kalus, kemampuan regenerasi kalus, dan tipe pertumbuhan tunasnya. Perbedaan respons kultur anther pada *Anthurium* potong juga terlihat antara kultivar Tropical, Carnaval, dan Amigo (Winarto dan Rachmawati 2005, Rachmawati 2005). Aswath dan Biswas (1999) menyatakan bahwa genotip tanaman merupakan faktor yang sangat kritis dalam kultur jaringan *Anthurium*, termasuk pada kultur anthernya. Prakash dan Giles (1992) dan Radzan (1993) juga menyatakan bahwa genotip tanaman memainkan peranan yang sangat penting dalam perkembangan

Tabel 4. Jumlah tunas per kalus yang diturunkan dari 4 kalus aksesi *Anthurium* lokal pada media regenerasi yang berbeda (Number of shoots per callus derived from 4 calluses of local accession of *Anthurium* on different regeneration media)

Aksesi lokal (Local accession)	Jumlah tunas per kalus (Number of shoots per callus)					
	MMS-3R		MMS-IIIR		MMS-TBN	
	Kisaran (Range)	Rerata (Mean)	Kisaran (Range)	Rerata (Mean)	Kisaran (Range)	Rerata (Mean)
L-1	1-3	2,2±0,79	3-5	4,2 ±0,79	5-7	5,7±0,82
L-2	-	-	1-2	1,4±0,52	-	-
L-3	-	-	-	-	-	-
L-4	-	-	-	-	-	-



Gambar 3. Tahapan regenerasi tunas yang diregenerasi dari kalus aksesi lokal Cipanas Putih pada media MMS-IIIR (a) kondisi kalus pada saat inisiasi awal, (b) kondisi kalus setelah 1 bulan inkubasi terang, (c) kondisi kalus 0,5 BSS, (d) kondisi kalus 1 BSS dan mulai inisiasi bakal tunas, (e) kondisi kalus 1,5 BSS, bakal tunas bertambah banyak, (f) kondisi kalus 3,0 BSS, bakal tunas bertumbuh menjadi tunas, (g) dan (h) kondisi tunas sebelum dan setelah dipecah dan disubkultur pada media baru (*Regeneration steps of shoots derived from callus of local accession of Cipanas Putih on MMS-IIIR media, (a) callus condition in initiation stage, (b) callus condition 1 month after light incubation, (c) callus condition 0.5 MAS, (d) callus condition 1 MAS, initial shoots regenerated, (e) callus condition 1.5 MAS, increasing number of shoots observed, (f) callus condition 3 MAS, initial shoots grew to shoots, and (g) (h) callus condition before and after splitting and subcultured on fresh media*)

androgenesis. Pada pengembangan metode kultur anther ternyata tidak setiap genotip tanaman memiliki respons yang baik. Kenyataannya faktor-faktor genetik memiliki kontribusi yang signifikan terhadap pengembangan sistem produksi tanaman haploid (Quimio dan Zapata 1990). Duijs *et al.* (1992) mendapatkan perbedaan respons genotip yang besar pada *Brassica* spesies yang dapat dinilai dari jumlah embrio yang dihasilkan, frekuensi, dan model regenerasi tanaman dalam membentuk embrio. Perbedaan respons genotip dalam kultur anther ini juga diamati oleh Kiefer *et al.* (1993) pada *Brassica oleracea* convar *acephala* DC, Radzan (1993) pada *Hordeum*, Saji dan Sujatha (1998) pada bunga matahari, serta Mohan Jain dan Bhalla-Sharin (1997) pada petunia.

Media MMS yang mengandung 0,5 mg/l TDZ, 0,5 mg/l BAP, dan 0,02 mg/l NAA (MMS-TBN)

dan MMS yang mengandung 1,5 mg/l TDZ, 0,5 mg/l BAP, dan 0,02 mg/l NAA (MMS-3R) yang sesuai untuk kultur anther pada kultivar Tropical dan Carnaval (Winarto dan Rachmawati 2005, Rachmawati 2005) merupakan media yang sesuai juga untuk kultur anther aksesi *Anthurium* lokal. Selanjutnya media MMS yang ditambah dengan 0,25 mg/l 2,4-D dan 1,50 mg/l TDZ (MMS-IIIR) dan media MMS-TBN merupakan media yang sesuai untuk meregenerasi kalus membentuk tunas. Perbedaan media regenerasi juga memberikan pengaruh yang berbeda terhadap pertumbuhan tunas yang diregenerasi (Gambar 2). Variasi respons regenerasi dalam kultur anther juga dilaporkan oleh beberapa peneliti lain. Saji dan Sujatha (1998) berhasil menginduksi embriogenesis kalus hasil kultur anther hingga 44% pada media MS yang mengandung 0,1 mg/l NAA dan 0,5 mg/l BA. Penggandaan tunas dari kalus embriogenik

berhasil dilakukan menggunakan media MS yang ditambah dengan 0,5 mg/l BA. Han *et al.* (1997) mendapatkan respons terbaik kultur anther pada media MS yang mengandung 2 mg/l pikloram dan 2 mg/l zeatin. Arzate-Fernandez *et al.* (1997) juga melaporkan bahwa persentase tinggi anther menghasilkan tanaman haploid dan atau haploid ganda ditemukan pada media N6.

Pada kultur anther *Camelia japonica*, Pedroso dan Pais (1997) menggunakan media MS yang mengandung 2% sukrosa, 100 mg/l mioinositol, 800 mg/l glutamin, 200 mg/l sering, 1 mg/l 2,4-D, dan 0,1 mg/l kinetin dan diinkubasi pada tempat yang terang. Pada *Cyclamen*, embrioid dihasilkan dari anther yang dikultur pada media B5 yang mengandung sukrosa 90 g/l, 0,1-1,0 mg/l NAA atau 0,1 mg/l 2,4-D diinkubasi pada kondisi gelap pada suhu 4°C selama 4 hari, kemudian dipindahkan pada suhu 25°C selama 60 hari (Ishizaka 1998). Pada *Anthurium*, media MMS-0 dan MMS-3 merupakan media yang paling sesuai untuk kultur anther, MMS-0 juga merupakan media yang baik untuk induksi pengakaran tunas (Rachmawati 2005).

Kombinasi zat pengatur tumbuh yang digunakan pada media MMS dan modifikasinya diduga berpengaruh nyata terhadap aktivitas pembelahan sel, pembentukan, pertumbuhan, dan perkembangan tunas (George dan Sherrington 1984). Pemberian TDZ dalam media MMS diduga memiliki peran yang sangat penting dalam induksi dan regenerasi tunas. Media TDZ mampu meningkatkan translokasi auksin pada permukaan yang terluka. Akumulasi auksin di daerah yang terluka dapat meningkatkan kemampuan sel untuk membelah diri (beregenerasi) dan pemanjangan sel. Media TDZ dalam bentuk bebas juga meningkatkan efisiensi dan periode pembentukan tunas (Barbulova *et al.* 2005). Peran penting TDZ dalam regenerasi (organogenesis dan embriogenesis) juga dibuktikan oleh Zhang *et al.* (2001) pada *Beta vulgaris*, Gallo-Meagher *et al.* (2000) pada tebu, Singh *et al.* (2003) pada *Cajanus cajan*, Mroginski *et al.* (2004) pada *Arachis correntina*, dan Haensch (2004) pada *Pelargonium*.

Kematian kalus hasil induksi pada periode inkubasi di bawah kondisi terang menjadi

fenomena yang menarik pada kultur anther aksesi *Anthurium* lokal. Kematian eksplan diduga berkaitan dengan kemampuan adaptasi kalus yang rendah. Pada inkubasi gelap, kalus yang teregenerasi umumnya berada pada kondisi pertumbuhan yang etiolasi, di mana proses pembelahan dan pemanjangan sel berlangsung cepat dan tidak seimbang, akibatnya sel dan organ-organ sel berkembang tidak maksimal. Sel umumnya memiliki vakuola yang besar, sel organ-organ yang menyebar, butiran pati yang cukup banyak, butiran plastida yang tereduksi, bahkan tidak ada warna hijau daun sama sekali, mitokondria, dan ribosom yang sedikit (Dudits *et al.* 1995, Thorpe dan Stasolla 2001). Sel-sel dalam kondisi yang tidak sempurna jika dipindahkan pada inkubasi terang, berpindah dari lingkungan tanpa cahaya ke lingkungan bercahaya, jumlah plastida yang tereduksi menyebabkan sel tidak mampu melakukan proses fotosintesis dengan sempurna, mudah mengalami kehilangan air (*desikasi*) (van Altvorst *et al.* 1996, Majada *et al.* 2001), dan jika kemampuan adaptasi terhadap perubahan kondisi gelap ke terang rendah, maka kalus akan berubah warnanya dari putih hingga kecoklatan dan akhirnya mati.

KESIMPULAN

1. Beberapa aksesi *Anthurium* lokal memberi respons yang berbeda terhadap media kultur anther, aksesi Cipanas Putih merupakan aksesi yang paling responsif dengan tingkat keberhasilan mencapai 5,2%. Kalus Cipanas Putih hasil regenerasi kultur anther memiliki kemampuan adaptasi yang baik dan tumbuh paling cepat.
2. Kalus Cipanas Putih hasil kultur anther memiliki kemampuan regenerasi yang relatif cepat, menghasilkan jumlah bakal tunas yang banyak, waktu pembentukan tunas yang cepat (1,5-2,5 bulan), dan jumlah tunas 2,2-5,7 tunas per kalus.
3. Media MMS-IIIR dan MMS-TBN merupakan media yang sesuai untuk regenerasi tunas dari kalus hasil kultur anther aksesi Cipanas Putih. Media tersebut juga sesuai untuk inisiasi kalus.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Sdr/i Nina Marlina, Euis Rohayati, Supentti, dan Dedi Rustandi yang telah membantu pelaksanaan penelitian mulai persiapan, pelaksanaan, dan pengambilan data.

PUSTAKA

1. Arzate-Fernandez, A.M., T. Nakzaki, H. Yamagata, and T. Tanisaka. 1997. Production of Double Haploid Plants from *Lilium longiflorum* Thunb. Anther Culture. *Plant Scie.* 123:179-187.
2. Aswath, C. and B. Biswas. 1999. Anthurium. In: Parthasarathy, V.A., T.K. Bose, and P. Das (Eds.). *Biotechnol. Hort. Crops.* 3:198-213.
3. Barbulova, A., E. D'Apuzzo, A. Rogato, and M. Chiurazzi. 2005. Improved Procedures for In Vitro Regeneration and Phenotypic Analysis in the Model Legume *Lotus japonicus*. *Functional Plant Biol.* 32:529-536.
4. Dudits, D.J.G, L. Borge, and L. Bahø. 1995. Molecular Biology of Somatic Embryogenesis. In: Thorpe, T.A. (Ed.) *In Vitro Embryogenesis in Plants*. Kluwer Acad. Publ. Dordrecht. The Netherlands. 471-538.
5. Duijs, J.G., R.E. Voorrips, D.L. Visser, and J.B.M. Custers. 1992. Microspore is Successful in Most Crop Types of *Brassica oleracea* L. *Euphytica* 60:45-55.
6. Eeckhaut, T., S. Werbrouck, J. Dendauw, E. van Bockstaele, and P. Debergh. 2001. Induction of Homozygous *Spatiphyllum wallisii* Genotypes through Gynogenesis. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture.* 67:181-189.
7. Epp, M.D. and H.H. Smith. 1974. Anther Culture of Petunia and Geranium. In: Kasha, K.J. (Ed.). *Haploide in Higher Plants: Advances and Potential*. The University of Guelp. Guelp. p.141.
8. Gallo-Meagher, M., R. G. English, and A. Abouzid. 2000. Thidiazuron Stimulates Shoot Regeneration of Sugarcane Embryogenic Callus In Vitro Cell. *Dev. Biol.-Plant* 36:37-40.
9. George, E.F. and P.D. Sherrington. 1984. *Plant Propagation by Tissue Culture*. Exegetics Limited, England. 709 p.
10. Hanudin dan Sulyo. 2003. Pra-evaluasi Keunggulan Karakter Morfologi dan Ketahanan terhadap Hawar Daun pada Aksesi *Anthurium*. *Laporan Hasil Penelitian*. Balai Penelitian Tanaman Hias, Cianjur. 6 Hlm.
11. Haensch, K.T. 2004. Thidiazuron-induced Morphogenetic Response in Petiole Cultures of *Pelargonium x hortorum* and *Pelargonium x domesticum* and its Histological Analysis. *Plant Cell Rep.* 23:211-217.
12. Han, D.S., Y. Niimi, and M. Nakano. 1997. Regeneration of Haploid Plants from Anther Cultures of the Asiatic Hybrid Lily 'Connecticut King'. *Plant Cell, Tissue and Organ Cultura.* 47:153-158.
13. Ishizaka, H. 1998. Production of Microspore-derived Plants by Anther Culture of an Interspecific F1 Hybrid between *Cyclamen persicum* and *C. purpurascens*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture.* 54:21-28.
14. Izhaki, A., A. Borochov, E. Zamski, and D. Weiss. 2002. Gibberellin Regulates Post-microsporogenesis Processes in Petunia Anthers. *Physiologia Plantarum.* 115:442-447.
15. Kiefer, M., M.P. Fulle, J.E. Chauvin, and A. Schlessner. 1993. Anther Culture of Kale (*Brassica oleracea* L.) convar. *Acephala* (DC). *Plant Cell Tissue and Organ Culture.* 33:303-313.
16. Majada, J.P., Sierra, M.I., and Sanchez-Tames, R. 2001. Air Exchange Rate Affects the In Vitro Developed Leaf Cuticle of Carnation. *Scientia Horticulturae.* 87:121-130.
17. Maluszynski, M., K.J. Kasha, B.P. Forster, and I Szarejsko. 2003. *Double Haploid Production in Crop Plants: A Manual*. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht/Boston/London. 428p.
18. Mohan Jain, S. and N. Bhalla-Sarin. 1997. Haploidy in Petunia. In: Mohan Jain, S., S.K. Sopory and R.E. Veileux (Eds.) *In Vitro Haploid Production in Higher Plants*. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht/Boston/London. 5:53-71.
19. Mroginski, E., H.Y. Rey, A.M. Gonzalez, and L.A. Mroginski. 2004. Thidiazuron Promotes In Vitro Plant Regeneration of *Arachis korrenina* (Leguminosae) via Organogenesis. *J. Plant Growth Regul* 23:129-134.
20. Prakash, J. and KL Giles. 1992. Induction and Growth of Androgenic Haploids. *Rev. Cytol.* 107:273-292.
21. Pedroso, M.C. and M. S. Pais. 1997. Anther and Microspore Culture in *Camellia japonica*. In: Mohan Jain, S., S.K. Sopory and R.E. Veileux (Eds.) *In Vitro Haploid Production in Higher Plants*. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht/Boston/London. 5:89-108.
22. Quimio, C.A. and F.J. Zapata. 1990. Diallel Analysis of Callus Induction and Green Plant Regeneration in Rice Anther Culture. *Crop Sci.* 30:188-192.
23. Rachmawati, F. 2005. Kultur Anther pada Anthurium (*Anthurium andraeanum* Linden ex André). *Thesis*. Departemen Agronomi dan Hortikultura. Fakultas Pertanian. Institut Pertanian Bogor. 146 Hlm.
24. ______. 2006. Studi Regenerasi Beberapa Klon Hasil Pemuliaan *Anthurium* pada Media Regenerasi yang Berbeda. *Laporan Hasil Penelitian*. Balai Penelitian Tanaman Hias, Cianjur (Tidak dipublikasikan). 10 Hlm.
25. Radzan, M.K. 1993. *An Introduction to Plant Tissue Culture*. Intercept. Andover, Hampshire, UK. 398 pp.
26. Saji, K.V. and M. Sujatha. 1998. Embryogenesis and Plant Regeneration in Anther Culture of Sunflower (*Helianthus annuus* L.) *Euphytica* 103:1-7.
27. Singh, N.D., L. Sahoo, N. Bhalla Sarin, and P.K. Jaiwal. 2003. The Effect of TDZ on Organogenesis and Somatic Embryogenesis in Pigeonpea (*Cajanus cajan* L. Millsp.). *Plant Sci.* 164:341-347.
28. Thorpe, T.A. and C. Stasolla. 2001. Somatic Embryogenesis. In: Bhojwani, S.S. and W.Y. Soh (Eds.). *Current Trends in the Embryology of Angiosperms*. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht/Boston/London. pp. 279-336.

29. Van Altvorst A.C., H. Koehorst, J. de Jong, and H.J.M. Dons. 1996. Transgenic Carnation Plants Obtained by *Agrobacterium tumefaciens*-mediated Transformation of Petal Explants. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 169:169-173.
30. Winarto, B. dan F. Rachmawati. 2005. Teknik Kultur Anther pada Pemuliaan *Anthurium*. *J. Hort.* 17(2):127-137.
31. _____, W. Nuryani, E. S. Yusuf, dan Hanudin. 2005. Evaluasi Ketahanan Aksesi *Anthurium* Lokal terhadap Penyakit Hawar Daun. *Laporan Hasil Penelitian*. Balai Penelitian Tanaman Hias. Cianjur. 10 Hlm. (Tidak dipublikasikan).
32. Zhang, C.L., D.F. Chen, M.C. Elliott, and A. Slater. 2001. Thidiazuron-induced Organogenesis and Somatic Embryogenesis in Sugar Beet (*Beta vulgaris L.*). *In Vitro Cell. Dev. Biol.-Plant* 37:305-310.