LAPORAN AKHIR HIBAH PENELITIAN

PROGRAM DUE- *like*

INSTITUT PERTANIAN BOGOR

TAHUN ANGGARAN 2006

JUDUL PENELITIAN: MIKROPROPAGASI DAN RESPON KASTUBA (*Euphorbia pulcherrima* Willd.) TERHADAP KUALITAS CAHAYA DAN FOTOPERIODE DALAM KULTUR *IN VITRO*

KETUA PENELITI: Dewi Sukma, SP. MSi.

PROGRAM STUDI: Hortikultura

INSTITUT PERTANIAN BOGOR
FAKULTAS PERTANIAN
DEPARTEMEN AGRONOMI DAN HORTIKULTURA
BOGOR AGRICULTURAL UNIVERSITY, FACULTY OF AGRICULTURE
DEPARTMENT OF AGRONOMY AND HORTICULTURE
Jl. Meranti, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680; Telp./Fax (0251) 629353
E-mail : agronipb@indo.net.id

SURAT KETERANGAN
NO. 426 /I3.1.2/KP/2008

Yang bertanda tangan di bawah ini Ketua Departemen Agonomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Menerangkan bahwa tulisan atau laporan Saudari : Dewi Sukma, SP MSi dengan judul :

Mikropropagasi dan Respon Kastuba (*Euphorbia pulcherrima Willd.*) terhadap Kuaqalitas Cahaya dan Fotoperiode dalam Kultur in Vitro

Tahun penulisan Agustus 2007

Telah didokumentasikan pada Perpustakaan Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian IPB

Bogor, 10 Juni 2008
Ketua Departemen,

Prof. Dr Ir Bambang S. Purwoko, MSc
NIP. 131 404 220

LEMBAR PENGESAHAN

Judul Penelitian : Mikropropagasi dan Respon Kastuba (*Euphorbia pulcherrima* Willd.) terhadap Kualitas Cahaya dan Fotoperiode dalam Kultur *In Vitro*

Nama Lengkap
Peneliti Utama : Dewi Sukma, SP. MSi.

NIP : 132 166 488

Waktu Penelitian : Mei – November 2006

Total Biaya Penelitian : Rp. 30.000.000,-

Bogor, 14 November 2006

Mengetahui,
Koordinator DUE-*like*
Program Studi

Dr. Ir. Darda Efendi, MSi.
NIP. 131 841 755

Peneliti Utama

Dewi Sukma, SP. MSi.
NIP. 132 166 488

Ketua Departemen

Prof. Dr. Ir. Bambang S. Purwoko, MSc.
NIP. 131 404 220

1. Judul Penelitian : Mikropropagasi dan Respon Kastuba (*Euphorbia pulcherrima* Willd.) terhadap Kualitas Cahaya dan Fotoperiode dalam Kultur *In Vitro*

2. Ketua Peneliti :

   - Nama Lengkap : Dewi Sukma SP. MSi.
   - Jabatan : Asisten Ahli
   - Bidang Keahlian : Kultur Jaringan/Bioteknologi Tanaman

3. Tim Peneliti :

No	Nama Lengkap	Bidang Keahlian	Tugas Dalam Penelitian	Alokasi Waktu (jam/minggu)
1.	Dewi Sukma, SP, MSi.	Fisiologi dan Kultur Jaringan	Koordinator dan Penanggung jawab penelitian– PJ* Penelitian 1,3, 4	15
2.	Prof. Dr. Ir. Nurhajati A. Mattjik, MS	Kultur Jaringan Tanaman dan Bioteknologi	Pembimbing penelitian – PJ Penelitian 2	5
3.	Mahasiswa (Asti Adha Perdani) - Penelitian 1	Hortikultura	Eksplan dan komposisi media dalam inisiasi dan multiplikasi tunas Poinsettia *in vitro*	20
4.	Mahasiswa 2 (Pratiwi Amie Pishesha).	Hortikultura	Eksplan dan komposisi media dalam induksi kalus dan organogenesis Poinsettia *in vitro*	20
5.	Mahasiswa 3 (Muhammad Ibrahim Faruq)	Hortikultura	Komposisi media dalam induksi perakaran tunas Poinsettia *in vitro* dan Respon pertumbuhan dan perkembangan Poinsettia terhadap kualitas cahaya dan fotoperiode *in vitro*	20

*PJ = Penanggung Jawab

4. Subjek Penelitian

   Penelitian ini menggunakan tunas pucuk dan buku dari kastuba (*Euphorbia pulcherrima* Willd.) yang memiliki braktea berwarna merah. Penelitian difokuskan pada studi untuk mencari media inisiasi dan multiplikasi tunas aksilar/adventif, media induksi kalus/embrio dan regenerasi tunas adventif dari kalus, serta media untuk menginduksi akar pada tunas poinsettia *in vitro.* Disamping itu juga diteliti respon pertumbuhan tunas terhadap pencahayaan *in vitro* meliputi aspek kualitas cahaya dari lampu yang dominan memberikan cahaya merah dengan lampu yang dominan memberikan cahaya biru. Aspek kualitas cahaya di dikombinasikan dengan fotoperiode untuk melihat respon morfogenesis dan fisiologis seperti pembentukan perubahan kandungan klorofil, pemanjangan batang, pembungaan ataupun pembentukan warna braktea.

5. Periode Pelaksanaan

   Mulai : 7/Mei/ 2006 Berakhir : 13/November / 2006

6. Jumlah Anggaran yang Digunakan:

   Rp. 30.000.000,- (Tiga puluh juta rupiah).

7. Lokasi Penelitian :

   Laboratorium Bioteknologi Tanaman, Departemen Agronomi dan Hortikultura, Faperta IPB

8. Hasil penelitian :

   a. Dapat diperoleh jenis eksplan dan komposisi media yang optimal untuk inisiasi dan multiplikasi kultur tunas poinsettia *in vitro*.
   b. Dapat diperoleh komposisi media yang optimal untuk menginduksi kalus/embrio dan regenerasi tunas adventif dari kalus poinsettia *in vitro*.
   c. Dapat diperoleh komposisi media yang optimal untuk menginduksi pengakaran tunas poinsettia *in vitro*..
   d. Dapat diketahui respon morfologi dan fisiologi tunas poinsettia terhadap kualitas, cahaya dan fotoperiode *in vitro* dan kemungkinan untuk terjadinya inisiasi pembungaan dan *colouring* braktea *in vitro.*

9. Keterangan lain yang dianggap perlu : tidak ada

RINGKASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan teknik perbanyakan *in vitro* (mikropropagasi) tanaman kastuba (*Euphorbia pulcherrima* Willd.) mulai dari inisiasi kultur steril, multiplikasi tunas, pengakaran, perbanyakan melalui pembentukan tunas adventif dari kalus dan embriogenesis somatik. Disamping itu juga dipelajari respon fisiologi dan morfologi tunas terhadap kualitas cahaya dan fotoperiode dalam kultur *in vitro*. Penelitian ini terdiri dari 4 percobaan utama yaitu inisiasi dan multiplikasi kultur tunas, inisiasi dan multiplikasi kalus/embrio, pengakaran tanaman hasil kultur tunas dan tanaman asal embriogenesis somatik dan evaluasi respon tanaman asal kultur tunas dan asal embriogenesis terhadap kualitas cahaya dan fotoperiode *in vitro*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa inisiasi dan multiplikasi kultur tunas dapat diperoleh pada media D3 (MS + BA 0.5 ppm), D4 (MS + BA 1 ppm) dan D7 (MS + BA 0.3 ppm). Namun media yang memberikan morfologi tunas paling baik adalah media D7. Saat ini masih sedang berlangsung pengamatan untuk laju multiplikasi pada 3 media tersebut.

Embriogenesis somatik telah diperoleh melalui inisiasi kultur dalam media M1 (MS + BA 2 ppm) yang kemudian dipindahkan ke media D3 (MS + BA 0.5 ppm). Perkembangan embrio dapat dilihat secara mikroskopis yang menunjukkan adanya tahapan pradikotiledonari dan dikotileonari. Embrio yang sudah berkecambah umumnya berwarna hijau. Namun ditemui adanya variasi yang ditunjukkan oleh tanaman albino. Sampai saat ini kultur embrio sudah memasuki tahap sub kultur ke 6 untuk pembesaran tanaman dan induksi pengakaran. Pengakaran tanaman asal kultur tunas sedang dalam tahap persiapan eksplan dan perbanyakan tunas sedangkan pengakaran tanaman asal embrio sedang dalam pengamatan. Percobaan untuk mengetahui respon morfologi dan fisiologi tanaman terhadap kualitas cahaya dan fotoperiode *in vitro* sedang dalam tahap persiapan eksplan untuk mendapatkan eksplan yang morfologi dan diferensiasi daunnya sempurna.

Secara keseluruhan dapat disimpulkan bahwa mikropropagasi poinsettia melalui embriogenesis somatik jauh lebih cepat dibandingkan melalui kultur tunas. Meskipun demikian terdapat kemungkinan adanya variasi somaklonal dari tanaman hasil embriogenesis somatik. Kestabilan produksi embrio somatik sekunder juga memungkinkan induksi variasi somaklonal untuk mendapatkan variasi genetik tanaman.

PRAKATA

Puji syukur kami panjatkan ke hadirat Allah SWT, yang telah melimpahkan nikmat dan karunia-NYA, sehingga kami dapat menyelesaikan laporan akhir hasil penelitian Hibah DUE-*like* tahun 2006. Penelitian ini berjudul : Mikropropagasi dan Respon Kastuba (*Euphorbia pulcherrima* Wild.) terhadap Kualitas Cahaya dan Fotoperiode dalam Kultur *In Vitro*.

Penulis menyampaikan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada Dirjen Pendidikan Tinggi Departemen Pendidikan Nasional melalui Projek DUE-*like*, yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk melakukan penelitian ini. Terimakasih juga penulis sampaikan kepada Pimpinan IPB, Dekan Fakultas Pertanian IPB, Ketua Departemen Agronomi dan Hortikultura Faperta IPB, Koordinator Program Studi Hortikultura/DUE-*like* Hortikultura, serta Kepala Bagian Bioteknologi Tanaman, Departemen Agronomi dan Hortikultura Faperta IPB atas fasilitas yang telah disediakan yang dapat mendukung terlaksananya penelitian ini.

Pelaksanaan penelitian ini melibatkan mahasiswa Program Studi Hortikultura, dalam rangka penelitian untuk penulisan skripsi. Hasil penelitian ini diharapkan memberikan kontribusi bagi pengembangan sistem produksi bibit tanaman hias khususnya kastuba dan pengembangan ilmu pengetahuan yang berkaitan dengan respon morfologi dan fisiologi tanaman terhadap cahaya dalam lingkungan kultur *in vitro*. Semoga laporan ini memberi tambahan informasi bagi pihak-pihak yang memerlukannya. Amin.

Bogor, November 2006

Tim Peneliti

DAFTAR ISI

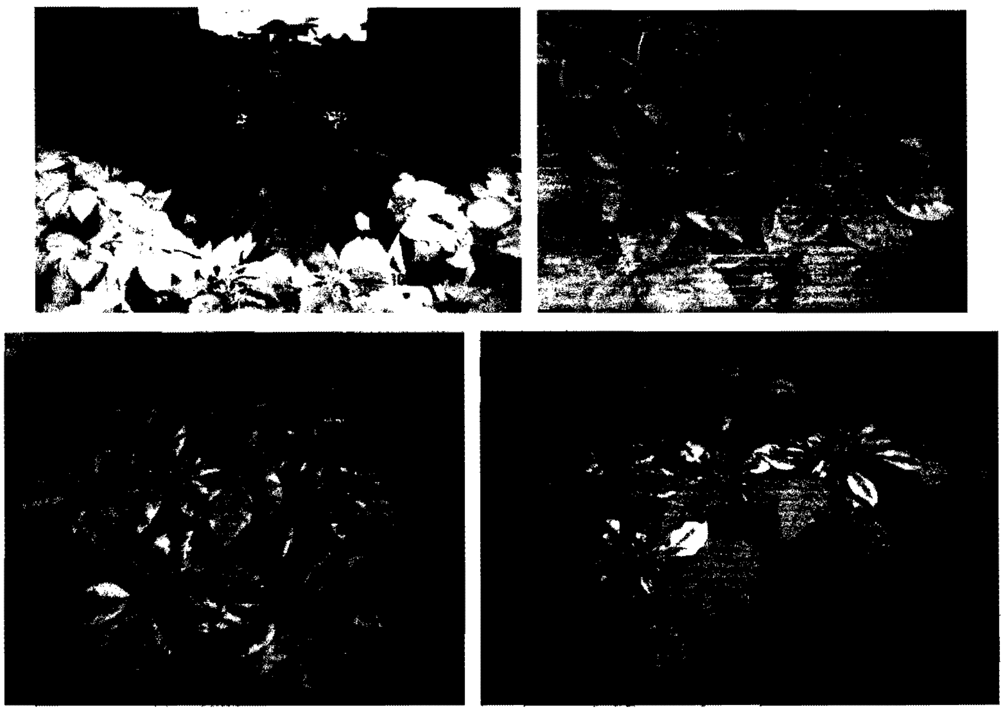
DAFTAR TABEL

DAFTAR GAMBAR

DAFTAR LAMPIRAN

I. PENDAHULUAN

Poinsettia atau di Indonesia dikenal dengan kastuba (*Euphorbia pulcherrima* Willd. Ex Klotzch) berasal dari daerah semitropik Meksiko. *Euphorbia pulcherrima* Willd. Ex Klotzch) termasuk ke dalam Genus Euphorbia, famili Euphorbiaceae. Genus Euphorbia merupakan genus yang memiliki jumlah spesies sangat banyak yaitu sekitar 700 hingga 1000 spesies (Hartley, 1992). *Euphorbia pulcherrima* menarik karena warna brakteanya yang menyolok seperti merah, kuning atau oranye dan menjadi bunga favorit untuk perayaan natal dan juga perayaan hari kemerdekaan. Kastuba yang memiliki braktea merah misalnya pernah menjadi bunga andalan untuk parade perayaan kemerdekaan Indonesia untuk membentuk formasi rangkaian bunga merah putih.



Gambar 1. Beberapa variasi warna braktea pada bunga kastuba. Warna braktea bervariasi seperti merah, kuning, merah keunguan, merah muda atau kuning variegata.

Di Indonesia saat ini, kastuba merupakan salah satu jenis tanaman hias pot yang banyak digemari dan bernilai ekonomi tinggi. Pada musim perayaan Natal, permintaan terhadap tanaman ini meningkat dan harga tanaman per pot dapat mencapai Rp 70.000 (www.liputan6.com, 2005). Prospek usaha tanaman hias pot kastuba cukup cerah mengingat potensi pemasaran yang sangat luas di Indonesia dan juga untuk ekspor ke luar negeri. Banyak perusahaan tanaman hias yang mulai mengusahakan tanaman ini seperti PT Bina Usaha Flora dan PT Saung Mirwan. PT Saung Mirwan yang dulu bergerak dalam produksi Chrysanthemum, saat ini sudah mulai memproduksi tanaman Ponsettia. Varietas yang kembangkan umumnya adalah varietas introduksi dengan bahan tanaman berupa stek dibeli dari PT Gerania Flora.

Secara konvensional tanaman ponsettia diperbanyak dengan stek pucuk. Pengakaran stek pucuk tidak begitu sulit asalkan kondisi lingkungan bersih dengan kelembaban tinggi dan temperatur yang optimal. Masalah yang sering timbul dalam waktu pembibitan adalah penyakit yang biasanya bersumber dari media yang tidak steril atau lingkungan yang kotor. Kelembaban tinggi biasanya diberikan dengan *intermittent mist system* atau *fog system* (pengkabutan). Suhu hangat pada media (sekitar 72-74^{0}F) biasanya diperlukan selama induksi pengakaran stek. Dalam kondisi lingkungan optimal stek dapat membentuk akar dalam waktu 14 – 21 hari (Hartley *dalam* Larson, 1992).

Permasalahan utama dalam perbanyakan konvensional dengan stek adalah terbatasnya jumlah stek yang dapat diambil dari pohon induk. Menurut Poinsettia Cultural Information (2006), dari tanaman induk berumur 22 minggu yang telah di *pinching* satu kali dihasilkan 3 tunas baru per minggu untuk di stek pada minggu ke 27, 28 dan 29. Untuk mendapatkan stek dalam jumlah besar diperlukan jumlah pohon induk yang banyak, dan ini memerlukan tempat atau lahan yang lebih luas. Biaya pemeliharaan pohon induk dapat menjadi komponen biaya tersendiri karena pohon induk harus terjaga sehat, bebas hama dan penyakit dan dalam kondisi juvenil/vegetatif tinggi untuk menghasilkan pertumbuhan stek yang banyak. Untuk mempertahankan pohon induk dalam kondisi pertumbuhan vegetatif, tanaman induk harus selalu diberi perlakuan hari panjang dengan penambahan cahaya lampu. Perlakuan hari panjang pada pohon induk akan meningkatkan biaya produksi melalui komponen biaya listrik.

Perbanyakan tanaman melalui kultur jaringan atau mikropropagasi merupakan salah satu alternatif untuk dapat menjamin ketersediaan bibit tanaman dalam jumlah besar dan dalam waktu yang relatif singkat. Tanaman induk atau stok dapat dipelihara dalam kultur *in vitro* dalam jangka waktu tertentu untuk menjamin kestabilan genetiknya. Kondisi lingkungan mikropropagasi yang steril menjamin untuk dihasilkannya bahan tanaman yang sehat dan bebas hama penyakit.

Salah satu kendala dalam perbanyakan *in vitro* adalah diperlukannya biaya investasi yang cukup besar untuk pembangunan dan operasional laboratorium kultur jaringan. Akibatnya biaya produksi bibit tanaman bisa menjadi tinggi. Namun efisiensi produksi bibit dapat ditingkatkan jika laju propagasi atau laju multiplikasi tanaman dalam kultur *in vitro* dapat ditingkatkan. Komponen penting dalam mengoptimalkan laju propagasi tanaman dalam kultur *in vitro* adalah komposisi media kultur. Pencarian komposisi media yang optimal untuk perbanyakan tanaman secara komersial dengan teknik kultur jaringan merupakan tahapan penting sehingga efisiensi produksi bibit dapat peroleh.

Keberhasilan mendapatkan bibit tanaman yang berkualitas dari kultur jaringan juga ditentukan oleh kondisi lingkungan kultur seperti suhu, kelembaban, komposisi gas dan cahaya. Williams (2005) mengemukakan bahwa manipulasi lingkungan dalam kultur *in vitro* bertujuan untuk mengontrol perkembangan tanaman, mengoptimalkan laju pertumbuhan dan morfologi tanaman, mempertahankan kualitas tanaman serta mengaklimatisasi tanaman terhadap kondisi tertentu.

Secara alami dalam lingkungan intensitas cahaya matahari normal di rumah kaca atau di lapangan, tanaman kastuba merupakan tanaman hari pendek atau akan berbunga ketika mendapatkan penyinaran yang lebih pendek dari panjang hari normal atau mengalami periode gelap yang lebih panjang (Hartley, 1992). Hartley (1992) juga menyatakan bahwa kualitas cahaya merupakan faktor penting untuk pembungaan dan pemanjangan batang kastuba. Cahaya merah lebih efektif dan efisien di banding cahaya biru untuk mempertahankan pertumbuhan vegetatif tanaman atau untuk mencegah inisiasi bunga. Disamping itu cahaya merah juga mendorong pemanjangan batang. Dalam kondisi ruang kultur *in vitro,* intensitas cahaya sangat rendah yaitu sekitar 10-50 $\mu mol.m^{-2}.s^{-1}$ (Williams, 2005). Kualitas cahaya yang dihasilkan dari lampu fluoresens yang umum digunakan dalam ruang kultur *in vitro* didominasi oleh cahaya biru. Karena faktor fotoperiode dan kualitas cahaya merupakan faktor penting dalam perkembangan tanaman poinsenttia maka perlu diteliti pengaruh fotoperiode dan kualitas cahaya (biru yang dapat dihasilkan dari lampu flourescen dan cahaya merah yang dapat dihasilkan dari lampu pijar) terhadap pertumbuhan dan perkembangan tanaman kastuba dalam kultur *in vitro*.

Beberapa jenis tanaman telah dilaporkan dapat mengalami pembungaan dalam kondisi *in vitro* seperti tebu (Virupakshi *et al.* 2000), *Ceropegia bulbosa* (Britto *et al.* 2003), mawar (*Rosa hibrida*) (Mohapatra *et al.* 2005), walnut (*Juglans regia*) (Bretton *et al.* 2004), *Boronia megastigma* Ness. (Roberts *et al.* 1993) dan beberapa tanaman lainnya. Terjadinya pembungaan *in vitro* pada tanaman-tanaman di atas sekilas menunjukkan bahwa intensitas cahaya yang tinggi tidak selalu dibutuhkan dalam induksi pembungaan. Namun pada kastuba belum ada laporan yang menyebutkan terjadinya pembungaan *in vitro*. Karena itu penelitian ke arah pembungaan *in vitro* perlu dilakukan untuk mendalami lebih lanjut mekanisme pembungaan pada tanaman kastuba.

Teknik kultur jaringan juga dapat digunakan untuk menciptakan variasi tanaman baru atau dikenal dengan variasi somaklonal. Variasi somaklonal tidak diinginkan dalam mikropropagasi tanaman untuk menghasilkan tanaman yang "true to type". Sebaliknya dari segi perbaikan sifat atau perbaikan genetik tanaman, variasi somaklonal merupakan salah satu alternatif untuk mendapatkan variasi tanaman baru. Khusus untuk tanaman hias, adanya variasi merupakan faktor penting untuk mempertahankan keberlanjutan bisnis tanaman hias.

Jayasangkar (2005) menyatakan bahwa variasi somaklonal merupakan variasi atau perbedaan yang muncul pada tanaman hasil perbanyakan dengan kultur jaringan sehingga menampilkan sifat yang berbeda dari tanaman induknya. Penyebab munculnya variasi somaklonal dapat karena karena ekpos tanaman yang terlalu lama dengan zat pengatur tumbuh tertentu seperti 2,4D, variasi genetik karena *rearrangement* kromosom dan rekombinasi somatik (Jayasankar 2005). Sahijram *et al.* (2003) menyatakan bahwa variasi somaklonal seperti yang telah ditelitinya pada pisang, antara lain dapat bersumber dari keberagaman eksplan, umur kultur atau jumlah siklus sub kultur dan pengaruh zat pengatur tumbuh yang digunakan dalam kultur *in vitro*. Sementara Schwarz *et al.* (2005) menyatakan bahwa organogenesis secara tidak langsung (*indirect organogenesis*), dimana regenerasi tanaman baru melewati fase kalus, dapat meningkatkan kemungkinan terjadinya variasi somaklonal.

Sampai saat ini masih sangat sedikit informasi yang berhubungan dengan pemanfaatan variasi somaklonal untuk menciptakan variasi baru tanaman kastuba. Karena itu dalam penelitian ini akan dilakukan percobaan induksi kalus/embrio dan *indirect organogenesis/embriogenesis* tanaman kastuba untuk meningkatkan peluang perolehan variasi somaklonal tanaman kastuba.

II. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

Penelitian ini bertujuan untuk :

1. Mengetahui respon pertumbuhan dan multiplikasi tunas kastuba dari eksplan pucuk dan buku pada beberapa komposisi media kultur *in vitro.*
2. Mengetahui respon pembentukan kalus/embriogenesis kastuba dalam beberapa komposisi media kultur *in vitro.*
3. Mengetahui respon pembentukan akar tunas kastuba dalam beberapa kombinasi media induksi pengakaran *in vitro.*
4. Mengetahui respon morfologi dan fisiologi tunas pada perlakuan kualitas cahaya dan fotoperiode dalam kultur *in vitro.*

Manfaat penelitian:

1. Perbanyakan bibit kastuba dengan stek mengalami kendala untuk penyediaan bibit yang bersih, sehat dan bebas hama dan penyakit dalam jumlah besar dan waktu yang relatif singkat. Penggunaan teknik kultur jaringan dapat diaplikasikan untuk menjamin ketersediaan bibit kastuba dalam produksi komersial.
2. Faktor lingkungan terutama fotoperiode dan cahaya berpengaruh besar terhadap perkembangan tanaman kastuba. Penelitian ini juga dapat melihat kemungkinan pembungaan/pembentukan warna kastuba *in vitro* sehingga menghasilkan variasi produk baru dari kultur jaringan tanaman berupa terarium tanaman hias in vitro.
3. Variasi merupakan faktor penting dalam perkembangan bisnis tanaman hias. Kultur jaringan dapat menciptakan variasi baru tanaman hias antara lain melalui induksi variasi somaklonal melalui organogenesis tidak langsung. Untuk itu diperlukan pengembangan metode kultur jaringan yang dapat mendorong terjadinya variasi somaklonal dalam hal ini dengan organogenesis tidak langsung (*indirect organogenesis/embriogenesis*).
4. Penelitian ini melibatkan mahasiswa program studi hortikultura karena bagian dari penelitian ini akan menjadi bahan untuk penelitian dalam rangka penulisan skripsi. Bantuan dana melalui penelitian dan keterlibatan mahasiswa dalam penelitian ini akan membantu meningkatkan kemampuan mahasiswa dalam melaksanakan penelitian dan diharapkan dapat mempercepat penyelesaian studi mahasiswa.

II. TINJAUAN PUSTAKA

Kultur Jaringan Tanaman Poinsettia

Kultur jaringan kastuba belum begitu banyak dilaporkan. Penelitian awal pada kultur jaringan kastuba dilaporkan oleh Nataraja *et al.* (1973) *dalam* Pickens *et al.* (2005), yang mengecambahkan biji kastuba dalam media dasar White dan mempelajari pengaruh berbagai faktor seperti BA, 2iP, dan 2,4D terhadap perkecambahan biji kastuba *in vitro.* Selanjutnya Nataraja *et al.* (1975) juga meneliti pengaruh air kelapa, GA, IAA, kinetin, BA dan 2,4D terhadap pembentukan kalus embriogenik dan perkecambahan embrio dari kalus embriogenik tersebut. Regenerasi tunas kastuba dari kalus berwarna merah diperoleh dari kultur eksplan ruas buku dalam media yang mengandung IAA dalam konsentrasi yang rendah dikombinasikan dengan konsentrasi kinetin yang tinggi (de Langhe *et al.* 1975 *dalam* Pickens *et al.* 2005).

Roy dan Ali Jinnah (2001) melaporkan mikropropagasi kastuba dengan menggunakan eksplan pucuk tunas dan buku. Proliferasi tunas diperoleh pada media MS yang ditambahkan BA 1.5 mg/l, kinetin 0.5 mg/l dan air kelapa 15%. Multiplikasi tunas diperoleh kembali dengan memindahkan tunas ke media yang sama dengan rata-rata jumlah tunas baru yang diperoleh sekitar 25 tunas per sub kultur. Panjang tunas dapat ditingkatkan dengan perlakuan 100 mg/l casein hydrolisate. Sedangkan pengakaran tunas dilakukan dalam media MS yang ditambahkan IBA 1.0 mg/l dan IAA 0.5 mg/l. Keberhasilan hidup planlet dilapangan mencapai 85% dengan regeneran secara serempak berbunga setelah 6 bulan di lapang.

Pickens *et al.* (2005) melaporkan mikropropagasi kastuba kultivar Winter Rose^{TM} dari eksplan mata tunas terminal atau aksilar dan jaringan daun dari tunas *in vitro*. Hasil penelitian Pickens *et al.* (2005) tersebut menunjukkan bahwa eksplan tunas terminal mengalami multiplikasi paling banyak melalui pembentukan tunas aksilar pada media MS yang ditambahkan BA antara 2.2 hingga 8.8 µM. Jumlah tunas aksilar yang dihasilkan meningkat dengan peningkatan konsentrasi BA. Sebaliknya perlakuan TDZ pada konsentrasi antara 2.3 hingga 23.0 µM menyebabkan tunas mengalami *hyperhydricity* dan tidak efektif untuk mendorong proliferasi tunas. Kalus dan tunas paling banyak dihasilkan pada potongan pembuluh daun dari tanaman *in vitro* dalam media MS yang ditambahkan 8.8 – 13.3 μM BA dan 17.1 μM IAA selama satu bulan sebelum dipindah ke media yang hanya ditambahkan BA. Tunas adventif dihasilkan dari kalus yang membentuk pigmen merah dan tunas yang dihasilkan membentuk akar pada media yang ditambahkan IAA.

Faktor cahaya dan hormon dalam morfogenesis tanaman *in vitro*

Ausin *et al.* (2005) menyatakan bahwa cahaya merupakan faktor lingkungan yang kompleks dengan berbagai komponen signal seperti kualitas cahaya, intensitas cahaya, fotoperiode dan arah cahaya yang secara berbeda akan memodulasi berbagai aspek perkembangan tanaman. Kualitas cahaya dan fotoperiode merupakan salah satu faktor yang paling berpengaruh terhadap waktu pembungaan.

Williams *dalam* Taji dan Williams (2002) menyatakan bahwa kualitas cahaya merupakan faktor lingkungan yang sering diteliti lebih dalam dalam kultur *in vitro.* Hal ini disebabkan adanya pengaruh kualitas cahaya terhadap morfogenesis tanaman *in vitro* (Morini *et al.* 2000) dan terhadap "swicth" antara lintasan gametofitik dan sporofitik (Williams, 2002).

Saebo *et al.* (2000) melaporkan pengaruh kualitas cahaya terhadap respon fisiologi dan morfogenesis tanaman *Betula pendula* Rooth. *in vitro.* Saebo *et al.* ( ) menemukan bahwa cahaya lampu yang dominan dengan warna biru mendorong fotosintesis paling baik pada tanaman *Betula pendula* Rooth *in vitro* dibandingkan cahaya merah dan merah jauh. Kualitas cahaya juga berpengaruh pada total area luas daun dimana area luas daun terbesar diperoleh pada cahaya biru atau cahaya merah + merah jauh, dan paling kecil pada cahaya merah terang yang tidak ditambahi cahaya biru atau cahaya merah jauh. Tanaman yang mendapatkan cahaya biru memiliki rasio palisade yang lebih tinggi terhadap jaringan mesofil, dibandingkan tanaman yang mendapatkan cahaya merah + merah jauh.

Pengaruh intensitas cahaya terhadap morfogenesis *in vitro* pernah diteliti Soontornchainaksaeng *et al.* (2001) pada dua jenis anggrek yaitu *Phaius tankervilliae* dan *Vanda coerulea.* Planlet dari kedua anggrek tersebut ditempatkan pada beberapa taraf intensitas cahaya yaitu 28, 37, 56, 74 dan 93 $\mu mol^{-2}s^{1-}$ atau setara dengan 1500, 2000, 3000, 4000 dan 5000 lux dari sumber cahaya lampu tabung infloresen. Kultur ditempatkan pada suhu 25±2°C dengan fotoperiode 16 jam selama 2 bulan. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa akumulasi bahan kering, jumlah dan perkembangan luas area daun pada kedua spesies tersebut paling baik pada intensitas cahaya 74 $\mu mol^{-2}s^{-1}$ atau sekitar 4000 lux.

Salah satu respon morfogenesis pada tanaman dalam kultur *in vitro* adalah terjadinya pembungaan, seperti yang dilaporkan Viruphaksi *et al.* (2002) pada kultur kalus tebu *in vitro*. Perkembangan infloresen pada kultur kalus tebu diperoleh pada media MS yang ditambahkan 2,4D 3 mg/l, polyvinilpirolidon 100 mg/l dan air kelapa 10% serta asam amino prolin 40 mg/l. Perkembangan infloresen pad kultur kalus tebu tersebut kemungkinan disebabkan oleh respon terhadap fotoperiode dan penambahan prolin dalam media kultur atau karena pengaruh kumulatif keduanya.

Terjadinya pembungaan *in vitro* diduga merupakan akibat interaksi dari beberapa faktor dalam lingkungan *in vitro*. Britto *et al.* (2003) menemukan bahwa BA dan GA mendorong terjadinya pembungaan pada kultur *in vitro Ceropegia bulbosa* yaitu pada media B5 yang ditambah GA 1 mg/l dan BA 0.5 mg/l. Sementara Stephen dan Jayabalan (1998) dan Thiruvengadam dan Jayabalan (2001) melaporkan terjadinya pembungaan *in vitro* pada *Coriandum sativum* L. dan *Vitex negundo* L. pada kombinasi IAA (0.15 mg/l) dan GA (0.5 mg/l). Bodhipadma dan Leung (2003) menemukan pembungaan *in vitro* pada *Capsicum annum* L. cv. Sweet banana dalam media MS mengandung NAA 1 mg/l. Pada mawar, pembungaan *in vitro* terjadi pada media MS yang mengandung BAP 1 mg/l, adenin sulfat 50 mg/l dan IAA 0.001 mg/l, pada umur kultur 12 minggu dengan frekwensi pembungaan *in vitro* melebihi 50% tergantung jenis kultivarnya (Mohapatra *et al.* (2005). Chithra *et al.* (2004) melaporkan bahwa silver nitrat (11.7 µM) dan NAA (2.69 µM) dalam media MS1/2 mendorong terjadinya pembungaan *in vitro* pada tanaman obat aromatik berkayu *Rotula aquatica* Lour.

Naor *et al.* (2003) menemukan adanya pola yang sama dalam respon pembungaan *in vivo* dan *in vitro*. pada *Zantedeschia* spp. *Zantedeschia* spp. merupakan tanaman hari netral dan pembungaannya tidak diinduksi oleh signal dari lingkungan. Namun pembungaan pada *Zantedeschia* spp. dapat ditingkatkan dengan perlakuan GA3 atau GA4+7 dan BA. Perlakuan GA menghasilkan diferensiasi infloresen pada tunas dari umbi *in vivo* dan juga pada planlet *in vitro.* Perlakuan BA secara terus menerus mendorong pertumbuhan tunas aksilar. Perlakuan BA yang dikombinasikan dengan satu kali perlakuan GA mendorong diferensiasi bunga pada tunas utama dan tunas aksilar pada tanaman asal umbi *in vivo* dan planlet *in vitro.* Dengan demikian Nour *et al.* (2003) menyimpulkan bahwa BA secara tidak langsung mempengaruhi pembungaan dengan mendorong pertumbuhan tunas aksilar yang berespon terhadap perlakuan GA3. Nour *et al.* (2003) juga menyatakan bahwa perubahan level GA3 kemungkinan memainkan peranan utama dalam transisi dari fase vegetatif ke reproduktif, dan baik giberelin maupun sitokinin terlibat dalam inisiasi dan perkembangan bunga. Terjadinya pembungaan *in vitro* pada tanaman hari netral *Zantedeschia* spp. dapat menjadi model untuk mempelajari perkembangan infloresen pada tanaman berhari netral.

Pengaruh cahaya dan fotoperiode terhadap morfogenesis kastuba *in vitro* belum pernah dilaporkan, sehingga belum diketahui apakah pembungaan pada kastuba dapat terjadi pada intensitas cahaya rendah dalam lingkungan kultur *in vitro.*

Variasi somaklonal tanaman hasil mikropropagasi

Mikropropagasi pada berbagai industri tanaman hortikultura mulai berkembang sejak tahun 1970-an, termasuk pada berbagai jenis tanaman hias penting. Mikropropagasi menjadi populer karena pada beberapa tanaman menunjukkan efisiensi yang tinggi, fitosanitari yang baik serta kemungkinan untuk mengontrol kualitas tanaman dengan baik (Hempel, 1989). Namun kontrol kualitas tanaman hanya dapat diperoleh jika dimiliki pengetahuan yang cukup tentang reaksi fisiologi jaringan tanaman dalam kultur jaringan terhadap berbagai faktor yang diberikan. Aberasi fenotip pada tanaman hasil perbanyakan *in vitro* disebabkan kondisi artifisial yang diberikan ke tanaman dalam hal cahaya (intensitas cahaya rendah 500-5000 lux), kelembaban udara yang relatif tinggi, komposisi media artifisial, dan komposisi udara yang berbeda dari kondisi *in vivo* (Hempel, 1989). Menurut Hempel (1989) kondisi artifisial tersebut mendorong proses organogenesis tertentu tetapi juga bisa menyebabkan gangguan fisiologi seperti vitrifikasi, heterotrof, segregasi kimera, rejuvenasi dan penyimpangan morfogenesis.

Variasi somaklonal merupakan variasi yang ditemukan pada tanaman yang diregenerasikan dari kultur *in vitro (* (Larkin dan Scowcroft, 1981) Variasi somaklonal dapat diturunkan seperti melalui meiosis dan biasanya bersifat tidak balik. Variasi somaklonal dapat dillihat melalui analisis fenotip, struktur dan jumlah kromosom, protein atau langsung dilihat pada tingkat DNA (De Klerk, 1990). Disamping variasi somaklonal, sumber lain dari variasi yang terlihat pada tanaman dari kultur jaringan adalah variasi epigenetik yang menunjukkan adanya modifikasi ekspresi gen yang berpotensi bersifat balik, perubahan struktur kromatin dan atau metilasi DNA (Henikoff dan Matzke, 1997).

Variasi morfologi yang dihasilkan dari variasi somaklonal telah dipelajari secara ekstensif pada beberapa jenis tanaman pangan, buah dan tanaman hias. Variasi morfologi yang muncul antara lain terjadi pada perubahan bentuk dan warna bunga, morfologi daun, warna daun, tinggi tanaman, dan ketahanan terhadap hama dan penyakit (Bajaj, 1990; Hammerschlag, 1992).

Variasi somaklonal yang terjadi pada tanaman buah dan pangan sebagian besar menurunkan nilai ekonomi produk. Sebaliknya pada tanaman hias, variasi somaklonal dapat meningkatkan nilai produk karena dari variasi somaklonal dapat diperoleh variasi tanaman baru yang unik. Boxus (1998) menyatakan bahwa regenerasi tanaman melalui kalus yang diinduksi dari eksplan daun, potongan batang, bagian-bagian bunga akan menghasilkan tunas adventif. Jalur regenerasi melalui proliferasi tunas adventif merupakan suatu proses yang dapat meningkatkan variasi somaklonal dibandingkan regenerasi melalui profliferasi tunas aksilar. Faktor-faktor lain yang juga dapat meningkatkan terjadinya variasi somaklonal adalah umur kultur serta jumlah dan jenis zat pengatur tumbuh yang digunakan dalam media kultur.

IV. METODE PENELITIAN

Penelitian ini terdiri dari 4 percobaan sebagai berikut :

I. Pengaruh eksplan dan komposisi media terhadap keberhasilan inisiasi dan multiplikasi tunas poinsettia *in vitro.* (Dewi Sukma dan Asti Adha Perdani)

Tujuan percobaan :

Mendapatkan jenis eksplan dan komposisi media yang optimal untuk inisiasi kultur dan multiplikasi tunas poinsettia *in vitro.*

Bahan dan Alat :

Bahan dan alat-alat yang digunakan meliputi media dasar MS, zat pengatur tumbuh auksin dan sitokinin, bahan tanaman berupa tunas pucuk dan buku dari poinsettia kultivar "Silver Red", bahan-bahan untuk sterilisasi eksplan, gula, dan agar. Sedangkan alat-alat yang digunakan meliputi alat-alat gelas untuk pembuatan media, alat-alat untuk sterilisasi media (autoklaf), alat-alat tanam (laminar air flow cabinet, gunting, pinset, pisau, scalpel), rak kultur dan alat-alat bantu lainnya.

Metode Percobaan:

Percobaan terdiri dari dua tahap yaitu tahap inisiasi kultur dan tahap multiplikasi tunas. Pada tahap inisiasi kultur disusun percobaan dengan 2 faktor yaitu jenis eksplan dan komposisi media inisiasi. Jenis eksplan terdiri dari :

E1 (tunas pucuk/apikal)

E2 (tunas buku/node)

Media inisiasi terdiri dari :

Media inisiasi 1: MS + BA 0.5 ppm

Media inisiasi 2 : MS + BA 1.0 ppm

Media inisiasi 3: MS + BA 2.0 ppm

Dengan demikian terdapat 6 kombinasi perlakuan pada tahap inisiasi kultur. Setiap kombinasi perlakuan diulang minimal sebanyak 20 kali/20 botol dengan 2 eksplan per botol.

Pada tahap multiplikasi tunas digunakan 2 macam komposisi media yaitu :

Media multiplikasi 1 : MS + BA 0.3 ppm

Media multiplikasi 2 : MS + BA 0.4 ppm

Media multiplikasi 3 : MS + BA 0.5 ppm

Media multiplikasi 4 : MS + BA 1 ppm

Dengan demikian pada tahap multiplikasi tunas terdapat 6 asal kultur dari tahap inisiasi dikombinasikan dengan 2 media multiplikasi sehingga terdapat 12 kombinasi perlakuan. Percobaan ditempatkan dalam rancangan lingkungan acak lengkap (RAL). Semua media ditambahkan sukrosa 30 g/l dan agar 7 g/l. Setiap kombinasi perlakuan terdiri dari sekurang-kurangnya 10 ulangan (10 botol) dengan 2 eksplan per botol.

Pelaksanaan percobaan :

Pohon induk yang masih dalam tahap perkembangan vegetatif (belum berbunga) diambil pucuk terminal dan buku (satu buku) , dicuci dengan deterjen lalu dibilas di air mengalir selama 1 jam. Selanjutnya eksplan disterilisasi permukaan dengan benlate dan agrep 2 g/l selama sekitar 2 jam dicuci bersih dengan air akuades steril. Sterilisasi lanjutan dilakukan dalam laminar air flow cabinet dengan merendam eksplan dalam larutan clorox 30% (20 menit), 20% (15 menit) dan 10% (10 menit). Kemudian eksplan dibilas 3 kali dengan air steril lalu ditanam di media inisiasi. Setelah sekitar 1-1.5 bulan di media inisiasi eksplan selanjutnya dipindah ke media multiplikasi.

Pengamatan

Peubah yang diamati pada tahap inisiasi meliputi persentase keberhasilan sterilisasi/persen kontaminasi kultur, persen eksplan yang masih hijau dan segar (hidup), persen eksplan membentuk kalus, persen eksplan membentuk tunas dan jumlah tunas.

Peubah yang diamati pada tahap multiplikasi meliputi jumlah tunas baru yang tumbuh, jumlah daun, panjang tunas, warna tunas (dengan cholour chart), persen tunas membentuk akar (jika ada yang membentuk akar), dan jumlah akar.

Analisis data :

Data yang didapatkan akan dianalisis ragam dan jika terdapat pengaruh nyata dari perlakuan akan dilanjutkan dengan uji berganda Duncan (DMRT).

II. Pengaruh eksplan dan komposisi media keberhasilan inisiasi kalus dan regenerasi tunas adventif dari kalus poinsettia *in vitro.* (Nurhayati A. Mattjik, Dewi Sukma, danPratiwi Amie Pisesha)

Tujuan percobaan :

Mendapatkan media yang optimal untuk inisiasi kalus dan media regenerasi tunas adventif dari kalus.

Bahan dan alat :

Bahan tanaman, bahan kimia dan peralatan yang digunakan sama dengan percobaan 1.

Metode Percobaan :

Pada tahap inisiasi kalus digunakan perlakuan faktorial yaitu jenis eksplan dan media inisiasi kalus/embriogenesis somatik. Dari tanaman induk diambil eksplan pucuk dan ditanam dalam media sebagai berikut :

M1 : MS + BA 1 ppm + NAA 0 ppm
M2 : MS + BA 1 ppm + NAA 1 ppm
M3 : MS + BA 1 ppm + NAA 2 ppm
M3 : MS + BA 2 ppm + NAA 0 ppm
M3 : MS + BA 2 ppm + NAA 1 ppm
M3 : MS + BA 2 ppm + NAA 2 ppm

Semua media perlakuan ditambahkan sukrosa 30 g/l dan pemadat agar 7 g/l. Dengan demikian terdapat 6 perlakuan. Setiap kombinasi perlakuan terdiri dari sekurang-kurangnya 10 ulangan (10 botol) dengan 2-3 eksplan per botol.

Pelaksanaan percobaan :

Eksplan diambil dari tanaman induk dan disterilisasi seperti percobaan 1. Namun sebelum penanaman potongan daun diambil dengan membuat irisan yang memotong atau membelah tulang daun. Eksplan dikulturkan dalam media inisiasi kalus selama 1-1.5 bulan dan disubkultur ke media yang sama atau dengan mempertimbangkan perkembangan eksplan.

Pengamatan :

Pengamatan pada tahap inisiasi kalus meliputi persen eksplan yang berkalus, tesktur kalus (kompak, friabel), warna kalus dan diameter agregat kalus. Pada tahap regenerasi tunas diamati persen kalus yang membentuk tunas, jumlah tunas, warna tunas, panjang tunas, jumlah daun pada tunas, persen kultur berakar, jumlah dan panjang akar. Jika ada akar juga diamati apakah akar tumbuh dari tunas atau dari kalus.

Analisis data

Data yang didapatkan akan dianalisis ragam dan jika terdapat pengaruh nyata dari perlakuan akan dilanjutkan dengan uji berganda Duncan (DMRT).

III. Pengaruh komposisi media terhadap keberhasilan pengakaran tunas poinsettia *in vitro*. (Dewi Sukma dan Muhammad Ibrahim Faruq)

Tujuan percobaan :

Mendapatkan media yang optimal untuk induksi perakaran tunas poinsettia *in vitro.*

Bahan dan Alat :

Bahan tanaman yang digunakan adalah tunas poinsettia in vitro dari hasil percobaan 1 dan 2. Bahan-bahan kimia yang digunakan hampir sama dengan percobaan 1 dan 2, kecuali pada percobaan 3 tidak digunakan zat pengatur tumbuh BA.

Metode percobaan :

Percobaan merupakan percobaan faktor tunggal yaitu konsentrasi auksin dalam media yang terdiri dari :

A0 : MS tanpa auksin

A1 : MS + NAA 0.25 ppm

A2: MS + NAA 0.5 ppm

A3: MS + NAA 1 ppm

Tunas yang diakarkan merupakan tunas yang dihasilkan dari percobaan 1 dan tanaman hasil embriogenesis somatik pada percobaan 2. Setiap perlakuan induksi pengakaran diulang minimal 10 botol dengan 2-3 tunas per botol.

Pada tahap pengakaran akan didapatkan kombinasi perlakuan antara asal tunas dan jenis media pengakaran.

Pelaksanaan percobaan :

Tunas hasil percobaan 1 dan 2 dengan ukuran panjang dan jumlah daun yang seragam dipotong dan dipindahkan ke media pengakaran. Tunas dikulturkan di media pengakaran selama 1- 2 bulan atau tergantung kecepatan pertumbuhan akar.

Pengamatan :

Peubah yang diamati meliputi persen tunas membentuk akar, waktu mulai terbentuk akar, jumlah akar, morfologi akar dan panjang akar terpanjang.

Analisis data :

Data yang didapatkan akan dianalisis ragam dan jika terdapat pengaruh nyata dari perlakuan akan dilanjutkan dengan uji berganda Duncan (DMRT).

IV. Respon pertumbuhan dan perkembangan poinsettia terhadap cahaya dan fotoperiode *in vitro.* (Dewi Sukma dan Muhammad Ibrahim Faruq)

Tujuan percobaan :

Mengetahui respon morfologis dan fisiologis tunas poinsettia terhadap kualitas cahaya dan fotoperiode in vitro.

Bahan dan Alat :

Bahan tanaman yang digunakan adalah tunas yang diperoleh media multiplikasi yang optimal pada percobaan 1 dan 2. Bahan kimia yang digunakan sama dengan percobaan 1 dan 2 ditambah dengan bahan kimia yang diperlukan untuk membuat preparat untuk melihat anatomi daun dan bahan kimia untuk analisis klorofil. Sedangkan alat-alat yang digunakan selain alat-alat tanam adalah lampu sumber cahaya berupa lampu tabung fluoresen (lampu neon) dan lampu incadescent (lampu pijar). Peralatan lain yang dibutuhkan adalah kain sekat kain berwarna hitam untuk rak yang diberi lampu pijar dan timer.

Metode percobaan :

Percobaan disusun secara faktorial dengan faktor pertama jenis lampu (jenis cahaya untuk variabel kualitas cahaya) dan faktor kedua adalah fotoperiode.

Jenis/kualitas cahaya terdiri dari :

C1 : Cahaya dari lampu pijar

C2 : Cahaya dari lampu fluoresen (neon)

Intensitas cahaya yang didapatkan dari kedua jenis perlakuan cahaya tersebut berada pada kisaran 1000 – 1500 lux.

Perlakuan fotoperiode terdiri dari :

F2 : 14 jam terang – 10 jam gelap (hari panjang)

F3 : 10 jam terang – 14 jam gelap (hari pendek)

Dengan demikian terdapat 4 kombinasi perlakuan cahaya. Karena keterbatasan ruangan penelitian maka ulangan dilakukan berdasarkan waktu sebanyak 2 kali. Perlakuan cahaya dan fotoperiode diberikan selama 3- 4 minggu.

Pelaksanaan :

Tunas-tunas poinsettia dari hasil percobaan 1 dan 2 dari media multiplikasi optimal ditanam ke media yang sama sebanyak 2-3 tunas per botol. Selanjutnya botol ditempatkan dalam rak perlakuan seperti tersebut di atas. Pengaturan lama penyinaran dilakukan dengan menggunakan *timer* yang dihubungkan dengan tombol lampu/saklar.

Pengamatan :

Peubah yang diamati meliputi tinggi tunas, jumlah daun, warna daun, pertumbuhan tunas baru, jumlah akar, kandungan klorofil a dan b, panjang ruas, bobot segar dan bobot kering tunas, serta pengamatan mikroskopis pada irisan melintang daun dan preparat meristem.

Analisis data

Data yang didapatkan akan dianalisis ragam dan jika terdapat pengaruh nyata dari perlakuan akan dilanjutkan dengan uji berganda Duncan (DMRT).

HASIL PENELITIAN

I. Pengaruh eksplan dan komposisi media terhadap keberhasilan inisiasi dan multiplikasi tunas poinsettia *in vitro.*

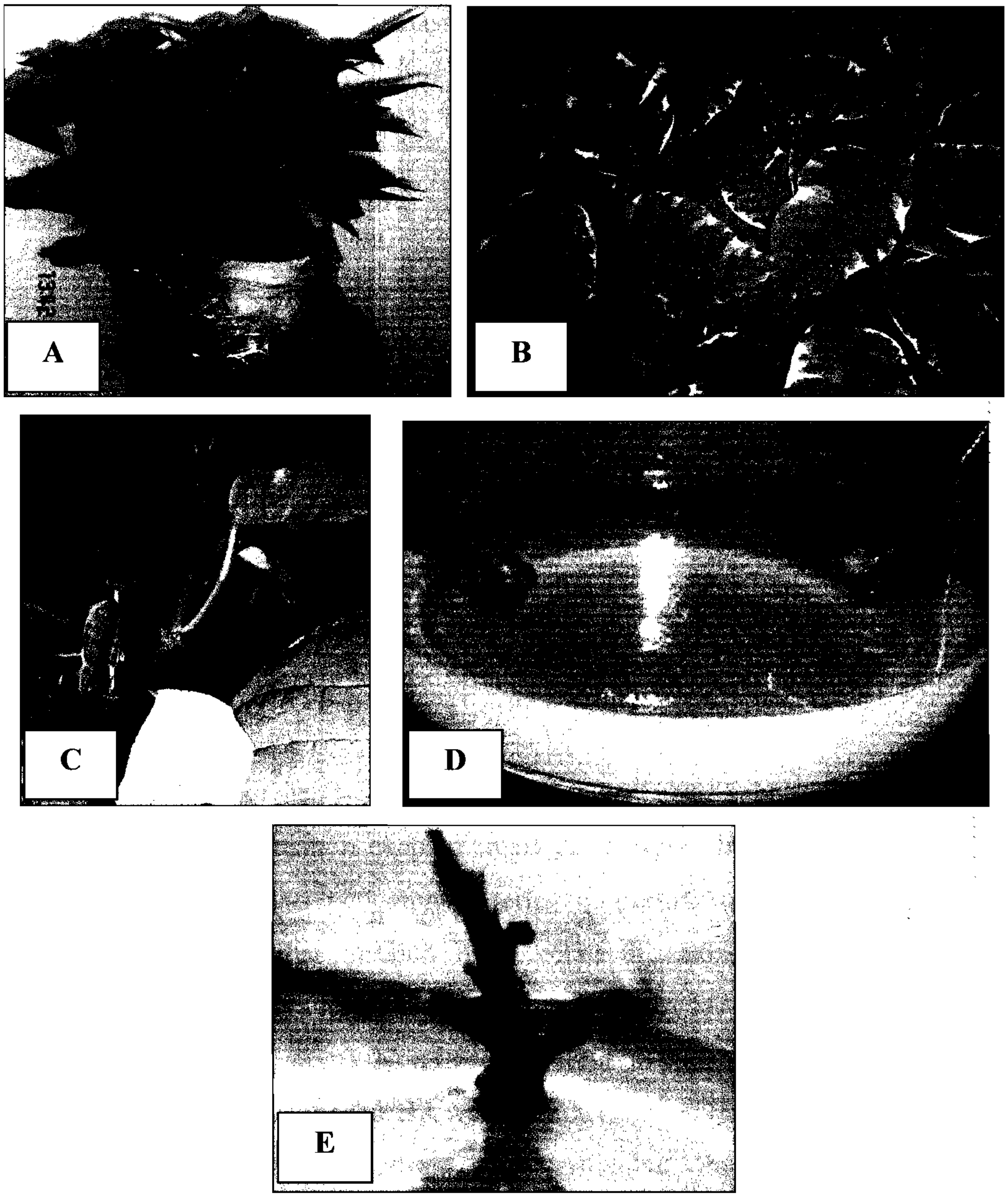
Tujuan percobaan :

Mendapatkan jenis eksplan dan komposisi media yang optimal untuk inisiasi kultur dan multiplikasi tunas poinsettia kultivar *Silver Red in vitro.*

Hasil Percobaan:

Bahan tanaman poinsettia kultivar *Silver Red* seperti terlihat pada Gambar 1. Eksplan berupa buku dan tunas pucuk diambil dan dicuci dengan deterjen dan air mengalir selama sekitar 1 jam, lalu direndam dalam larutan bakterisida Plantomycin dan Benlate selama 1 jam. Eksplan kemudian dibilas dengan air steril lalu dilanjutkan dengan sterilisasi dalam laminar air flow cabinet menggunakan larutan baycline 20%, 10% dan 5 % selama 15, 10 dan 5 menit. Eksplan dibilas dengan air steril 3 – 4 kali lalu ditanam dalam media inisiasi.

Keberhasilan inisiasi dan multiplikasi tunas poinsettia *in vitro* terhambat oleh terbatasnya keberhasilan sterilisasi eksplan. Eksplan yang steril sulit diperoleh kemungkinan karena batang yang bergetah. Peningkatan waktu dan konsentrasi sterilan (Baycline) menyebabkan eksplan mati. Sebanyak 44 eksplan steril berhasil diperoleh dengan persentase keberhasilan sterilisasi sekitar 40%. Eksplan tersebut terdiri dari satu buku (b) buku dan tunas pucuk (p) dan ditanam dalam media sebagai berikut : D3 (MS + BA 0.5 ppm), D7 (MS + BA 0.3 ppm), D8 (MS + BA 0.4 ppm). Respon pertumbuhan eksplan dalam media tersebut di atas disajikan dalam Tabel 1.



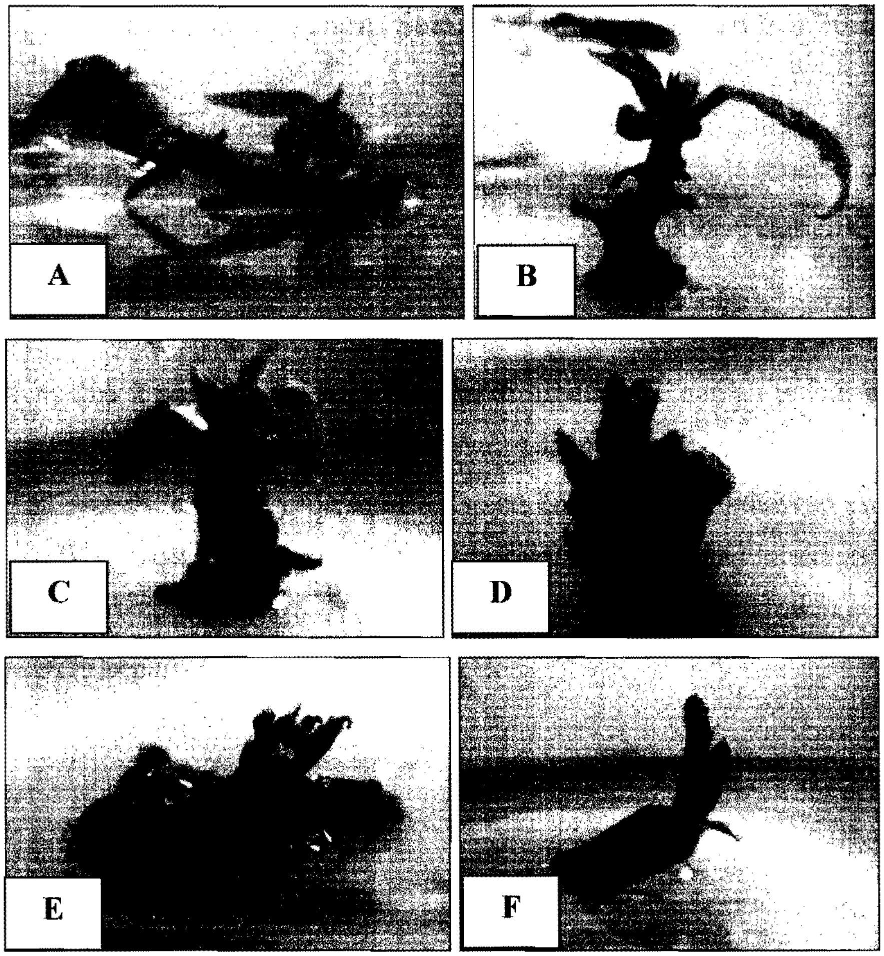
Gambar 2. Bahan tanaman dan eksplan kastuba kultivar Silver Red : (A).Tanaman induk sumber eksplan yang belum berbunga, (B) Daun kastuba kultivar Silver Red berwarna hijau perak variegata, (C). Bagian buku yang diambil sebagai eksplan, (D) eksplan satu buku di media inisiasi awal, (E) Eksplan pucuk dimedia inisiasi awal.

Tabel 1. Respon Eksplan Tunas Pucuk dan Buku pada Kultur *In Vitro Euphorbia pulcherrima* var. "Silver Red" pada beberapa komposisi media tanam.

Jenis Eksplan	Media (Jumlah Eksplan)	Jumlah Eksplan Tumbuh (%) pada 4 MST	Jumlah Eksplan yang Masih Tumbuh pada 6 MST
Tunas pucuk (11 eksplan)	D3 (3 eksplan)	2/3 (67%)	0
	D7 (4 eksplan)	3/4 (75%)	3 eksplan
	D8 (4 eksplan)	¾ (75%)	1 eskplan
Eksplan buku (13 eksplan)	D3 (7 ekpslan)	2/7 (29%)	1 eksplan
	D7 (3 eksplan)	1/3 (33%)	0 eksplan
	D8 (3 eksplan)	3/3 (100%)	2 eksplan

Secara umum hasil yang disajikan pada Tabel 1 belum cukup untuk menjelaskan apakah respon eksplan tunas pucuk lebih baik dari pada eksplan satu buku. Namun dari pengamatan terhadap pertumbuhan eksplan, eksplan pucuk meristem terlihat tumbuh lebih cepat dibanding eksplan satu buku dengan pertumbuhan yang baik terdapat pada media D7 (MS + BA 0.3 ppm) dan D8 (MS + BA 0.4 ppm). Eksplan dapat tumbuh pada media D3, D7 dan D8, meskipun pada media dengan BA yang lebih tinggi (D3 (MS + BA 0.5 ppm) diferensiasi daun tanaman terlihat agak terhambat. Penampilan kultur pada beberapa media yang disajikan pada Tabel 1, seperti terlihat pada Gambar 3.

Sterilisasi eksplan dari tanaman induk dari lapang masih terus dilanjutkan sehingga diperoleh jumlah tanaman steril yang mencukupi untuk memenuhi jumlah ulangan pada setiap perlakuan.



Gambar 3. Respon pertumbuhan eksplan pucuk dan buku pada beberapa jenis media : (A). Eksplan pucuk pada media D7 (MS + BA 0.3 ppm); (B). Eksplan pucuk pada media D3 (MS + BA 0.5 ppm); (C) Eksplan pucuk pada media D8 (MS + BA 0.4 ppm); (D) Eksplan buku pada media D7; (E) Eksplan buku pada media D3; (F) eksplan buku pada media D8.

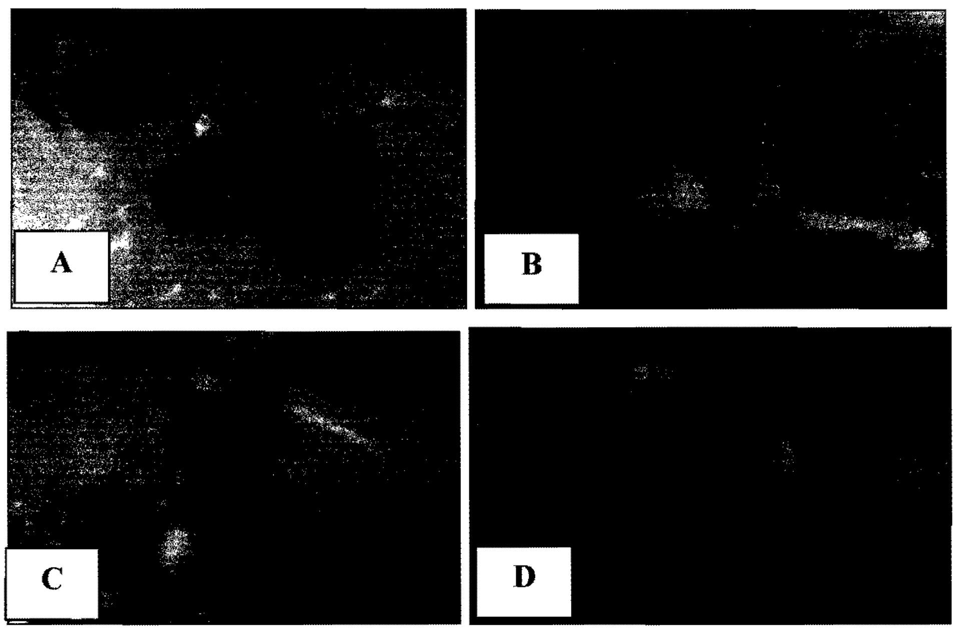
II. Induksi Kalus dan Embriogenesis Somatik pada Kultur *In Vitro* Poinsettia

Tujuan percobaan :

Mendapatkan media yang optimal untuk inisiasi kalus/embriogenesis somatik dan regenerasi tanaman melalui tunas adventif dari kalus/embrio somatik.

Hasil Percobaan:

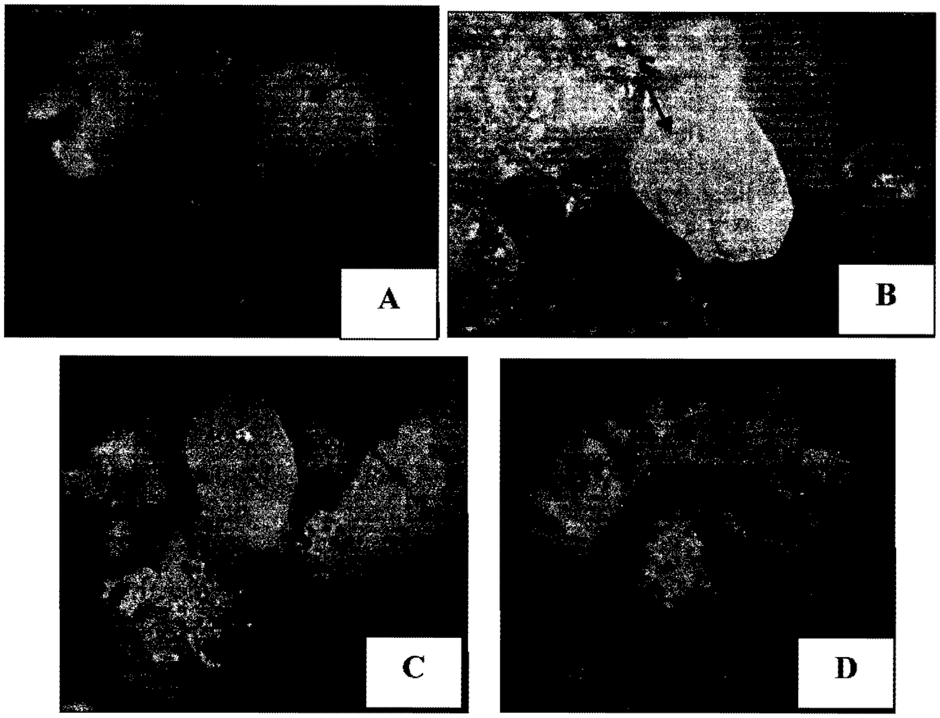
Sebanyak 9 eksplan tunas pucuk yang berhasil disterilisasi ditanam dalam media M1 (MS + BA 2 ppm). Setelah satu bulan di media M1, bagian pucuk eksplan masih terlihat hijau namun bagian pangkal eksplan cenderung menjadi kecoklatan seperti jaringan yang mati. Eksplan kemudian dipindahkan ke media M2/D3 (MS + BA 0.5 ppm). Pada media tersebut eksplan menunjukkan respon pertumbuhan ke arah embriogenesis somatik. Beberapa bentuk respon dalam media M2/D3 seperti terlihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Respon beberapa eksplan pucuk setelah dipindahkan dari media M1 (MS + BA 2 ppm) ke media D3/M2 (MS + BA 0.5 ppm) : (A) Terbentuk kalus globular yang mengkilat warna kemerahan; (B) terbentuk kalus globular putih kemerahan muncul akar; (C) dan (D). Bulatan-bulatan (nodul hijau) terbentuk pada titik tumbuh

Setelah satu bulan di media D3/M2 eksplan dipindahkan ke beberapa jenis media seperti terlihat pada Tabel 2. Jumlah kecambah hijau yang dihasilkan dari media pada Tahap Sub Kultur 3 setelah satu bulan fase kultur seperti tercantum pada Tabel 3.

Hasil pengamatan mikroskopis pada kultur dalam tahap sub kultur ke-2 menunjukkan beberapa fase perkembangan embrio seperti torpedo, dikotiledonari dan kecambah seperti terlihat pada Gambar 5. Warna kalus embriogenik dalam regenerasi melalui embrio tersebut terlihat dari kemerah-merahan mengkilat menjadi kekuningan pada fase kotiledonari kemudian menjadi hijau setelah menjadi kecambah. Perkecambahan embrio terlihat belum sempurna karena embrio belum membentuk akar.



Gambar 5. Pengamatan Mikroskopis pada Kalus Embriogenik Kastuba : (A- D) Sebagian tahap perkembangan embrio dari fase (a) ke fase pradikotiledonari (b) dan dikotiledonari (c); (d) embrio abnormal dengan jumlah calon kotiledon lebih dari 2.

Peningkatan pertumbuhan kalus embriogenik terlihat dari bertambahnya kalus globular yang memenuhi permukaan media. Kesulitan dialami alam menghitung jumlah embrio yang dihasilkan. Penghitungan kecambah hijau lebih mudah dilakukan dibanding penghitungan jumlah embrio.

Tabel 2. Tahapan Pelaksanaan Kultur yang Menghasilkan Respon Embriogenesis pada *Euphorbia pulcherrima* var. Silver Red.

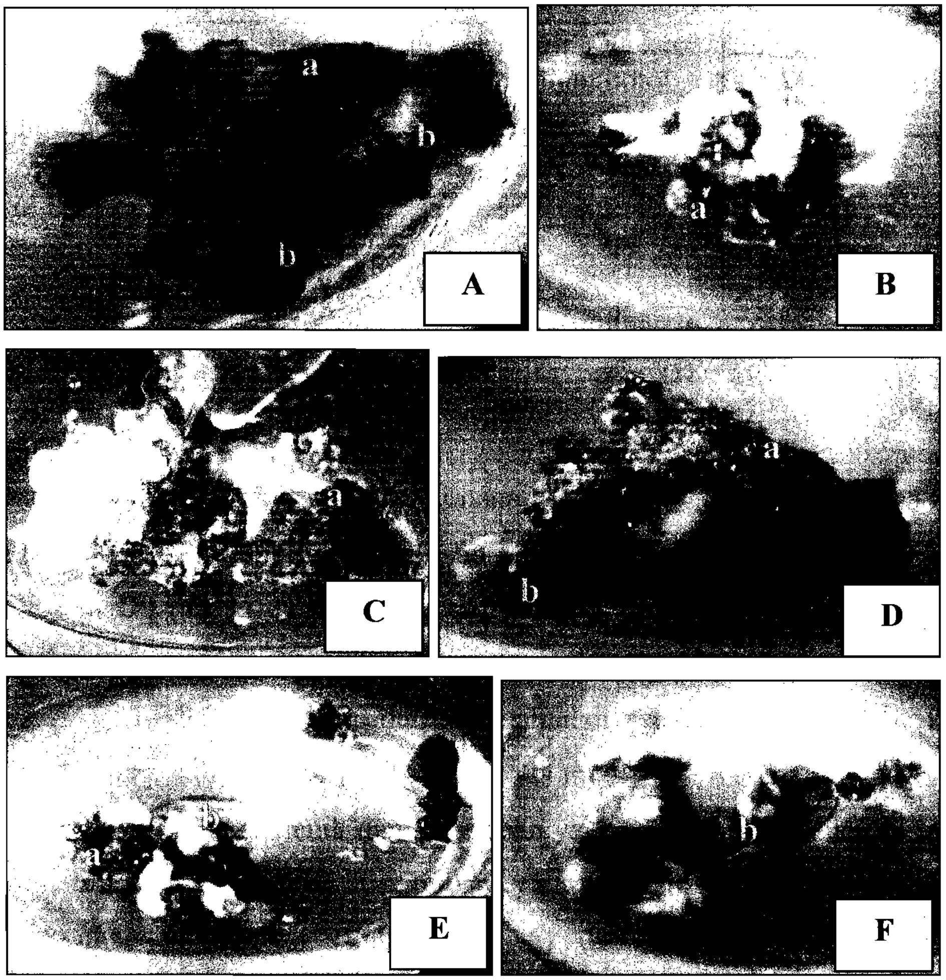
Tanam Awal	Sub Kultur 1	Sub Kultur 2	Sub Kultur 3	Media pada Sub Kultur 4
D0	M1 (9 botol)	D3 (15 botol)	D0 (3 botol)	D3 (2 botol) D7 (1 botol) D8 (2 botol) D9 (2 botol) Total = 8 botol
			D3 (9 botol)	D3 (13 botol) D7 (11 botol) D8 (12 botol) D9 (15 botol) Total = 52 botol
			D4 (4 botol)	D3 (1 botol) D7 (1 botol) D8 (3 botol) D9 (4 botol) Total = 9 botol

Ket. : D0 = MS 0, M1 = (MS + BA 2 ppm), D3 = MS + BA 0.5 ppm, D4 = MS + BA 1 ppm, D7 = MS + BA 0.3 ppm, D8 = (MS + BA 0.4 ppm), D9 = (MS + BA 0.5 ppm + NAA 0.1 ppm)

Tabel 3. Jumlah Kecambah Hijau yang Dihasilkan pada Beberapa Jenis Media pada Tahap Sub Kultur 3.

Jenis Media	Jumlah Botol Hasil Sub Kultur	Total Jumlah Kecambah Hijau	Persentase Kecambah Hijau/ *Clump* Kalus Embriogenik
D0	3 botol/10 *clump*	12	12/10 (1.2%)
D3	9 botol/23 *clump*	59	59/23 (2.6%)
D4	4 botol/7 *clump*	12	12/7 (1.7%)

Pembentukan embrio sekunder dapat terjadi pada media D0, D3 maupun D4, dan cenderung terlihat paling banyak pada media D3. Hal ini juga terlihat dari jumlah botol kultur hasil sub kultur 4 seperti yang tercantum pada Tabel 2. Kalus embriogenik yang dikulturkan dalam media D3 berkembang cepat sehingga dari 1 botol kalus embriogenik pada sub kultur 3 dapat dihasilkan 6 botol kultur baru. Sementara dari 1 botol kultur pada media D0 dan D4 dapat dihasilkan 4 botol kultur baru. Setiap botol hasil sub kultur berisi sekitar 3 – 4 *clump* kalus embriogenik atau massa embrio.



Gambar 6. Morfologi Kalus Embriogenik pada Tahap Sub Kultur 3 : (A) dan (B) pada media D0; (C) dan (D) pada media D3; (E) dan (F) pada media D4. Kalus/embrio ditunjukkan oleh kode a pada gambar sedangkan embrio yang sudah berkecambah menjadi tanaman ditunjukkan dengan kode b.

Sub kultur 4 dilakukan dengan tujuan untuk mencari media yang dapat meningkatkan perkecambahan embrio menjadi tanaman lengkap. Karena itu pada sub kultur 4 terdapat media D7 (MS + BA 0.3 ppm), D8 (MS + BA 0.4 ppm) dan D9 (MS + BA 0.5 ppm + NAA 0.1 ppm). Jumlah kecambah hijau yang terbentuk pada tahap sub kultur 4 seperti tercantum pada Tabel 4. Jumlah kecambah hijau yang terbentuk paling banyak pada media D7 dan D9. Sebagian besar kecambah yang dihasilkan belum membentuk akar kecuali pada media D9. Pada media D9 ditemukan adanya 3 kecambah yang berakar.

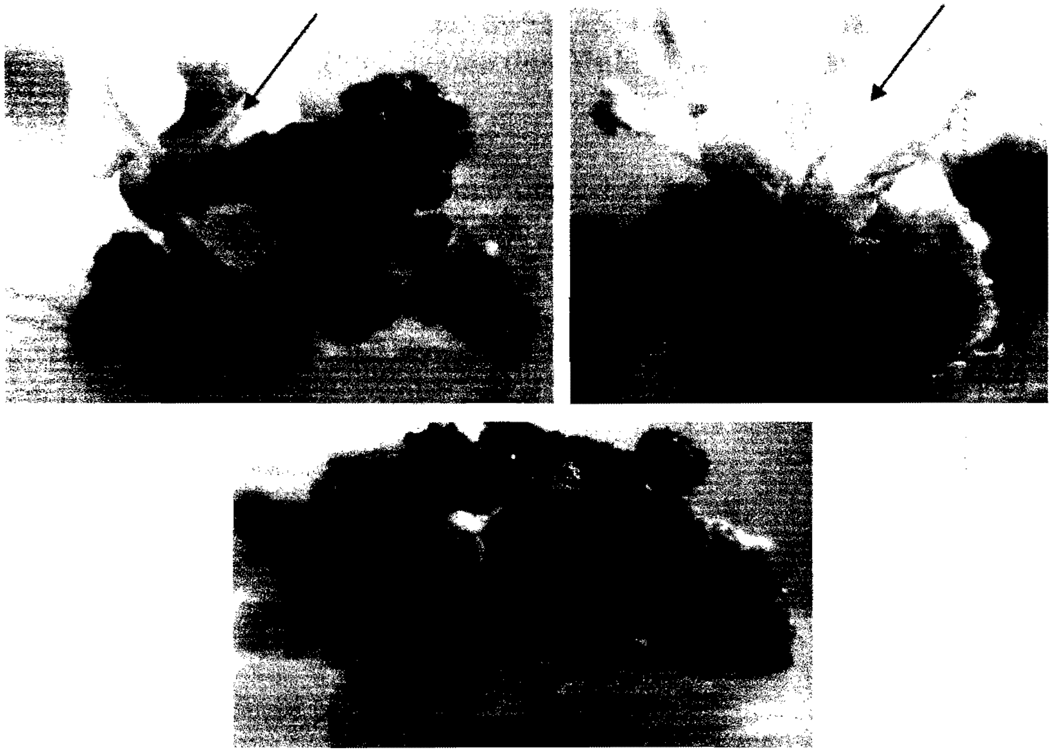
Tabel 4. Jumlah Kecambah Hijau yang Dihasilkan pada Beberapa Jenis Media pada Tahap Sub Kultur 4.

Jenis Media (Jumlah Botol yang diamati)	Total Jumlah Kecambah Hijau	Rata-rata kec hijau/botol	Jumlah kecambah albino
D3 (12)	27	2.3	8
D7 (9)	38	4.2	3
D8 (12)	32	2.7	9
D9 (16)	60	3.8	9

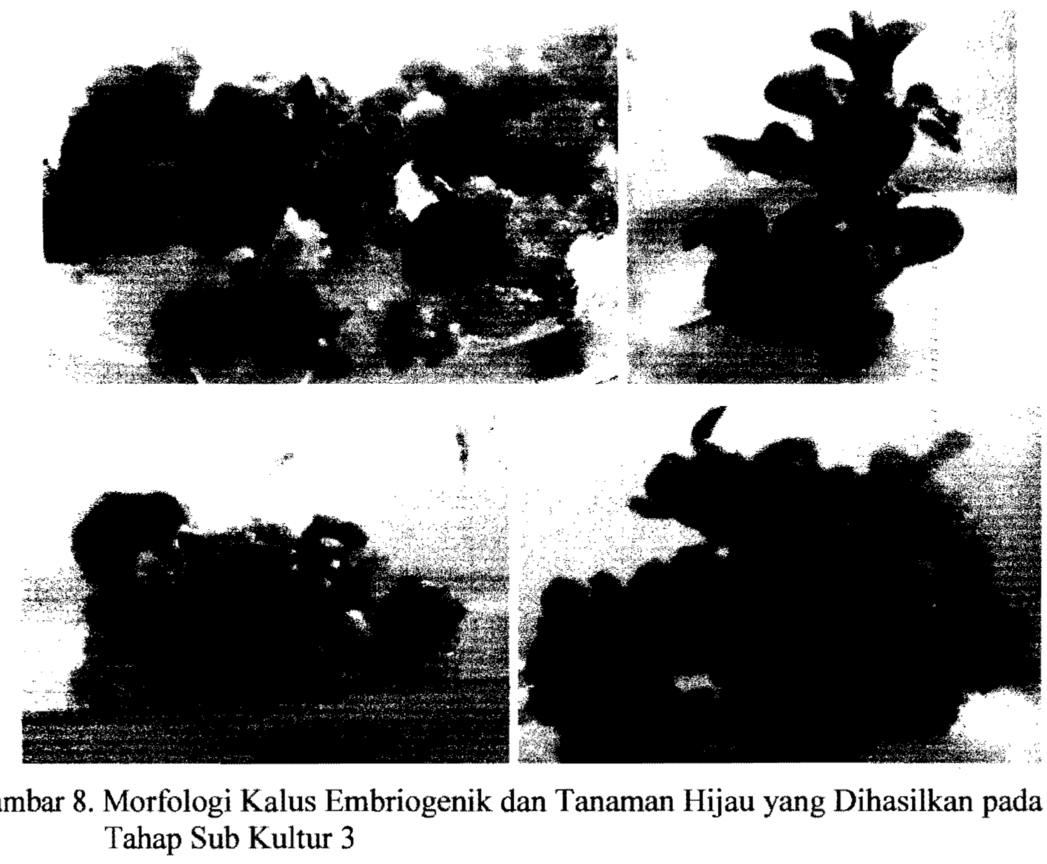
Ket. : D0 = MS 0, D3 = MS + BA 0.5 ppm, D4 = MS + BA 1 ppm, D7 = MS + BA 0.3 ppm, D8 = (MS + BA 0.4 ppm), D9 = (MS + BA 0.5 ppm + NAA 0.1 ppm)

Variasi warna kecambah ditemukan dimana ada kecambah yang berwarna hijau dan ada yang berwarna putih/albino. Kecambah albino paling banyak dihasilkan pada media D3, D8 dan D9 (Tabel 4). Pertumbuhan lanjut dari kecambah albino tersebut masih sedang diamati.

Berdasarkan hasil sementara dan pengamatan visual, penampilan kalus embriogenik pada tahap sub kultur 4 paling baik pada media D7. Karena itu pada tahap sub kultur 5 semua kalus embriogenik dan kecambah yang dihasilkan ditanam di media D7. Setelah 1 bulan dimedia D7, kecambah yang dihasilkan dipisahkan secara individual dan ditanam kembali (Sub Kultur 6) dan saat ini sedang diamati pertumbuhannya dalam media D3 (MS + BA 0.5 ppm), D4 (MS + BA 1 ppm), D9 (MS + BA 0.5 + NAA 0.1 ppm), D12 (MS + BA 0.5 ppm + NAA 0.2 ppm), D13 (MS + BA 1 ppm + NAA 0.1 ppm) dan D14 (MS + BA 1 ppm + NAA 0.2 ppm). Penambahan konsentrasi auksin (NAA) dalam media dimaksudkan untuk meningkatkan pembentukan akar sehingga tanaman dapat diaklimatisasi.



Gambar 7. Morfologi Kalus Embriogenik dan Tanaman Albino yang Dihasilkan pada Tahap Sub Kultur 3



Gambar 8. Morfologi Kalus Embriogenik dan Tanaman Hijau yang Dihasilkan pada Tahap Sub Kultur 3

III. **Pengaruh komposisi media terhadap keberhasilan pengakaran tunas poinsettia *in vitro*. (Dewi Sukma dan Muhammad Ibrahim Faruq)**

Tujuan percobaan :

Mendapatkan media yang optimal untuk induksi perakaran tunas poinsettia *in vitro.*

Hasil Percobaan :

Percobaan ini masih dalam masa pengamatan sehingga datanya belum dapat disajikan dalam laporan ini, namun akan disampaikan dalam bentuk publikasi skripsi mahasiswa.

IV. **Respon pertumbuhan dan perkembangan poinsettia terhadap cahaya dan fotoperiode *in vitro*. (Dewi Sukma dan Muhammad Ibrahim Faruq)**

Tujuan percobaan :

Mengetahui respon morfologis dan fisiologis tunas poinsettia terhadap kualitas cahaya dan fotoperiode in vitro.

Hasil Percobaan :

Percobaan ini masih dalam masa pengamatan sehingga datanya belum dapat disajikan dalam laporan ini, namun akan disampaikan dalam bentuk publikasi skripsi mahasiswa.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa kendala dalam tahap inisiasi kultur *in vitro* kastuba adalah dalam mendapatkan eksplan yang steril. Respon eksplan yang steril dan tidak mati akibat larutan sterilan memberikan respon yang baik dalam media MS yang mengandung BAP. Inisiasi dan multiplikasi tunas dapat diperoleh pada media D3 (MS + BA 0.5 ppm), D4 (MS + BA 1 ppm) dan D7 (MS + BA 0.3 ppm). Namun media yang memberikan morfologi tunas paling baik adalah media D7.

Regenerasi tanaman melalui embriogenesis somatik pada kastuba kultivar Silver Red dapat diperoleh melalui tahapan penanaman awal dalam media MS + BA 2 ppm selama 1 bulan diikuti dengan sub kultur ke media MS + BA 0.5 ppm. Pertumbuhan kalus embriogenik pada tahap sub kultur 2, 3 dan 4 pada media D3(MS + BA 0.5 ppm), D4 (MS + BA 1 ppm), D7 (MS + BA 0.3 ppm), D8 (MS + BA 0.4 ppm) dan D9 (MS + BA 0.5 ppm) menunjukkan bahwa pembentukan embrio somatik sekunder dapat terjadi pada kelima macam media tersebut. Namun masih perlu dievaluasi media yang paling optimal dalam menghasilkan embrio somatik sekunder.

Mikropropagasi poinsettia melalui embriogenesis somatik jauh lebih cepat dan efisien dibandingkan melalui kultur tunas. Meskipun demikian terdapat kemungkinan adanya variasi somaklonal dari tanaman hasil embriogenesis somatik. Salah satu variasi yang terlihat pada tanaman hasil embriogenesis somatik adalah adanya tanaman albino. Perlu dievaluasi kemampuan tumbuh lanjut tanaman albino dalam media *in vitro* maupun aklimatisasi di lapangan.

Saran

Perlu dievaluasi karakter morfologi dan fisiologi pertumbuhan tanaman hasil perbanyakan melalui kultur tunas *in vitro* dan tanaman hasil embriogenesis somatik di lapangan atau rumah kaca.

VII. DAFTAR PUSTAKA

Anonim. 2006. Poinsettia Cultural Information. Fischer Breeding Succes. Winchester. Email : Info@fecherusa.com

Ausin, I., C. Alonso-Blanco, J-M. Martinez-Zapater. 2005. Environmental regulation on flowering. Int. J. Dev. Biol. 49:689-705.

Bajaj, Y. P. S. 1990 Somaclonal variation—origin, induction, cryopreservation, and implications in plant breeding. In Y. P. S. Bajaj [ed.], Somaclonal variation in crop improvement. I, 3–48. Springer-Verlag, Berlin.

Bodhipadma, K. and D.W.M. Leung. 2003. *In vitro* fruiting and seed set of *Capsicum annum* L. cv. Sweet banana. In Vitro Cell. Dev. Biol-Plant. 39 (5):536-539.

Boxus, P. 1998. World Confrence on Horticultural Research. International Society for Horticultural Science. 17-20 June 1998. Rome, Italy

Breton, C., D. Cornu, D. Chriqui, A. Sauvanet, P. Capelli, E. Germain, C. Jay-Allemand. 2004. Somatic embryogenesis, micropropagation and plant regeneration of "Early Mature" walnut trees (Juglans regia) that flower in vitro. Tree Physiol. 24:425–435

Britto, S.J., E. Natarajan, D.I. Arockiasamy.In vitro flowering and shoot multiplication from nodal explants of *Ceropogia bulbosa* Roxb.var. *bulbosa.* Taiwania 48(2):106-111.

Chithra, M., K.P. Martin, C. Sunandakuman, P.V. Madhusoodanaan. 2004. Silver nitrate induced rooting and flowering *in vitro* on rare rhoeophytic woody medicinal plant, *Rotula aquatica* Lour. Indian J. Biotech. 3:418-421.

De Klerk, G.-J. 1990 How to measure somaclonal variation. *Acta Botanica Neerlandica* 39: 129–144.

Hartley, D.E. 1992. Poinsettias. *In* R.A. Larson. Inroduction to Floriculture. Academic Press. pp 306-330.

Hempel, M. 1989. Does micropropagation influence plant quality?. Australian Horticulture, November. Pp.51-53, 56.

Henikoff, S., and M. A. Matzke. 1997 Exploring and explaining epigenetic effects. *Trends in Genetics* 13: 293–295. .

Jayasangkar, S. 2005. Variation in Tissue Culture. *In* R.N. Trigiano and D.J. Gray. (Eds.). Plant Development and Biotechnology. Pp. 301-309. CRC Press. Washington.

Larkin, P. J., and W. R. Scowcroft. 1981. Somaclonal variation—a novel source of variability from cell cultures for plant improvement. *Theoretical and Applied Genetics* 60: 197–214

Mohapatra, A., G. R. Rout, P. Das. 2005. Rapid clonal propagation from nodal explants and in vitro flowering of three rose cultivars. Propagation of Ornamental Plants 5(4) : 219-223.

Morini, S., C. D'Onofrio, G. Bellocchini, M. Fisichella. 2000. Effect of 2,4D and light quality on callus production and differentiation from in vitro cultured quince leaves. Plant Cell. Tiss. Org. Cult. 63:47-55.

Naor, V., J. Kigel, M. Ziv.2003. The effect of gibberelin and cytokinin on floral development in *Zantedeschia* spp. *in vivo* and *in vitro.* ISHS Acta Hort. 673: IX International Symposium on Flower Bulbs.

Pickens, K.A., Z.M. Cheng, R.N. Trigiano. 2005. Axillary bud proliferation and organogenesis of *Euphorbia pulcherrima* "Winter Rose TM". In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant. 41(6): 770-774.

Roberts, N.J., G.A. Luckman, R.C. Menary. 1993. In vitro flowering of Boronia megastima Nees. and the effect of 6-benzylaminopurine. J. Plant Regulation. 12 (3):117-122.

Roy, S.K. and M. Ali Jinnah. 2001. *In Vitro* Micropropagation of Poinsettia (*Euphorbia pulcherrima* Willd.). Plant Tiss. Cult. 11(2):133-140.

Saebo, A., T. Krekling, M. Appelgren. 2000. Influence of light quality on *in vitro* photosynthesis, leaf morphology, leaf morphometry, leaf anatomy and field performance in micropropagated *Betula pendula* Rooth. ISHS Acta Hort. 327: II European Workshop on Thermo-and Photomorphogenesis in Plants.

Sahijram, L., J.R. Soneji, K.T. Bollama. 2003. Invited Review :Analyzing somaclonal variation in micropropagated banana (Musa spp.). In Vitro Cell. Dev. Biol.-Plant. 39:551-556.

Schwarz, O.J., A.R. Sharma, R.M. Beaty. 2005. Propagation from Nonmeristematic Tissues:Organogenesis. *In* R.N. Trigiano and D.J. Gray. (Eds.). Plant Development and Biotechnology. Pp. 159-185. CRC Press. Washington.

Soontornchainaksaeng, P., S. Chaicharoen, M. Sirijuntarut, M. Kruatrachue. 2001. *In vitro* studies on the effect of light intensity on plant growth of *Phaius tankervilliae* (Banks ex L'Herit.) Bl. and *Vanda coerulea* Griff. ScienceAsia 27:233-237.

Stephen, R. and N. Jayabalan. 1998. *In vitro* flowering and seed setting formation of *Coriandum sativum* L. Curr. Sci. 74:195-197.

Thiruvengadam, M and N. jayabalan. 2001. *In Vitro* flowering of *Vitex negundo* L.-a medicinal plant. Plant Cell Biotech. Mol. Biol. 2:67-70

Virupakshi, S., B.R. Manjunatha, G.R. Naik. 2002. In vitro flower induction from juvenile explants of sugarcane, Saccharum officinarum L. Var.CoC 671. Curr. Science 83 (10): 1195-1197.

Williams, R.R. 2002. Plant Tissue Culture-Its Application to Agriculture and Horticulture. *In* A. Taji and R.R. Williams (Eds.) The Importance of Plant Tissue Culture and Biotechnology in Plant Sciences. University of New England Publications Unit, Australia. Pp. 91-103.

Williams, R.R. 2005. The In Vitro Environment. Supplement for Short Course on Plant Tissue Culture. Centre for Native Floriculture. University of Queensland. Australia. 19-22 July, 2005.