

**INDUKSI POLIPLOIDI ANGGREK BULAN
(*Phalaenopsis hieroglyphica* L.) DENGAN KOLKHISIN**

Oleh :

CHAULA AGUS SIAHAYA



**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERTANIAN
JURUSAN BUDIDAYA PERTANIAN
MALANG**

2011



INDUKSI POLIPLOIDI ANGGREK BULAN
(*Phalaenopsis hieroglyphica* L.) DENGAN KOLKHISIN

Oleh :

CHAULA AGUS SIAHAYA

0610470007 - 47

SKRIPSI

**Disampaikan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh
Gelara Sarjana Pertanian Strata (S-1)**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERTANIAN
JURUSAN BUDIDAYA PERTANIAN
MALANG**

2010

LEMBAR PENGESAHAN

Mengesahkan,

MAJELIS PENGUJI

Penguji I

Penguji II

Ir. Sri Lestari Purnamaningsih, MS
NIP.19570512 198503 2 001

Dr. Ir. Lita Soetopo
NIP. 19510408 197903 2 001

Penguji III

Penguji IV

Prof. Dr. Ir. Nur Basuki
NIP. 130 531 836

Prof. Dr. Ir. Kuswanto, MS.
NIP. 19630711 198803 1 002

Tanggal Lulus :

LEMBAR PERSETUJUAN

Judul :INDUKSI POLIPLLOIDI ANGGREK BULAN
(*PHALAEOPSIS HIEROGLYPHICA* L) DENGAN
KOLKHISIN

Nama Mahasiswa : CHAULA AGUS SIAHAYA

NIM : 0610470007-47

Jurusan : Budidaya Pertanian

Program Studi : Pemuliaan Tanaman

Menyetujui : Dosen Pembimbing

Pertama

Menyetujui,

Kedua

Prof. Dr. Ir. Nur Basuki
NIP. 130 531 836

Dr. Ir. Lita Soetopo
NIP. 19510408 197903 2 001

Ketua Jurusan

Dr.Ir. Agus Suryanto, MS
NIP. 19550818 198103 1 008

KATA PENGANTAR

Puji syukur ke hadirat Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan Laporan Skripsi yang berjudul **“Induksi Poliploidi Anggrek Bulan (*Phalaenopsis heroglyphica* L.) dengan Kolkhisin”** dengan sebaik-baiknya. Semua ini tentunya tidak terlepas dari peran semua pihak yang telah membantu baik secara moril maupun materi, sehingga sudah sepantasnya saya mengucapkan terima kasih kepada:

1. Kedua orang tua beserta keluarga saya atas dukungan baik moril maupun materi dan tidak pernah berhenti untuk memberikan semangat.
2. Bapak Prof. Dr. Ir. Nur Basuki selaku Pembimbing Utama, Dr. Ir. Lita Soetopo selaku Pembimbing Pendamping, serta Komisi Penguji Ir. Sri Lestari P., MS. dan Prof. Dr. Ir. Kuswanto, MS.
3. Kepada teman-teman (Rismaya, Vega, Diny, Ayie, Nien, dll) dan semua pihak yang membantu dalam penyusunan Skripsi ini yang tidak bisa penulis sebutkan satu per satu.

Di dalam tulisan ini akan disajikan pokok bahasan tentang pengaruh pemberian kolkhisin dengan beberapa tingkat konsentrasi terhadap karakter waktu mulai terbentuk daun, waktu mulai terbentuk akar, jumlah daun, pertambahan jumlah daun, tinggi tanaman, bobot tanaman, warna daun, jumlah stomata, dan jumlah kromosom.

Disadari dengan keterbatasan yang dimiliki penulis, masih dirasakan banyak kekurangan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan saran yang sifatnya membangun agar tulisan ini bermanfaat bagi yang membutuhkan.

Malang, Desember 2010

Penulis

RIWAYAT HDUP

Chaula Agus Siahaya lahir di Jombang tanggal 19 Agustus 1988, empat bersaudara dari Bapak Suyoto dan Ibu Karfika. Riwayat sekolah di SDN Mojowarno II, SLTP N 1 Mojowarno, dan lulus SMA N Bareng tahun 2006. Studi Strata-1 di Fakultas Pertanian Jurusan Budidaya Pertanian Universitas Brawijaya Malang. Pengalaman Organisasi aktif HMJ (Himpunan Mahasiswa Jurusan Budidaya Pertanian) 2006-2008. Menjadi Juara III LKTI Maba Tingkat Fakultas Bidang Pendidikan.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



Malang, Desember 2010

Penulis



RINGKASAN

Chaula Agus Siahaya. 0610470007-47. Induksi Poliploidi Anggrek Bulan (*Phalaenopsis hieroglyphica* L.) dengan Kolkhisin. Dibawah bimbingan Prof. Dr. Ir. Nur Basuki, selaku pembimbing utama dan Dr. Ir. Lita Soetopo, selaku pembimbing kedua.

Anggrek ialah tanaman bunga yang termasuk dalam famili Orchidaceae dan terkenal mempunyai nilai ekonomis yang tinggi karena bentuk dan warna bunga yang menarik (Kuehnle, 2007). Hingga saat ini tanaman anggrek lebih banyak diminati dibandingkan jenis tanaman lainnya. Lebih dari 75% dari semua jenis anggrek yang paling banyak diperdagangkan adalah jenis *Phalaenopsis* (Anggrek Bulan) (Griesbach, 2002). Anggrek bulan termasuk salah satu spesies yang cukup populer karena peranannya sebagai indukan yang dapat menghasilkan berbagai keturunan atau hibrida selanjutnya. Pengembangan keragaman tanaman anggrek di Indonesia masih banyak diusahakan melalui kegiatan persilangan. Sedangkan di negara-negara lain pengembangan jenis tanaman anggrek unggul tidak hanya melalui persilangan tetapi sudah menggunakan metode mutasi dan transgenik. Mutasi genetik semakin banyak digunakan untuk memproduksi varietas baru dengan karakter fisik dan fenotip tertentu seperti perubahan bentuk pertumbuhan, warna bunga, peningkatan ukuran, daya adaptasi serta ketahanan terhadap hama dan penyakit. Salah satu cara yang dapat dilakukan untuk memperbaiki kualitas tanaman ialah dengan manipulasi genom. Manipulasi genom dapat dilakukan dengan pemberian bahan mutagen berupa bahan kimia seperti Kolkhisin.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian senyawa kolkhisin terhadap perubahan morfologi, anatomi dan genetik anggrek *Phalaenopsis hieroglyphica* L. Diduga Pemberian senyawa kolkhisin dapat menyebabkan poliploidi pada tanaman anggrek *Phalaenopsis hieroglyphica* L. sehingga berpengaruh pada perubahan morfologi, anatomi dan genetiknya.

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi – Pemuliaan Tanaman, Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang, mulai bulan Mei hingga bulan Agustus 2010. Alat yang digunakan dalam penelitian ini ialah botol kultur, Entkas, Autoclave, mikroskop cahaya, preparat + cover glass, dan Kamera. Sedangkan bahan yang digunakan ialah PLB (*Protocorm Like Bodies*) anggrek *Phalaenopsis hieroglyphica* L. berusia \pm 4 bulan (2-3mm), Kolkhisin, alkohol 70% dan 90%, aquadest, larutan stock makro dan mikro (media $\frac{1}{2}$ MS), agar pemat, Air kelapa (250ml/L), HCl dan NaOH, Lautan ekstraksi (HCl, 8-Hidroksi quinolin, dan AAG), dan Aceto-Orcein. Percobaan dilaksanakan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap, dimana terdiri dari lima perlakuan konsentrasi dengan lima kali ulangan. Macam perlakuan yang dipakai ialah K1 = 0 ppm (Kontrol), K2 = 5 ppm, K3 = 10 ppm, K4 = 20 ppm, dan K5 = 25 ppm.

Pengamatan fenotip dilakukan pada karakter waktu mulai terbentuk daun, waktu mulai terbentuk akar, jumlah daun, penambahan jumlah daun, tinggi tanaman, bobot tanaman, warna daun, jumlah stomata, dan jumlah kromosom. Pengamatan dilakukan 2 minggu setelah penanaman. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan analisis ragam (ANOVA) dan jika terdapat berbeda nyata maka dilanjutkan dengan uji BNT taraf 5%.

Dari hasil percobaan diperoleh bahwa pada spesies *Phalaenopsis hieriglyphica* L. hasil dari induksi poliploidi senyawa kolkhisin dengan beberapa taraf konsentrasi menyebabkan perubahan pada perubahan morfologi, anatomi dan genetik tanaman anggrek, seperti umur muncul akar pertama, jumlah daun, penambahan jumlah daun, bobot tanaman, tinggi tanaman, warna daun, jumlah stomata dan jumlah kromosom. Tetapi kolkhisin tidak terlalu berpengaruh terhadap umur muncul daun pertama. Rata-rata umur muncul daun pertama paling cepat pada konsentrasi 5 ppm yaitu 27,44 hari, sedangkan rata-rata muncul daun paling lama adalah pada konsentrasi 25 ppm yaitu 35,21 hari setelah perlakuan. Rata-rata umur muncul akar pertama paling cepat pada konsentrasi 0 ppm yaitu 43,66 hari, sedangkan rata-rata muncul akar paling lama adalah pada konsentrasi 25 ppm yaitu 60,99 hari setelah perlakuan. Rata-rata jumlah daun paling sedikit terdapat pada konsentrasi 20 ppm yaitu 1,828, sedangkan rata-rata jumlah daun paling banyak adalah pada konsentrasi 0 ppm yaitu 2,664. Rata-rata penambahan jumlah daun yang paling tinggi terdapat pada konsentrasi 0 ppm yaitu 2,5. Sedangkan rata-rata penambahan jumlah daun yang paling sedikit terdapat pada konsentrasi 25 ppm yaitu 1,37. Rata-rata bobot tanaman terkecil terdapat pada konsentrasi 0 ppm yaitu 0,044 g. Sedangkan rata-rata bobot tanaman terbesar adalah pada konsentrasi 25 ppm yaitu 0,4747 g. Rata-rata tinggi tanaman paling rendah terdapat pada konsentrasi 0 ppm yaitu 0,9 cm, sedangkan rata-rata tinggi tanaman yang paling tinggi adalah pada konsentrasi 25 ppm yaitu 2,1 cm. Untuk karakter kualitatif warna daun yang mendominasi pada tiap tanaman adalah warna hijau agak kekuningan. Untuk jumlah stomata, semakin tinggi tingkat konsentrasi kolkhisin yang diberikan, maka semakin sedikit jumlah stomata yang ditemukan. Pada hasil pengamatan menunjukkan bahwa ditemukan perubahan jumlah kromosom dari kromosom dasarnya ($2n = 38$ menjadi $2n = 40$ hingga $2n = 48$). Hasil penggandaan kromosom paling banyak ditemukan pada konsentrasi 25 ppm.

DAFTAR ISI

	Halaman
RINGKASAN	i
KATA PENGANTAR	iii
RIWAYAT HIDUP	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR TABEL	viii
I. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan	3
1.3 Hipotesis	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Anggrek Bulan	4
2.1.1 Morfologi	4
2.1.2 Syarat Tumbuh	5
2.1.3 Perbanyakan	6
2.2 Poliploidi	7
2.3 Senyawa Kolkhisin	11
2.3.1 Sifat Kolkhisin	11
2.3.2 Penggunaan Kolkhisin	12
2.3.3 Pengaruh Kolkhisin	13
2.3.4 Teknik Mempelajari Aktivitas Kolkhisin	16
2.3.5 Tujuan Penggunaan Kolkhisin	18
III. BAHAN DAN METODE	
3.1 Tempat dan Waktu	20
3.2 Alat dan Bahan	20
3.3 Metode Penelitian	20
3.4 Pelaksanaan Penelitian	21

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil 26

 4.1.1 Umur Muncul Daun Pertama 26

 4.1.2 Umur Muncul Akar Pertama 27

 4.1.3 Jumlah Daun 27

 4.1.4 Pertambahan Jumlah Daun 28

 4.1.5 Bobot Tanaman 30

 4.1.6 Tinggi Tanaman 30

 4.1.7 Warna Daun 32

 4.1.8 Jumlah Stomata 33

 4.1.9 Jumlah Kromosom 36

4.2 Pembahasan 38

V. KESIMPULAN DAN SARAN 46

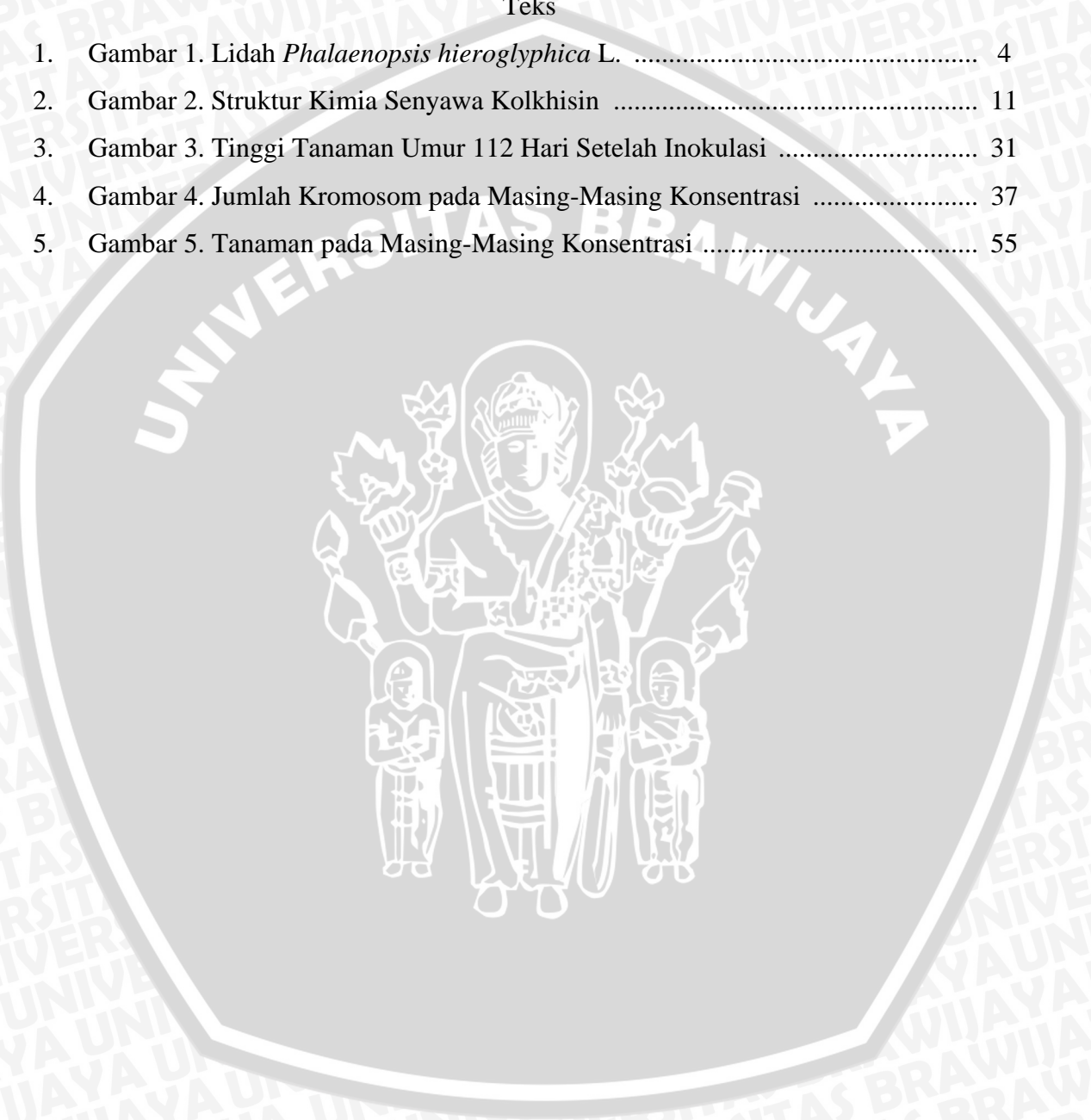
DAFTAR PUSTAKA

LAMPIRAN



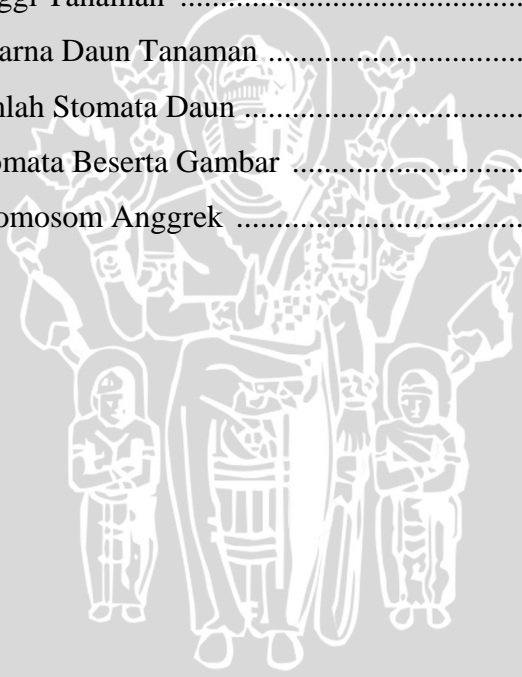
DAFTAR GAMBAR

NO.	Teks	Halaman
1.	Gambar 1. Lidah <i>Phalaenopsis hieroglyphica</i> L.	4
2.	Gambar 2. Struktur Kimia Senyawa Kolkhisin	11
3.	Gambar 3. Tinggi Tanaman Umur 112 Hari Setelah Inokulasi	31
4.	Gambar 4. Jumlah Kromosom pada Masing-Masing Konsentrasi	37
5.	Gambar 5. Tanaman pada Masing-Masing Konsentrasi	55



DAFTAR TABEL

NO.	Teks	Halaman
1.	Tabel 1. Anova	25
2.	Tabel 2. Rata-rata Umur Muncul Daun Pertama	26
3.	Tabel 3. Rata-rata Umur Muncul Akar Pertama	27
4.	Tabel 4. Rata-rata Jumlah Daun	28
5.	Tabel 5. Pertambahan Jumlah Daun	29
6.	Tabel 6. Rata-rata Bobot Tanaman	30
7.	Tabel 7. Rata-rata Tinggi Tanaman	31
8.	Tabel 8. Perbedaan Warna Daun Tanaman	32
9.	Tabel 9. Rata-rata Jumlah Stomata Daun	34
10.	Tabel 10. Jumlah Stomata Beserta Gambar	34
11.	Tabel 11. Jumlah Kromosom Anggrek	36



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Anggrek ialah tanaman bunga yang termasuk dalam famili Orchidaceae dan terkenal mempunyai nilai ekonomis yang tinggi karena bentuk dan warna bunga yang menarik (Kuehnle, 2007). Hingga saat ini tanaman anggrek lebih banyak diminati dibandingkan jenis tanaman lainnya. Lebih dari 75% dari semua jenis anggrek yang paling banyak diperdagangkan adalah jenis *Phalaenopsis* (Griesbach, 2002). *Phalaenopsis* ialah salah satu genus anggrek yang memiliki kurang lebih 40-50 spesies. Anggrek bulan termasuk salah satu spesies yang cukup populer karena peranannya sebagai induk dapat menghasilkan berbagai keturunan atau hibrida selanjutnya. Sehingga tingginya potensi anggrek tersebut harus diimbangi dengan pengembangan jenis-jenis baru yang lebih unggul.

Perbanyakan anggrek bulan dengan biji tidak dapat dilakukan secara konvensional karena biji anggrek tidak memiliki *endosperm*, sehingga untuk perkecambahannya hanya dapat dilakukan dengan menumbuhkannya pada medium buatan secara aseptik. Dengan cara ini dapat dihasilkan anggrek dengan jumlah banyak dan dalam waktu yang relatif singkat. Teknik pembibitan seperti ini sering disebut juga *in vitro* (Gunawan, 2002). Pemiakan dengan teknik kultur *in vitro* mempunyai beberapa keunggulan yaitu tanaman yang dihasilkan bebas patogen, dapat membiakan dalam jumlah yang relatif banyak, bisa menumbuhkan bagian vegetatif dari tanaman, dan lain-lain. Selain itu dengan teknik *in vitro*, maka tanaman anggrek bulan akan dengan mudah mendapat perlakuan tertentu dengan tujuan meningkatkan keragamannya.

Anggrek bulan (*Phalaenopsis hieroglyphica* L.) mempunyai tingkat pertumbuhan yang lebih cepat dibandingkan spesies lain. Selain itu anggrek ini memiliki keragaman bentuk dan corak warna yang sangat potensial untuk dikembangkan guna menambah keragamannya. Tetapi kekurangan dari anggrek ini ialah memiliki ketahanan masa berbunga hanya 4 – 5 hari. Perbaikan genetik dapat dilakukan dengan menambah keragaman karakteristik tanaman anggrek dan untuk

memenuhi persyaratan kualitas angrek tersebut bisa dilakukan dengan cara konvensional maupun inkonvensional. Secara konvensional dilakukan dengan cara persilangan atau mengawinkan bunga dengan cara meletakkan pollen pada stigma. Hasil dari persilangan adalah terjadinya pembentukan buah dan biji (Darmono, 2003). Secara inkonvensional yaitu dapat dilakukan dengan seleksi mutan, produksi tanaman homozigot, hibridisasi somatik, transfer gen, atau perbaikan varietas (Widiastoety, 2001).

Pengembangan keragaman tanaman angrek di Indonesia masih banyak diusahakan melalui kegiatan persilangan. Sedangkan di negara-negara lain pengembangan jenis tanaman angrek unggul tidak hanya melalui persilangan tetapi sudah menggunakan metode mutasi dan transgenik. Mutasi genetik semakin banyak digunakan untuk memproduksi varietas baru dengan karakter fisik dan fenotip tertentu seperti perubahan bentuk pertumbuhan, warna bunga, peningkatan ukuran, daya adaptasi serta ketahanan terhadap hama dan penyakit. Salah satu cara yang dapat dilakukan untuk memperbaiki kualitas tanaman ialah dengan manipulasi genom. Manipulasi genom dapat dilakukan dengan pemberian bahan mutagen berupa bahan kimia seperti kolkhisin.

Menurut Hieter & Griffiths (1999), kolkhisin merupakan salah satu reagen untuk mutasi yang menyebabkan terjadinya poliploidi (penggandaan jumlah kromosom) dimana organisme memiliki tiga atau lebih kromosom dalam sel-selnya, sedangkan sifat umum dari tanaman poliploid ini ialah menjadi lebih kekar, bagian tanaman (akar, batang, daun, bunga dan buah) lebih besar, sehingga sifat-sifat yang kurang baik akan menjadi lebih baik tanpa mengubah potensi hasilnya. Dirk *et al.*, (1956) menambahkan bahwa pengaruh kolkhisin terhadap pembelahan mitosis, pada tahap anafase menyebabkan terhambatnya pembentukan benang spindel dan menggandanya jumlah kromosom tanpa disertai pembelahan sel. Jumlah kromosom hasil mutasi kolkhisin dapat dihitung melalui pengamatan mikroskopis pada jaringan meristem akar. Hal tersebut merupakan metode yang akurat untuk menentukan poliploidi pada tanaman Watrous *et al.* (1988).

Anggrek yang telah mengalami poliploidisasi tidak hanya dimanfaatkan secara langsung, tetapi juga dapat digunakan sebagai bahan persilangan untuk menghasilkan jenis anggrek baru yang lebih berkualitas. Menurut Stock (2005), dengan membuat anggrek tetraploid, kemudian menyilangkan anggrek-anggrek tetraploid yang berbeda untuk mendapatkan anggrek tertraploid yang baru. Upaya poliploidi dengan menggunakan senyawa kolkhisin tersebut diharapkan dapat menghasilkan pengaruh yang lebih baik bagi tanaman anggrek *Phalaenopsis hieroglyphica* L., diantaranya dapat memperbesar ukuran bunga, memperbanyak jumlah bunga serta meningkatkan ketahanan masa berbunga tanaman anggrek.

1.2 Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian senyawa kolkhisin terhadap perubahan morfologi, anatomi dan genetik anggrek *Phalaenopsis hieroglyphica* L.

1.3 Hipotesis

Pemberian senyawa kolkhisin dapat menyebabkan poliploidi pada tanaman anggrek *Phalaenopsis hieroglyphica* L. sehingga berpengaruh pada perubahan morfologi, anatomi dan genetiknya.

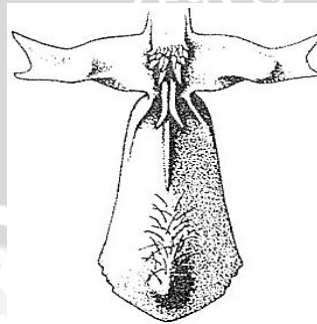
2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Anggrek Bulan

2.1.1 Morfologi

Anggrek dalam penggolongan taksonominya termasuk ke dalam famili Orchidaceae. *Phalaenopsis* (Anggrek Bulan) berasal dari bahasa Yunani, yaitu “Plaenos” yang berarti kupu-kupu dan “Opsis” yang berarti melihat. Dalam taksonomi tumbuhan, menurut Sweet (1969), klasifikasi anggrek bulan ialah sebagai berikut, Kingdom : Plantae ; Divisio : Angiospermae ; Kelas : Liliopsida ; Ordo : Asparagales ; Famili : Orchidaceae ; Subfamily : Epidendroideae ; Genus : *Phalaenopsis* ; Spesies : *Phalaenopsis hieroglyphica* L. Anggrek ini ditemukan di daerah Palawan-Philiphina dan merupakan salah satu spesies yang mempunyai pertumbuhan dan perkembangan yang relatif cepat (Anonymous^b, 2010).

Menurut Sweet (1969), anggrek tersebut termasuk tumbuhan yang hidup bergantung pada kondisi alam. Daun anggrek bulan berbentuk lanset dengan panjang daun antara 20 – 30 cm dan lebar hingga 9 cm. Daun berdaging tebal, berwarna hijau muda hingga hijau keunguan dan tangkai bunga agak condong sedikit cabang. Comber (1980), menjelaskan bahwa pertumbuhan batang anggrek bulan dengan arah vertikal pada salah satu titik tumbuh dan terdiri dari hanya satu batang utama. Ukuran batang sangat pendek dan di sepanjang batang selalu muncul akar udara. Akar anggrek bulan bersifat epifit dan tidak memiliki rambut. Pada akar terdapat jaringan filamen yang berfungsi memudahkan akar menyerap air sebagai alat pernafasan.



Gambar 1. Lidah *Phalaenopsis hieroglyphica*

Sumber : Sweet (1969)

Iswanto (2002) dan Purwantoro *et al.*, (2005) menyatakan bahwa anggrek *Phalaenopsis* sp., mempunyai satu cluster (satu kelompok bunga), berdasarkan kesamaan tipe pertumbuhan batang, keragaan tanaman, daun jumlah kuntum bunga, panjang tangkai bunga, diameter bunga dan panjang kelopak bunga. Sedangkan susunan yang lainnya ialah terdapat tiga buah sepal, tiga buah petal, satu sepal yang terletak di punggung dan dua sepalum lateral (daun kelopak samping). Anonymous^b (2010) menambahkan bahwa *Phalaenopsis hieroglyphica* L. memiliki tipe bunga yang indah, berwarna putih krem dengan corak merah kecoklatan, juga memiliki tangkai bunga yang panjang dan termasuk dalam tipe monopodial, yaitu dicirikan oleh titik tumbuh yang terdapat di ujung batang dan pertumbuhannya lurus ke atas pada satu batang.

2.1.2 Syarat Tumbuh

Tanaman Anggrek Bulan (*Phalaenopsis hieroglyphica* L.) merupakan salah satu jenis tanaman anggrek alam yang masih banyak penggemarnya. Hidup dalam keadaan yang lembab (antara 50% - 60%), tumbuh dengan baik jika menggunakan air hujan, dan sedikit menyukai sinar matahari (membutuhkan intensitas cahaya optimum antara 20% - 50% serta suhu optimum antara 18°C - 28°C (Anonymous^b, 2010).

Media tumbuh yang baik untuk tanaman anggrek harus memenuhi beberapa persyaratan, yaitu tidak lekas melapuk, tidak menjadi sumber penyakit, mempunyai aerasi baik, mampu mengikat air dan zat-zat hara secara baik, mudah didapat dalam jumlah yang diinginkan dan relatif murah harganya. Sampai saat ini belum ada media yang memenuhi semua persyaratan untuk pertumbuhan tanaman anggrek. Untuk kemasaman media (pH) yang baik berkisar antara 5 – 6. Media tumbuh sangat penting untuk pertumbuhan dan produksi bunga optimal, sehingga perlu adanya suatu usaha mencari media tumbuh yang sesuai. Media tumbuh yang sering digunakan di Indonesia antara lain moss, pakis, serutan kayu, potongan kayu, serabut kelapa, arang dan kulit pinus (Anonymous^a, 2009).

2.1.3 Perbanyakan

Menurut Daisy (2000), semua bunga anggrek mempunyai tipe bunga lengkap (monoandri) dimana serbuk sari dan putik berada dalam satu bunga, sehingga anggrek mudah mengalami penyerbukan. Tetapi, ada jenis anggrek yang putiknya tidak mempunyai zat perekat (*discus viscidis*), sehingga sulit bagi serbuk sari untuk dapat langsung jatuh dan menempel di kepala putik. Sriyanti (2000) menambahkan bahwa tipe anggrek tidak berperekat ini disebut *polinia* (misal: *Cattleya* dan *Dendrobium*), sedangkan tipe anggrek yang putiknya berperekat disebut *polinaria* (misal: *Vanda* dan *Phalaenopsis*). Kemudian biji anggrek bulan hasil penyerbukan bisa hidup di alam bebas biasanya memanfaatkan bakteri rizhobium.

Perbanyakan generatif pada anggrek bulan lebih banyak dilakukan dengan metode *in vitro* yaitu dengan menyebarkan dan mengecambahkan biji di dalam media agar secara aseptis. Biji yang ditabur harus diambil dari buah anggrek yang telah masak. Biji yang ditabur selanjutnya akan tumbuh (berkecambah) membentuk bulatan kecil yang berwarna hijau setelah berumur 3 – 4 bulan, 2 – 3 bulan kemudian akan tumbuh *planlet-planlet* yang sangat kecil (Sriyanti, 2000). Gunawan (2002), menambahkan bahwa pada biji anggrek, perkecambahan ditandai dengan terbentuknya protocorm diikuti dengan munculnya plumula dan radikula. Tanda-tanda biji anggrek berkecambah ialah biji kelihatan berwarna kuning hijau dan membentuk bulatan-bulatan seperti gelembung yang disebut dengan *Protocorm Like Bodies* (PLB). Protocorm adalah bentukan bulat yang siap membentuk pucuk dan akar sebagai awal perkecambahan pada biji yang tidak mempunyai endosperm.

Perbanyakan secara vegetatif dapat dilakukan dengan cara memotong anak tanaman yang keluar dari akar dan tangkai bunga yang selanjutnya ditanam ke media seperti pakis, moss serabut kelapa, arang, serutan kayu, disertai pecahan genting atau batu bata. Perbanyakan secara vegetatif ini akan menghasilkan anak tanaman yang mempunyai sifat genetik sama dengan induknya. Namun perbanyakan konvensional secara vegetatif ini tidak praktis dan tidak menguntungkan untuk tanaman bunga potong, karena jumlah anakan yang diperoleh dengan cara-cara ini sangat terbatas. Sedangkan perbanyakan dengan menggunakan metode kultur *in vitro* yaitu dengan

cara menumbuhkan jaringan-jaringan vegetatif (seperti : akar, daun, batang, mata tunas), pada media buatan berupa cairan atau padat secara aseptik. Dengan metode ini dapat diharapkan perbanyak tanaman dapat dilakukan secara cepat dan berjumlah banyak, serta sama dengan induknya (Anonymous^a, 2009).

2.2 Poliploidi

Keragaman merupakan hal penting dalam pemuliaan karena dapat ditemukan berbagai sumber gen untuk perbaikan suatu sifat tanaman. Gen-gen tersebut dapat ditransfer ke tanaman dengan cara konvensional maupun rekayasa genetik. Salah satu teknik pemuliaan untuk perbaikan sifat adalah perakitan poliploidi. Poliploidi ialah keadaan bahwa individu memiliki lebih dari dua genom normalnya. Tanaman poliploidi mempunyai jumlah kromosom lebih banyak dari pada tanaman diploidnya. Sehingga biasanya tanaman tersebut kelihatan lebih kekar, bagian tanaman lebih besar (akar, batang, daun, bunga dan buah), sel-selnya lebih besar dan inti sel juga lebih besar (Suryo, 2007).

Poliploidi pada tumbuhan dapat terjadi secara alami atau buatan. Menurut Suryo (2007), kemungkinan terjadinya poliploidi pada tumbuhan ialah:

1. Poliploidi terjadi di alam. Poliploid yang terjadi secara langsung dan disebabkan oleh pengaruh alam. Dua proses dasar yang tidak teratur dapat ditemukan sehingga poliploidi dapat terjadi dari tanaman diploid, ialah:
 - a. Kelipatan somatis, dimana sel bisa mengalami pemisahan yang tidak teratur selama mitosis sehingga menghasilkan sel-sel meristematis, yang menyebabkan kelipatan jumlah kromosomnya tetap berada dalam generasi baru dari tanaman itu.
 - b. Sel-sel produktif dapat mengalami reduksi yang tidak teratur atau mengalami pembelahan sel yang tidak teratur sehingga kromosom-kromosom tidak memisah secara sempurna ke kutub-kutub sel pada waktu anafase. Dengan demikian jumlah kromosom dalam gamet menjadi berlipat ganda.
2. Poliploidi yang sengaja dibuat (secara induksi). Biasanya untuk keperluan perbaikan kualitas dengan menggunakan zat-zat kimia tertentu seperti asam

nitrat, EMS (ethyl methane sulfonat), pewarna acridine (proflasin, acridine range), asenaften, kloralhidrat, sulfanilamid, eti-mercuri-klorid, heksa-klorosikloheksan dan kolkhisin. Dari semua zat kimia itu, kolkhisin merupakan zat yang paling sering digunakan karena lebih efektif dan sifatnya mudah larut dalam air. Sedangkan zat-zat kimia yang lainnya hanya dapat larut dalam gliserol.

Sifat poliploid mempunyai peran yang penting dalam peningkatan kualitas suatu spesies tanaman, seperti peningkatan keragaman genetik dan bisa meningkatkan ukuran atau memperbaiki bentuk bunga dari suatu tanaman. Dari keragaman tersebut, maka suatu tanaman dapat dijadikan sebagai tetua (Griesbach, 1981). Menurut Stansfield (1991), tingkat ploidi yang lebih tinggi dari tetraploid tidak umum ditemukan dalam populasi alamiah. Tetapi tanaman tetraploid sangat penting untuk digunakan pada kegiatan pemuliaan tanaman, karena mampu menghasilkan tampilan fenotip yang lebih kuat dari diploidnya. Beberapa triploid sebagaimana juga dengan tetraploid memperlihatkan fenotip yang lebih kuat dari pada yang diploid, karena pada umumnya mempunyai daun, bunga dan buah yang lebih besar. Bagaimanapun, pemuliaan poliploid (terutama pada triploid) juga mempunyai kelemahan, yaitu sulit dalam memproduksi biji, karena sifat dari triploid sendiri ialah membawa sifat sterilitas pada tanaman tersebut.

Crowder (1997), menjelaskan bahwa ada beberapa terminologi dalam poliploidi, antara lain:

- a. Haploid ialah tanaman yang mempunyai jumlah kromosom dari kelipatan jumlah kromosom dasar.
- b. Euploid ialah individu yang memiliki jumlah kromosom merupakan kelipatan dari kromosom dasarnya didalam kategori euploid ialah monoploid (n), diploid ($2n$), triploid ($3n$), tetraploid ($4n$), pentaploid ($5n$), dan seterusnya.
- c. Aneuploid ialah individu yang memilki jumlah kromosom bukan merupakan kelipatan kromosom dasarnya (n). yang termasuk di dalam kategori aneuploid ialah nulisomik ($2n-2$), monosomik ($2n-1$), monosomik ganda ($2n-1+1$),

trisomik ($2n+1$), trisomik ganda ($2n+1+1$), tetrasomik ($2n+n$), monosomik trisomik ($2n-1+1$).

- d. Hyperploidi ialah individu yang memiliki jumlah kromosom lebih banyak dari kelipatan n .
- e. Hypoploidi ialah individu yang memiliki jumlah kromosom lebih sedikit dari kelipatan n .

Menurut Poespodarsono (1988), terdapat beberapa pengaruh poliploidi terhadap tanaman, yaitu:

- a. Inti dan isi sel lebih besar. Hal ini ditunjukkan oleh ukuran stomata dan butir serbuk sari yang ukurannya lebih besar.
- b. Daun dan bunga bertambah besar. Pertambahan ini ada batasnya hingga bila terjadi pertambahan secara terus menerus pada jumlah kromosom, tidak menyebabkan penambahan secara berlanjut.
- c. Dapat terjadi perubahan senyawa kimia, termasuk peningkatan atau perubahan pada jenis atau proporsi karbohidrat, protein, vitamin atau alkaloid.
- d. Laju pertumbuhannya lebih lambat dibandingkan tanaman diploid dan proses pembungaannya juga terhambat.
- e. Meiosis sering tidak teratur, sehingga terjadi kromosom tidak berpasangan dan terbentuk bivalen, trivalen, dan seterusnya.
- f. Fertilitas pada poliploidi dapat terjadi penurunan (daya hidup tepung sari dan jumlah biji).
- g. Segregasi genetik berubah sehingga perbandingan segregasi menjadi tetrasomik (pada tetraploid), hexasomik (pada heksaploid), dan seterusnya.
- h. Poliploidi ganjil seperti triploid dan pentaploid hampir seluruhnya steril, karena pemisahan tidak teratur pada proses meiosis, menyebabkan pembentukan gamet tidak seimbang.

Program poliploidi pada tanaman anggrek *Phalaenopsis* dilakukan sejak tahun 1930, ketika *Phalaenopsis amabilis* L. ($2n = 4x = 76$) pertama kali ditemukan. Poliploidi pada anggrek *Phalaenopsis amabilis* L. menyebabkan terjadinya perubahan bentuk yang awalnya dalam keadaannya normal menjadi gigantisme. Ciri-

cirinya tanaman menjadi lebih besar, permukaan daun lebih mengkilat, batang menjadi lebih kuat, begitu pula dengan bunganya yang lebih besar dari diploidnya (Macleod *et al.*, 1947).

Salah satu cara untuk ploidisasi ialah penggunaan senyawa kolkhisin. Urwin *et al.* (2007), menyatakan bahwa percobaannya pada tanaman lavender (*Lavandula angustifolia*) menghasilkan tanaman autotetraploid. Morfologi yang didapat antara lain tangkai bunga lebih tebal, ukuran bunga dan biji lebih besar. Miranda (2008) menambahkan bahwa pada penelitiannya tanaman *Sophronis coccinea* (Laelilina) menjadi tetraploid, sehingga menyebabkan perubahan ukuran bunga walaupun tidak banyak, namun bentuk bunga menjadi lebih bulat dan substansi bunga lebih banyak dibandingkan dengan tanaman diploidnya.

Anggrek yang telah mengalami poliploidisasi tidak hanya dimanfaatkan secara langsung, tetapi dapat juga digunakan sebagai bahan persilangan untuk menghasilkan jenis anggrek baru yang lebih berkualitas. Hal ini dilakukan oleh Stock (2005) dengan membuat anggrek-anggrek tetraploid, kemudian menyilangkan anggrek-anggrek tetraploid yang berbeda untuk mendapatkan anggrek tetraploid yang baru. Hasil percobaannya menyilangkan anggrek *Phalaenopsis* kuning tetraploid dengan *Phalaenopsis* merah muda sehingga menghasilkan *Phalaenopsis* merah yang sangat cantik.

Beberapa contoh anggrek hibrida lain yang diperoleh dengan perlakuan kolkhisin yang telah dipasarkan, antara lain : persilangan *Cymbidium* asal Australia yaitu H763 *Cymbidium sueve* (2n) x H783 *Cymbidium sueve* (2n), kemudian *Phalaenopsis equestris* 'Riverbend' (4n) x *Phalaenopsis Be Tris* (3n), yang menghasilkan warna yang sangat berbeda, lebih berat dan mempunyai bentuk yang lebih baik dari pada *Phalaenopsis equestris* 'Riverbend' (4n) (Griesbach, 2002).

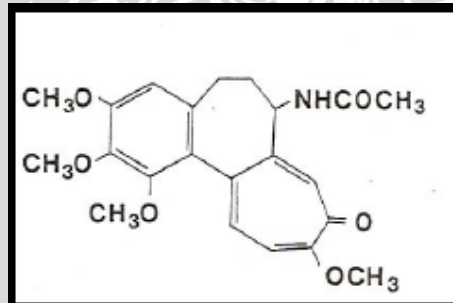
Menurut Macleod (1947) dan Rotor (1958) menjelaskan bahwa poliploidi pada anggrek *Phalaenopsis* dapat dilakukan dengan cara perendaman biji dengan larutan kolkhisin, kemudian di gojog selama beberapa jam. Nakasone dan Kamemoto (1961) menambahkan bahwa poliploid dapat dicapai dengan pengaplikasian beberapa konsentrasi larutan senyawa kolkhisin, yang dapat diteteskan pada biji anggrek,

protokrom, jaringan meristem, fase perkecambahan juga pada fase pembungaan. Sedangkan pada tahun 1966, Wimber dan Cott menyatakan bahwa proses induksi larutan kolkhisin pada fase protokorm (PLB) mempunyai persentase keberhasilan yang lebih tinggi.

2.3 Senyawa Kolkhisin

Menurut Suryo (2007), kolkhisin ($C_{22}H_{25}O_6N$) merupakan suatu alkaloid yang berasal dari umbi dan biji tanaman Autumn crocus (*Colchicum autumnale* L.) yang termasuk dalam famili Liliaceae. Sulistianingsih (2006), menyatakan bahwa kolkhisin ialah salah satu reagen untuk mutasi yang menyebabkan terjadinya poliploid dimana organisme memiliki tiga set atau lebih kromosom dalam sel-selnya. Sedangkan sifat umum dari tanaman poliploid ini ialah tanaman menjadi lebih kekar, bagian tanaman lebih besar, sehingga nantinya sifat-sifat yang kurang baik akan menjadi lebih baik.

Struktur senyawa kolkhisin dapat dilihat pada gambar 2 berikut ini :



Gambar 2. Struktur kimia senyawa kolkhisin (Sumber : Morejohn et al., 1987)

2.3.1 Sifat Kolkhisin

Kolkhisin bersifat racun, terutama pada tumbuhan memperlihatkan pengaruhnya pada nukleus yang sedang membelah. Larutan kolkhisin dengan konsentrasi kritis dapat mencegah terbentuknya benang plasma dari gelendong inti (spindel), sehingga pemisahan kromosom pada anafase dari mitosis tidak berlangsung dan menyebabkan penggandaan kromosom tanpa pembentukan dinding sel. Proses mitosis mengalami modifikasi dan dinamakan C-mitosis. Karena tidak terbentuk benang spindel, maka kromosom tetap berserakan dalam sitoplasma. Pada stadium ini

kromosom-kromosom memperlihatkan gambaran yang khas yaitu tanda silang. Akan tetapi kromosom-kromosom dapat memisahkan diri pada sentromernya mulai dari C-anafase selanjutnya terbentuk dinding nukleus (Suryo, 2007). Nasir (2002), menambahkan kolkhisin dapat menghasilkan pengaruh dengan mengikat protein (tubulin) yang mencegah protein tersebut menjadi serat benang fungsional.

Sel-sel tumbuhan pada umumnya tahan terhadap konsentrasi larutan kolkhisin yang relatif kuat. Menurut Jaskani *et al.*, (2004) dan Sumarji (2006), perlakuan kolkhisin secara *in vitro* dapat diaplikasikan pada bagian plumula, radikula dan kotiledon sebagai eksplan. Substansi kolkhisin cepat mengadakan difusi ke dalam jaringan tanaman dan kemudian disebarluaskan ke bagian tubuh tanaman melalui jaringan pengangkut. Ketika sampai pada sel-sel meristematik, maka aksi menghambat proses pembelahan mitosis dan kromosom-kromosom yang telah menduplikasi tidak memisah menjadi dua sel, tetapi tetap tinggal dalam satu sel sehingga mempunyai kromosom yang mengganda.

2.3.2 Penggunaan Kolkhisin

Menurut Suryo (2007), tidak ada ukuran tertentu mengenai besarnya konsentrasi larutan kolkhisin yang harus digunakan, juga mengenai pengaruh lamanya waktu perlakuan. Namun dapat dikatakan bahwa pada umumnya kolkhisin akan bekerja efektif pada konsentrasi 0.01 – 1.00 %. Sedangkan lamanya perlakuan kolkhisin akan bekerja efektif antara 3 – 24 jam. Jika konsentrasi larutan kolkhisin dan lama waktu perlakuan kurang mencapai keadaan yang tepat, maka poliploidi belum dapat diperoleh. Sedangkan jika konsentrasinya terlalu tinggi atau waktu perlakuannya terlalu lama, maka kolkhisin akan memperlihatkan pengaruh negatif yaitu penampilan tanaman menjadi jelek, sel-sel banyak yang rusak atau bahkan menyebabkan tanaman menjadi mati. Sedangkan pada hasil penelitiannya, Sulistianingsih dkk (2006) menyatakan bahwa, perlakuan dengan waktu perendaman 6 jam dengan konsentrasi 0.02 % menghasilkan jumlah kromosom yang paling banyak, yaitu sebesar 96,667 (2n) dengan rerata perlakuan menunjukkan jumlah kromosom (2n=88,148) lebih besar dibandingkan dengan kontrol (2n=38).

Wardiyati dkk (2002), menyatakan bahwa pemberian kolkhisin 0.1 ppm pada protocorm anggrek *Phalaenopsis amabilis* telah memberikan penambahan besar ukuran daun. Kolkhisin dapat diberikan sampai 1 ppm, karena belum menunjukkan kematian yang fatal. Sedangkan menurut Sutopo *et al.*, (1992), beberapa percobaan menunjukkan bahwa penggunaan konsentrasi larutan kolkhisin yang tinggi dan diberikan dalam waktu yang singkat, dapat memberikan hasil yang lebih baik. Kepekatan, konsentrasi, serta lama pemberian kolkhisin antar spesies tanaman dapat berbeda. Untuk benih yang cepat berkecambah, benih direndam dalam larutan antara 0.001 – 1.5 %. Sedangkan untuk benih yang lambat berkecambah, perlakuan tersebut ditunda sampai akar muncul, dengan dosis yang digunakan antara 0.5 – 1.0 %.

Berdasarkan mekanisme kerja kolkhisin yang spesifik pada tahap mitosis anafase, maka pemberian kolkhisin lebih tertuju pada bagian tanaman yang sedang membelah aktif atau yang biasa disebut sebagai daerah meristematik. Induksi poliploid pada tanaman anggrek dengan menggunakan larutan kolkhisin bisa di aplikasikan pada bagian jaringan meristematis tanaman (akar, daun, fase perkecambahan) dan langsung pada biji. Pengaplikasian kolkhisin ke tanaman anggrek pada fase PLB (*Protocorm Like Bodies*) merupakan metode yang paling mudah karena pada fase ini proses mutasi tidak perlu mencari bagian titik tumbuh atau daerah meristematik lagi (Anonymous^a, 2010).

Sumarji (2006) menjelaskan bahwa poliploid dapat dicapai dengan cara perendaman pada fase benih dan fase kecambah dalam mendapatkan semangka tetraploid. Penggunaan kolkhisin juga dapat dilakukan dengan metode penetasan bagian tanaman, dimana yang diberi perlakuan ini ialah bagian mata kucup, bunga dan pada fase bibit. Kolkhisin dapat juga diperlakukan pada induksi kultur *in vitro* (misalnya media MS+1 μ M BA+Kolkhisin), dimana perlakuan ini bagian tanaman yang digunakan sebagai eksplan ialah kotiledin, hipokotil dan epikotil.

2.3.3 Pengaruh Kolkhisin

1. Kromosom

Pada penelitiannya, Hartati (2000), menjelaskan bahwa variasi jumlah kromosom dapat dilihat dari hasil perlakuan dengan kolkhisin. Jumlah kromosom

tanaman F1 hasil persilangan antara *Hisbiscus radiatus* L. ($2n=4n=72$) dengan *Hisbicus cannabinus* L. ($2n=2x=36$) menghasilkan tanaman dengan set kromosom 54 ($2n=3n=54$) yang merupakan tanaman triploid. Jumlah ini didasarkan pada jumlah kromosom dasar dari *Hisbiscus sp.*, yaitu $x=18$. Sulistianingsih dkk. (2006) menambahkan bahwa kolkhisin berpengaruh terhadap jumlah kromosom angrek *Dendrobium*. Penambahan jumlah kromosom ini diperoleh pada lama perndaman 6 jam dengan konsentrasi kolkhisin 0.02%, yaitu sebanyak $2n=96$.

Pengaruh penggunaan kolkhisin terhadap tanaman tidak selalu mengakibatkan pertumbuhan genom mengikuti suatu deret ukur seperti $4n$, $8n$, $16n$, $32n$ dan seterusnya. Hal tersebut dibuktikan pada penelitian Sumarji (2006), yang menunjukkan bahwa perlakuan kolkhisin menyebabkan terjadinya penggandaan kromosom pada semangka menjadi 26, 30, 34, 38, 40, dan 44. Disamping itu kolkhisin juga menyebabkan keragaman fenotip, fisiologi dan hasil antar individu yang memiliki kromosom yang sama.

Alard (1960), menyatakan bahwa pada umumnya penggandaan kromosom mengakibatkan ketidakseimbangan genotipe sehingga menyebabkan perbedaan morfologi dengan tanaman yang tidak mengalami penggandaan kromosom. Tambong (1998), menambahkan bahwa umur berbunga pada tanaman termutasi semakin lambat, karena mengalami penggandaan kromosom pada organ reproduksi. Hal tersebut disebabkan pembelahan sel termutasi lebih lambat dibanding sel tanaman normal, sehingga memperpanjang rata-rata umur vegetatif tanaman. Lambatnya pembelahan sel ini disebabkan penambahan jumlah kromosom yang berdampak pada berkurangnya tekanan osmotik sel.

Secara visual, warna daun tanaman yang mengalami penggandaan kromosom akibat perlakuan kolkhisin mempunyai daun berwarna lebih hijau. Hal ini disebabkan oleh kandungan klorofil yang ada di daun tanaman termutasi cenderung tinggi dibandingkan dengan kontrol. Ketika daun dan batang terbentuk, kloroplas yang berasal dari proplastid yang membelah pada saat embrio berkembang menjadi kloroplas, sehingga pada daun tanaman mengalami penggandaan kromosom dan terdapat beratus-ratus kloroplas baru (Salisbury *et al.*, 1992).

2. Morfologi Tanaman

Dampak morfologi akibat perlakuan kolkhisin pada setiap tanaman berbeda-beda. Hal ini dapat dilihat pada beberapa hasil penelitian yang telah dilakukan. Perlakuan kolkhisin menyebabkan terjadinya penyimpangan morfologi pada fase pertumbuhan vegetatif, meliputi titik tumbuh, daun pertama dan berikutnya, batang, bunga dan kapsul dengan tingkat penyimpangan dan presentase tanaman termutasi yang bervariasi. Pada karakter pertumbuhan vegetatif, yaitu tinggi tanaman, diameter batang dan luas daun terjadi penurunan pertumbuhan. Sedangkan pada karakter pertumbuhan generatif terjadi penambahan umur berbunga, berkurangnya kemampuan tanaman menghasilkan bunga dan berkurangnya tanaman dalam menghasilkan kapsul. Tetapi perlakuan kolkhisin yang menghasilkan tanaman tetraploid yang bisa menyebabkan kapsul menjadi berbiji (Hartati, 2000).

Adanya variasi perubahan yang terjadi pada tanaman akibat pengaruh kolkhisin sangat mungkin terjadi. Avery *et al.* (1947) menyatakan bahwa sebagian tanaman mengalami mutasi pada hampir seluruh bagian tanaman, mulai titik tumbuh hingga organ generatif, tetapi sebagian lainnya mengalami mutasi pada beberapa organ saja. Dari hal tersebut, dapat disimpulkan bahwa kolkhisin yang diberikan pada setiap individu tanaman tidak mempengaruhi semua sel tanaman, tetapi hanya sebagian sel-sel saja. Adanya pengaruh yang berbeda pada sel-sel tanaman disebabkan kolkhisin hanya efektif pada sel yang aktif membelah saja.

Menurut Suryo (2007), bahwa tingkat konsentrasi kolkhisin mengakibatkan perbedaan fenotip tanaman yang termutasi. Semakin tinggi konsentrasi kolkhisin, maka semakin besar presentase tanaman yang termutasi. Hal ini berkaitan dengan daya kerja kolkhisin yang mempengaruhi sel-sel tanaman. Kepekaan sel tanaman terhadap tingkat konsentrasi kolkhisin dipengaruhi oleh genotip tanaman dan bagian tanaman yang diperlakukan. Salah satu indikasi terjadinya perubahan pada sel atau mengalami penggandaan kromosom ialah menghambatnya pertumbuhan tanaman pada waktu awal, kemudian bisa mengalami pertumbuhan gigans.

Dalam penelitiannya, Tresina (2008) menyimpulkan bahwa pengaruh senyawa kolkhisin menyebabkan terjadinya interaksi antara tingkat konsentrasi dan waktu

perendaman yang tidak memberikan pengaruh terhadap waktu inisiasi akar. Tetapi dalam hal ini, interaksi antara tingkat konsentrasi dan waktu perendaman memberikan pengaruh terhadap panjang tanaman. Selain itu, pengaruh pemberian konsentrasi kolkhisin yang semakin tinggi menyebabkan penggandaan kromosom semakin banyak.

Crowder (1997) menambahkan bahwa metode yang paling berguna untuk menggandakan kromosom ialah dengan perlakuan kolkhisin yang telah dipekatkan dalam pasta lanolin atau larutan, pada organ vegetatif tanaman. Pasta kolkhisin dengan konsentrasi 0.5% – 10% dioleskan pada bagian titik tumbuh bibit atau bibit direndam dalam larutan kolkhisin selama periode waktu tertentu. Tetapi dalam hal ini, respon setiap jenis tanaman terhadap kolkhisin sangat bervariasi, begitu pula terhadap perbedaan konsentrasi larutan.

2.3.4 Teknik Mempelajari Aktivitas Kolkhisin

1. Morfologi Tanaman

Menurut Mangoendidjojo (2003), variasi genetik pada tanaman dapat terjadi karena adanya persilangan-persilangan dan adanya mutasi maupun ploidisasi. Variasi pada beberapa tanaman dapat dinilai dari sifat kuantitatif dan kualitatif. Sifat kualitatif dapat dilihat dari perbedaan warna bunga, daun, dan bentuk biji. Sedangkan sifat kuantitatif dapat dilihat dari tingkat produksi, jumlah anakan, tinggi tanaman dan lainnya.

Karakteristik morfologi merupakan satu indikator untuk melihat keberhasilan poliploidisasi. Perubahan pada karakteristik morfologi tanaman dapat disebabkan adanya perubahan pada gen atau kromosom yang mengalami mutasi. Pada sel-sel somatis, mutasi terjadi pada saat pembelahan mitosis. Bila perubahan tersebut terjadi pada suatu bagian tanaman, maka bagian tersebut akan memberikan kenampakan yang berlainan.

Menurut Wang *et al.* (1992), pada umumnya tanaman poliploidi tidak berbeda dengan tanaman diploidnya, hanya bentuk dan ukurannya yang berbeda. Hal ini dapat dilihat dari tinggi atau panjang tanaman, bentuk dan ukuran daun serta bentuk dan

ukuran bunga. Hal tersebut disebabkan adanya penambahan substansi dan jumlah kromosom yang menyebabkan ukuran sel menjadi lebih besar. Daun pada tanaman poliploid cenderung lebih tebal dan lebih hijau dari pada daun pada tanaman diploidnya. Pada tanaman kubis (*Brasica oleraceae*) menunjukkan bahwa presentase tanaman mengalami perubahan fenotip, meliputi berkurangnya tinggi tanaman dan menebalnya daun dengan pemberian kolkhisin pada taraf 0.2 %. Dia juga menegaskan menyatakan bahwa tinggi tanaman dapat digunakan sebagai indeks untuk mengidentifikasi terjadinya penggandaan kromosom. Kesimpulan hasil penelitiannya menjelaskan bahwa tanaman yang memiliki kromosom yang telah mengganda ialah tanaman yang memiliki tinggi kurang dari 10 mm dan tidak satupun tanaman dengan tinggi lebih dari 31 mm mengalami penggandaan kromosom.

2. Studi Kromosom

Suryo (2007) menjelaskan bahwa aktivitas kolkhisin pada makhluk hidup dapat dipelajari dengan melakukan pengamatan pada jumlah kromosomnya, karena kolkhisin merupakan suatu mutagen yang dapat menghambat proses mitosis. Sedangkan untuk menghitung jumlah kromosom pada sel somatis di daerah ujung akar, merupakan salah satu cara yang paling sering dilakukan untuk mengetahui tingkat poliploidi sebagai hasil mutasi menggunakan kolkhisin. Selain itu dapat pula dilakukan penghitungan kromosom pada sel-sel serbuk sari yang diberi pewarnaan menggunakan aceto-carmine.

Pengamatan kromosom dapat pula dilakukan pada jaringan meristem akar yang diwarnai dengan acetocarmine 1%, aceto-orcein 1% dan ciemsa-solution 2%. Namun pewarnaan tradisional menggunakan acetocarmine, aceto-orcein atau ciemsa-solution menampilkan bentuk kromosom yang kurang informatif dilihat dengan mikroskop optik pada umumnya. Hal tersebut disebabkan oleh ukuran kromosom mitotik yang sangat kecil ($1.0 - 4.0 \mu\text{m}$) dan kebanyakan bentuk morfologi kromosomnya serupa (Jaskani *et al.*, 2007).

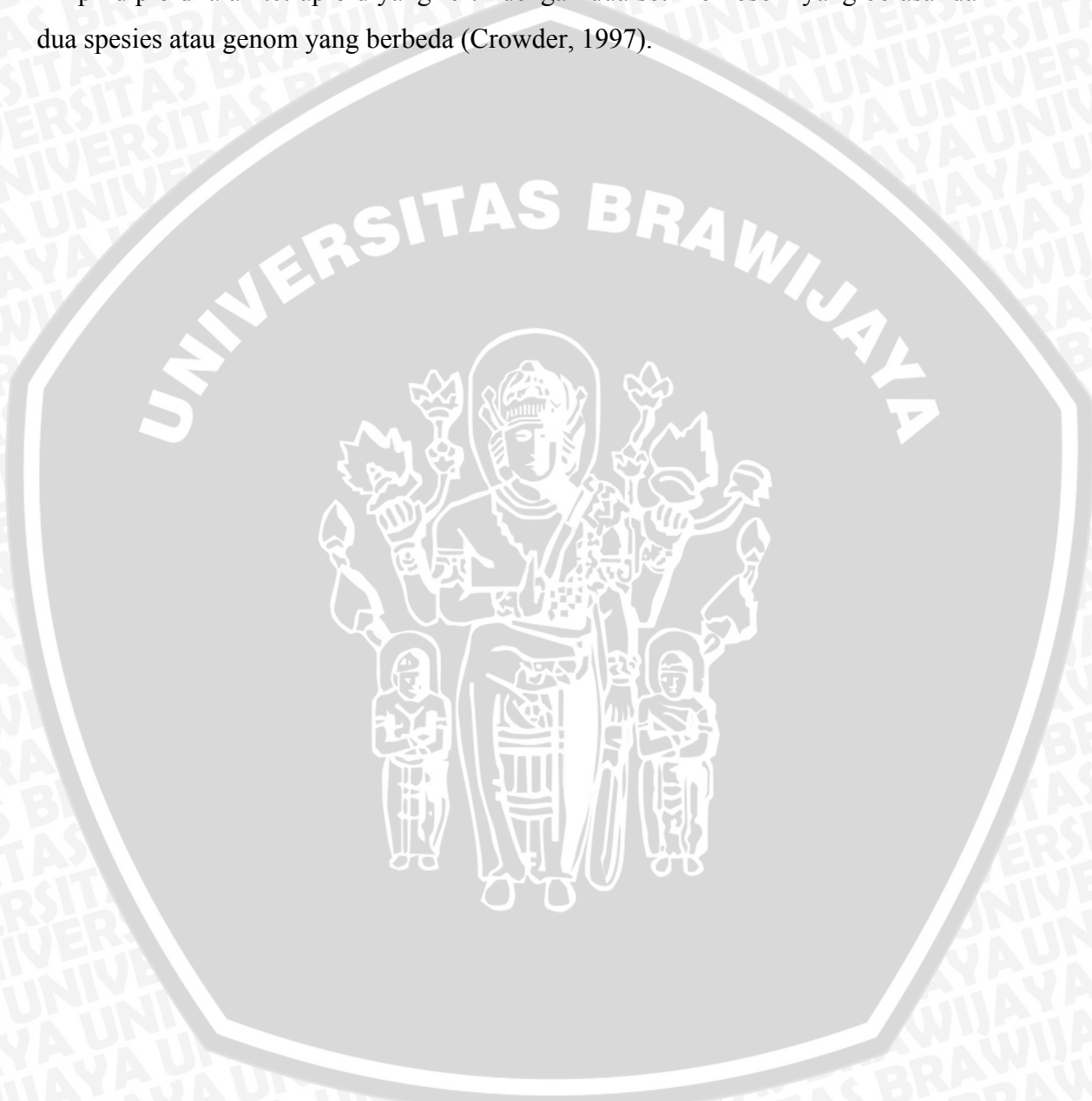
2.3.5 Tujuan Penggunaan Kolkhisin

Menurut Kalie (1993) kolkhisin digunakan untuk menghasilkan tanaman tetraploid, yaitu tanaman yang memiliki empat set kromosom. Hal ini dapat terjadi karena kolkhisin mampu berdifusi secara cepat melalui jaringan tanaman dan ditranslokasikan melalui sistem pembuluh. Ketika sampai pada sel-sel meristematis, kolkhisin akan menghambat proses pembelahan mitosis, terutama pada saat tahap anafase dengan mencegah terbentuknya benang spindel. Husni dkk (1995), menambahkan bahwa penggandaan kromosom secara *in vitro* dapat dilakukan pada bahan tanaman yang masih sangat muda, bahkan pada tingkat sel. Perlakuan kolkhisin untuk menggandakan kromosom pada tanaman yang masih muda, dilakukan dengan mencelupkan bagian titik tumbuh tanaman dalam larutan kolkhisin atau dengan meneteskan larutan kolkhisin pada tanaman yang akan diperlakukan.

Tanaman tetraploid yang terjadi akibat adanya penggandaan kromosom menyebabkan penampakan secara morfologi pada daun, biji, dan buah yang tampak lebih besar sehingga lebih disukai oleh konsumen. Crowder (1997), menyatakan bahwa penggandaan kromosom dapat menyebabkan penambah ukuran sel yang berdampak pada morfologi tanaman seperti penambahan ukuran daun, batang dan bunga, tetapi juga dapat menurunkan tingkat kesuburan atau fertilitas tanaman. Suryo (2007) menambahkan bahwa menurunnya tingkat kesuburan disebabkan gangguan dalam pembentukan gamet, karena pasangan-pasangan kromosom pada meiosis hanya terbatas pada dua kromosom homolog saja. Hal tersebut menyebabkan kromosom homolog yang ke tiga tidak dapat mengadakan pasangan dengan dua kromosom homolog lainnya. Arditti (1992), menambahkan bahwa poliploidisasi dapat menyebabkan pertambahan ukuran daun, bunga, dan ketebalan bunga, sama seperti warna hijau yang lebih gelap.

Kolkhisin dapat digunakan untuk mengatasi sterilitas tanaman hasil persilangan antar spesies akibat ketidak seimbangan kromosom ketika terjadi pembelahan mitosis, dimana pergerakan kromosom yang multivalen menyebabkan terbentuknya sel-sel khimera dengan jumlah kromosom homolog sedikit atau tidak ada sama sekali (Husni dkk, 1995). Poespodarsono (1988), menegaskan bahwa

penggandaan kromosom secara buatan sebagai salah satu upaya untuk mengatasi sterilitas hasil persilangan dilakukan sedini mungkin. Penggandaan pada tahap ini dimaksudkan untuk meningkatkan peluang mendapatkan tanaman amphidiploid. Amphidiploid ialah tetraploid yang fertil dengan dua set kromosom yang berasal dari dua spesies atau genom yang berbeda (Crowder, 1997).



3. BAHAN DAN METODE

3.1 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi – Pemuliaan Tanaman, Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang, mulai bulan Mei hingga bulan Agustus 2010.

3.2 Alat dan Bahan

a. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah pinset, spatula, botol kultur, scalpel, sprayer, backer glass, gelas ukur, entkas, neraca ohaus, bunsen, pipet, petridish, mikroskop elektron, preparat, kamera, autoclave dan kompor gas.

b. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah PLB (*Protocorm Like Body*) anggrek *Phalanopsis hieroglyphica* L. berumur \pm 4 bulan (2-3 mm) setelah sub kultur yang ke dua, senyawa kolkhisin, alkohol 70% dan 90%, aquadest, benlate atau clorox, larutan stock makro dan stock mikro (media $\frac{1}{2}$ MS), agar pemat, Fe-EDTA, Myo-inositol, vitamin, sukrosa, air kelapa (250 ml/L), HCl, NaOH, larutan ekstraksi untuk kolkhisin (EDTA, Tris HCl, dan NaCl), pH universal, kertas penghisap, larutan fiksasi (L-Ascorbic acid, 8-Hydroxyquinoline 0.002 M, AAG + Ethyl alkohol 3:1, HCl 2 N, Aceto-carmine, pektinase 5%, dan enzim mixture 5%.

3.3 Metode Penelitian

Percobaan dilaksanakan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap, dimana terdiri dari lima perlakuan konsentrasi dengan lima kali ulangan. Pada setiap perlakuan dalam satu ulangan terdiri dari lima botol, dan masing-masing botol berisi empat eksplan (PLB). Dengan demikian total eksplan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 500 eksplan. Berikut ialah konsentrasi perlakuan yang dipakai dalam penelitian ini:

K1 : konsentrasi 0 g / L = 0 ppm (Kontrol)

K2 : konsentrasi 0.005 g / L = 5 ppm

K3 : konsentrasi 0.01 g / L = 10 ppm

K4 : konsentrasi 0.02 g / L = 20 ppm

K5 : konsentrasi 0.025 g / L = 25 ppm

Metode yang digunakan dalam proses ploidisasi, ialah dengan cara PLB (*Protocorm Like Bodies*) dari *Phalaenopsis hieroglyphica* L direndam kedalam larutan kolkhisin (volume 10 ml) selama 6 jam pada suhu ruang (25°C). Sedangkan untuk pengamatan kromosom dilakukan dengan metode Squashing pada tahap mitosis dibawah mikroskop pada perbesaran 1000x.

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Persiapan

a. Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi terhadap alat dilakukan dengan cara mencuci dengan detergen dan air mengalir, selanjutnya disterilisasi dalam oven. Bahan menggunakan media ½ MS yang sudah disterilkan dengan autoclave dengan suhu 121°C pada tekanan 15 psi selama 20 menit. PLB (*Protocorm Like Bodies*) *Phalaenopsis hieroglyphica* L. yang digunakan sebagai eksplant dicuci dan dibilas dengan aquadest untuk menghilangkan sisa agar yang menempel pada eksplan sebelum direndam larutan kolkhisin dan disubkulturkan, sedangkan sterilisasi PLB dilakukan didalam entkas.

b. Pembuatan Media

Media tumbuh untuk inokulasi PLB ialah media ½ MS dengan komposisi bahan dapat dilihat pada lampiran 3. Adapun cara pembuatannya ialah:

- a. Menyiapkan alat yang akan digunakan (timbangan analitik, spatula, gelas ukur, backerglass, pH meter, corong, dan autoclaf).
- b. Menyiapkan larutan stock makro dan mikro, larutan Fe-EDTA, vitamin (Myo-inositol), agar, sukrosa, vitamin C, larutan HCl dan ZPT (auxin dan sitokinin).
- c. Menghitung kebutuhan larutan stock makro dan mikro serta bahan lainnya sebagai larutan induk.

- d. Mengambil dan mencampur larutan induk dengan air kelapa dan dipanaskan kemudian ditambah sukrosa, agar pematid dan aquadest steril hingga mencapai volume media yang dihitung.
- e. Mengukur pH media (5.4 – 5.8) dengan menggunakan kertas lakmus atau pH meter. Jika pH kurang dari 5.8 maka perlu ditambah NaOH atau KOH 1N, sedangkan jika pH lebih dari 5.8 maka perlu ditambah HCl 1N, sehingga media mempunyai keasaman yang sesuai.
- f. Bahan diaduk hingga homogen dan mendidih.
- g. Menyiapkan botol kultur selanjutnya larutan media dituangkan ke botol kultur sebanyak 30 ml dan ditutup dengan karet penutup.
- h. Media disterilkan dalam autoclave dengan suhu 121°C dengan tekanan 15 psi selama 20 menit kemudian disimpan dalam ruang simpan.

c. Pembuatan Larutan Kolkhisin

Kebutuhan konsentrasi kolkhisin yang digunakan dalam penelitian ini ialah 0 gr / L (setara dengan 0 ppm) ; 0.005 g / L (setara dengan 5 ppm) ; 0.01 g / L (setara dengan 10 ppm) ; 0.02 g / L (setara dengan 20 ppm); dan 0.025 g / L (setara dengan 25 ppm) pada setiap perlakuannya. Pembuatan kolkhisin dimulai dengan penimbangan serbuk kolkhisin, sesuai dengan perlakuan. Selanjutnya dilarutkan dalam 10 tetes alkohol 95% dan ditambah dengan aquadest hingga volume 1 liter. Larutan kolkhisin kemudian disaring dengan kertas saring steril berukuran 0.02 mikro dan disimpan dalam botol steril sebagai larutan stock. Botol yang berisi larutan stock ditutup rapat agar tidak terkena cahaya dan pekerjaan tersebut dilakukan dalam *Laminar Air Flow* atau Entkas (Zainudin, 2006).

d. Membuat Larutan Aceto-carmine

Larutan pewarna Aceto-carmine dibuat dengan cara melarutkan 1 g carmine ke dalam asam acetat glasial 45% sebanyak 50 cc, kemudian larutkan dengan cara dipanaskan dan dibiarkan hingga mendidih selanjutnya dibiarkan semalaman. Larutan yang sudah dingin disaring dengan kertas saring untuk memisahkan carmine yang masih menggumpal (Ardian, 2008).

3.4.2 Pelaksanaan

a. Penginduksian Kolkhisin

Penginduksian kolkhisin dilakukan dengan cara perendam PLB (*Protocorm Like Bodies*) dalam larutan kolkhisin selama 6 jam dengan masing-masing perlakuan konsentrasi kolkhisin (0 g/L ; 0.005 g/L ; 0.01 g/L ; 0.02 g/L ; 0.025 g/L). Penginduksian membutuhkan larutan kolkhisin sebanyak 10 ml (hingga PLB terendam). Perendaman dilakukan antara pukul 07.00 – 08.30, karena pada waktu ini anggrek *Phalaenopsis hieroglyphica* paling banyak mengalami mitosis.

b. Inokulasi PLB (*Protocorm Like Bodies*)

Proses inokulasi PLB dilakukan di dalam entkas. Bibit anggrek *Phalaenopsis hieroglyphica* L. hasil dari kultur embrio yang mencapai fase PLB (*Protocorm Like Bodies*) dengan panjang 2-8 mm, dicuci dengan aquadest. Kemudian PLB direndam dalam larutan kolkhisin selama 6 jam. Selanjutnya PLB hasil rendaman kolkhisin diinokulasi lagi ke media $\frac{1}{2}$ MS. Proses regenerasian dilakukan sampai pertumbuhan akar dan plumula, sedangkan untuk pengamatan mikroskopis kromosom dilakukan pada bagian meristematis akar.

c. Pengamatan

Pengamatan dilakukan berdasarkan karakter morfologi, anatomi, dan genetik. Karakter morfologi meliputi waktu mulai terbentuk daun, waktu mulai terbentuk akar, jumlah daun dan pertambahan jumlah daun (dilakukan hingga tanaman berumur 84 hari), tinggi tanaman, bobot tanaman dan warna daun (pengamatan dibandingkan dengan RHS collar chart) diukur ketika tanaman sudah berumur 112 hari. Karakter anatomi jumlah stomata yang diamati dengan metode pengkutekan. Sedangkan karakter genetik diamati berdasarkan jumlah kromosom dengan metode squashing. Pengamatan untuk karakter waktu mulai terbentuk daun, waktu mulai terbentuk akar, jumlah daun, dan pertambahan jumlah daun dapat dilakukan secara non destruktif. Sedangkan untuk karakter tinggi tanaman, bobot tanaman, warna daun, jumlah stomata, dan jumlah kromosom dilakukan secara destruktif.

Pengamatan stomata dilakukan dengan metode destruktif pada akhir pengamatan. Pengambilan sampel preparat dilakukan pada jaringan epidermis daun

dengan penggunaan kutek kemudian ditempelkan pada selotip. Untuk selanjutnya diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 400x. Jumlah hasil pengamatan stomata dihitung dalam lima bidang pandang, seperti pada rumus berikut ini:

$$\frac{X}{L.Ling} = \frac{X1 + X2 + X3 + \dots + Xn}{5}$$

Dimana $L.Ling = \pi.r^2$

X = jumlah stomata dalam lima bidang pandang

Sedangkan dalam pengamatan mikroskopis untuk jumlah kromosom, akar dipotong $\pm 0.5 - 1.0$ cm lalu direndam dalam larutan L-Ascorbic acid 0.22 g / 25 ml H₂O selama 1 jam dengan tujuan agar akar lebih lunak. Selanjutnya untuk tahap pre-treatment akar direndam dalam larutan 8-Hydroxyquinolin (0.002 M) selama ± 4 jam pada suhu 13°C dengan kondisi tertutup (gelap) bertujuan agar jaringan atau sel bersih dari kotoran sekaligus mempertahankan agar sel tidak mudah rusak. Pada tahap fiksasi, akar tanaman direndam dalam larutan etanol absolut : AAG (asam asetat glasial) dengan perbandingan 3:1 selama 15 menit pada suhu 20°C dengan tujuan untuk menghentikan tahap-tahap pembelahan sel. Kemudian tahap hidrolisis, akar direndam larutan HCl 5N pada suhu ruang selama 20 menit dengan tujuan menghilangkan sisa larutan fiksasi dan melunakkan jaringan atau dinding sel. Selanjutnya dicuci dengan aquadest yang mengalir. Kemudian akar direndam dalam larutan Feulgen yang merupakan lanjutan dalam tahap hidrolisis. Pada tahap staining diperlukan enzim mixture 5% dan enzim pektinase 5% pada suhu 35° selama 20 menit. Yang terakhir adalah tahap staining yaitu pewarnaan aceto-carmin 45%, selama 15 menit dengan tujuan mempermudah warna masuk dalam sel. Pengamatan jumlah kromosom dilakukan secara mikroskopis dengan perbesaran obyektif (1000x) pada masing-masing perlakuan, dan dibandingkan dengan kontrol. Pengamatan dilakukan pada tahap anafase, karena pada fase ini kromosom sudah mulai mengalami pemisahan. Prosedur tersebut sesuai dengan penelitian Jong dan Moller (2000).

d. Analisis Data

Penelitian ini disusun dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan satu macam genotip (*Phalaenopsis hieroglyphica* L.), lima perlakuan dan 5 ulangan. Sedangkan data yang diperoleh dianalisis dengan Anova kemudian dibandingkan dengan F-tabel taraf 5%, untuk mengetahui perbandingan antar perlakuan. Dari analisis tersebut, apabila berbeda nyata maka dilanjutkan dengan uji BNT taraf 5%.

$$\text{Rumus BNT} = \left[t \text{ tabel} \times \sqrt{\frac{\text{JKT}}{r}} \right]$$

Tabel 1. Anova

Sumber Ragam	Db	JK	KT	F-Hit	t-tab 5%
Perlakuan	$r - 1$	$(A^2+B^2...Z^2)/r - F_k$	JKP/dBP		
Galat	db T - db P	JKT - JKP			
Total	$(P \cdot r) - 1$	$(\sum A1^2+A2^2...Yz^2) - F_k$			

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil

4.1.1 Umur Muncul Daun Pertama

Pada penelitian ini telah di uji 5 perlakuan konsentrasi larutan kolkhisin yang diaplikasikan pada tanaman anggrek *Phalaenopsis hieroglyphica* pada fase PLB untuk mengetahui tingkat efektifitas kolkhisin dalam menghasilkan tanaman poliploidy. Berdasarkan hasil pengamatan menunjukkan bahwa perendaman tanaman anggrek *Phalaenopsis hieroglyphica* pada fase PLB ke dalam larutan kolkhisin dengan beberapa tingkat konsentrasi tidak memberikan pengaruh yang nyata pada masing-masing perlakuan pada karakter umur muncul daun pertama. Rata-rata umur muncul daun pertama paling cepat pada konsentrasi 5 ppm yaitu 27,44 hari, sedangkan rata-rata muncul daun paling lama adalah pada konsentrasi 25 ppm yaitu 35,21 hari setelah perlakuan. Perbedaan rata-rata umur muncul daun pertama berdasarkan perbedaan tingkat konsentrasi dapat dilihat pada Tabel 2. Pada Tabel 2 terlihat bahwa semakin tinggi tingkat konsentrasi kolkhisin, menyebabkan umur muncul daun semakin lama.

Tabel 2. Rata-rata umur muncul daun pertama (hari) berdasarkan tingkat konsentrasi larutan kolkhisin.

No.	Konsentrasi (ppm)	Umur Muncul Daun Pertama (hari)
1.	0 (kontrol)	31,71
2.	5	27,44
3.	10	31,08
4.	20	31,36
5.	25	35,21

Keterangan: - Angka yang diikuti huruf kecil di belakangnya yang sama pada masing-masing perlakuan menunjukkan tidak berbeda nyata antar perlakuan pada uji jarak BNT 5%.

4.1.2 Umur Muncul Akar Pertama

Berdasarkan hasil pengamatan menunjukkan bahwa perendaman tanaman angrek *Phalaenopsis hieroglyphica* pada fase PLB ke dalam larutan kolkhisin dengan beberapa tingkat konsentrasi memberikan pengaruh yang nyata pada masing-masing perlakuan pada karakter umur muncul akar pertama. Pemberian tingkat konsentrasi kolkhisin mengakibatkan rata-rata waktu muncul akar semakin lama. Rata-rata umur muncul akar pertama paling cepat pada konsentrasi 0 ppm yaitu 43,66 hari, sedangkan rata-rata muncul akar paling lama adalah pada konsentrasi 25 ppm yaitu 60,99 hari setelah perlakuan. Perbedaan rata-rata umur muncul akar pertama berdasarkan perbedaan tingkat konsentrasi dapat dilihat pada Tabel 3. Pada Tabel 3 terlihat bahwa semakin tinggi tingkat konsentrasi kolkhisin, menyebabkan umur muncul akar semakin lama.

Tabel 3. Rata-rata umur muncul akar pertama (hari) berdasarkan tingkat konsentrasi larutan kolkhisin.

No.	Konsentrasi (ppm)	Umur Muncul Akar Pertama (hari)
1.	0 (kontrol)	43,657 a
2.	5	50,26 ab
3.	10	56 bc
4.	20	52,267 b
5.	25	60,993 c

Keterangan: - Angka yang diikuti huruf kecil di belakangnya yang berbeda pada masing-masing perlakuan menunjukkan berbeda nyata antar perlakuan pada uji jarak BNT 5%.

4.1.3 Jumlah Daun

Berdasarkan hasil pengamatan menunjukkan bahwa perendaman tanaman angrek *Phalaenopsis hieroglyphica* pada fase PLB ke dalam larutan kolkhisin dengan beberapa tingkat konsentrasi memberikan pengaruh yang berbeda nyata pada masing-masing perlakuan pada karakter jumlah daun hingga hari ke-84. Pada analisis ragam menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata, sedangkan pada uji BNT 5%

menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata. Pemberian tingkat konsentrasi kolkhisin menyebabkan semakin berkurangnya jumlah daun hingga hari ke-84. Rata-rata jumlah daun paling sedikit terdapat pada konsentrasi 20 ppm yaitu 1,828, sedangkan rata-rata jumlah daun paling banyak adalah pada konsentrasi 0 ppm yaitu 2,664. Perbedaan rata-rata jumlah daun berdasarkan perbedaan tingkat konsentrasi dapat dilihat pada Tabel 4. Pada Tabel 4 terlihat bahwa semakin tinggi tingkat konsentrasi kolkhisin, menyebabkan jumlah daun semakin sedikit hingga hari ke 84.

Tabel 4. Rata-rata jumlah daun (hingga hari ke-84) berdasarkan perbedaan tingkat konsentrasi larutan kolkhisin.

No.	Konsentrasi (ppm)	Jumlah Daun
1.	0 (kontrol)	2,664 b
2.	5	2,289 ab
3.	10	2,188 ab
4.	20	1,828 a
5.	25	1,907 a

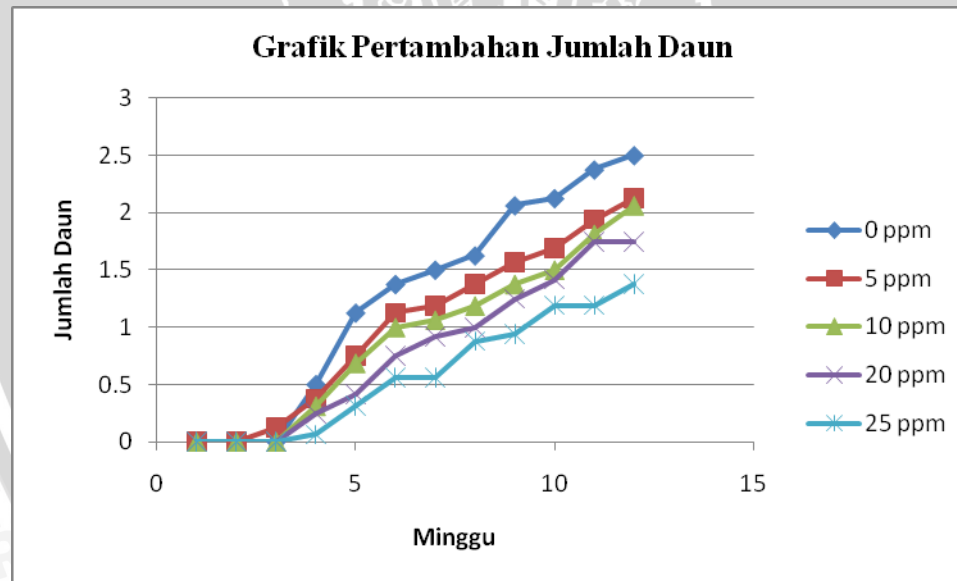
Keterangan: - Angka yang diikuti huruf kecil di belakangnya yang sama pada masing-masing perlakuan menunjukkan tidak berbeda nyata antar perlakuan pada uji jarak BNT 5%.

4.1.4 Pertambahan Jumlah Daun

Berdasarkan hasil pengamatan menunjukkan bahwa perendaman tanaman anggrek *Phalaenopsis hieroglyphica* ke dalam larutan kolkhisin dengan beberapa tingkat konsentrasi yang berbeda memberikan pengaruh yang nyata terhadap jumlah daun hingga hari ke-84. Berdasarkan Tabel 5 menunjukkan bahwa dengan semakin bertambahnya tingkat konsentrasi kolkhisin, maka pertambahan jumlah daun semakin kecil. Rata-rata pertambahan jumlah daun yang paling tinggi terdapat pada konsentrasi 0 ppm yaitu 2,5. Sedangkan rata-rata pertambahan jumlah daun yang paling sedikit terdapat pada konsentrasi 25 ppm yaitu 1,37. Perbedaan rata-rata pertambahan jumlah daun berdasarkan tingkat konsentrasi dapat dilihat pada Table 5 dan Grafiknya.

Tabel 5. Pertambahan Jumlah Daun

Konsentrasi	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10	M11	M12
0 ppm	0	0	0	0.5	1.125	1.375	1.5	1.625	2.0625	2.125	2.375	2.5
5 ppm	0	0	0.125	0.375	0.75	1.125	1.1875	1.375	1.5625	1.6875	1.9375	2.125
10 ppm	0	0	0	0.3125	0.6875	1	1.0625	1.1875	1.375	1.5	1.8125	2.0625
20 ppm	0	0	0	0.25	0.416667	0.75	0.916667	1	1.25	1.416667	1.75	1.75
25 ppm	0	0	0	0.0625	0.3125	0.5625	0.5625	0.875	0.9375	1.1875	1.1875	1.375



4.1.5 Bobot Tanaman

Berdasarkan hasil pengamatan menunjukkan bahwa perendaman tanaman angrek *Phalaenopsis hieroglyphica* pada fase PLB ke dalam larutan kolkhisin dengan beberapa tingkat konsentrasi menyebabkan pengaruh yang nyata pada masing-masing perlakuan pada karakter bobot tanaman. Hal tersebut berdasarkan uji BNT pada taraf 5% sebagai uji lanjutan. Rata-rata bobot tanaman terkecil terdapat pada konsentrasi 0 ppm yaitu 0,044 g. Sedangkan rata-rata bobot tanaman terbesar adalah pada konsentrasi 25 ppm yaitu 0,4747 g. Perbedaan rata-rata bobot tanaman berdasarkan perbedaan tingkat konsentrasi dapat dilihat pada Tabel 6. Pada Tabel 6 terlihat bahwa semakin tinggi tingkat konsentrasi kolkhisin, menyebabkan bobot tanaman semakin besar hingga hari ke 112.

Tabel 6. Rata-rata bobot tanaman (umur 112 hari) berdasarkan perbedaan tingkat konsentrasi larutan kolkhisin.

No.	Konsentrasi (ppm)	Bobot Tanaman (g)
1.	0 (kontrol)	0,044 a
2.	5	0,189 ab
3.	10	0,219 b
4.	20	0,267 b
5.	25	0,4747 c

Keterangan: - Angka yang diikuti huruf kecil di belakangnya yang berbeda pada masing-masing perlakuan menunjukkan berbeda nyata antar perlakuan pada uji jarak BNT 5%.

4.1.6 Tinggi Tanaman

Berdasarkan hasil pengamatan menunjukkan bahwa perendaman tanaman angrek *Phalaenopsis hieroglyphica* pada fase PLB ke dalam larutan kolkhisin dengan beberapa tingkat konsentrasi memberikan pengaruh yang nyata pada masing-masing perlakuan pada karakter tinggi tanaman, berdasarkan uji BNT taraf 5%. Rata-rata tinggi tanaman paling rendah terdapat pada konsentrasi 0 ppm yaitu 0,9 cm, sedangkan rata-rata tinggi tanaman yang paling tinggi adalah pada konsentrasi 25

ppm yaitu 2,1 cm. Perbedaan rata-rata tinggi tanaman berdasarkan perbedaan tingkat konsentrasi dapat dilihat pada Tabel 7. Berdasarkan Tabel 7, maka dapat dilihat bahwa dengan semakin tinggi tingkat konsentrasi kolkhisin yang diberikan, maka semakin cepat tingkat pertumbuhannya hingga hari ke-112. Agar lebih jelas dalam mengetahui perbedaan secara visualnya tinggi tanaman dapat dilihat pada Gambar 3.

Tabel 7. Rata-rata tinggi tanaman (umur 112 hari) berdasarkan perbedaan tingkat konsentrasi larutan kolkhisin.

No.	Konsentrasi (ppm)	Tinggi Tanaman (cm)
1.	0 (kontrol)	0,9 a
2.	5	1,12 b
3.	10	1,4 bc
4.	20	1,76 cd
5.	25	2,1 d

Keterangan: - Angka yang diikuti huruf kecil di belakangnya yang berbeda pada masing-masing perlakuan menunjukkan berbeda nyata antar perlakuan pada uji jarak BNT 5%.








Gambar 3. Tinggi tanaman umur 112 hari setelah inokulasi

4.1.7 Warna Daun

Berdasarkan hasil pengamatan karakter kualitatif warna daun menunjukkan bahwa perendaman tanaman anggrek *Phalaenopsis hieroglyphica* ke dalam larutan kolkhisin dengan beberapa tingkat konsentrasi menunjukkan perbedaan pada warna daun yang mencolok jika dibandingkan dengan kontrol. Warna daun yang mendominasi pada tiap tanaman adalah warna hijau agak kekuningan. Perbedaan warna daun tersebut dapat dilakukan dengan observasi visual yang selanjutnya warna dibandingkan dengan uji pembandingan menggunakan RHS *colour chart*. Hasil dari perbandingan warna tersebut dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Perbedaan warna daun tanaman (umur 112 hari) berdasarkan perbedaan tingkat konsentrasi larutan kolkhisin.

No.	Konsentrasi (ppm)	Warna Daun	Keterangan
1.	0 (kontrol)		137B Moderate Olive Green
2.	5		143B Strong Yellowish Green

3.	10		144A Strong Yellowis Green
4.	20		143C Strong Yellowish Green
5.	25		143C Strong Yellowish Green

Keterangan : Hasil pengamatan warna daun pada beberapa tingkat konsentrasi kolkhisin berdasarkan RHS *colour chart*. 1) 0 ppm (kontrol) dengan 137B Moderate Olive Green ; 2) 5 ppm dengan 143B Strong Yellowish Green ; 3). 10 ppm dengan 144A Strong Yellowis Green ; 4). 20 ppm dengan 143C Strong Yellowish Green dan 5). 25 ppm dengan 143C Strong Yellowish Green

4.1.8 Jumlah Stomata

Berdasarkan hasil pengamatan menunjukkan bahwa perendaman tanaman anggrek *Phalaenopsis hieroglyphica* pada fase PLB ke dalam larutan kolkhisin dengan beberapa tingkat konsentrasi menyebabkan pengaruh yang berbeda nyata pada masing-masing perlakuan. Hal tersebut berdasarkan uji BNT Taraf 5%. Rata-

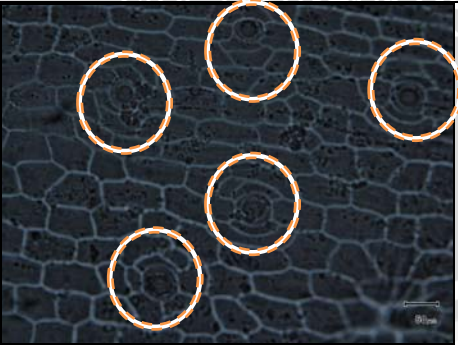
rata jumlah stomata yang paling banyak terdapat pada konsentrasi 5 ppm, yaitu 44,6 mm⁻². Sedangkan rata-rata jumlah stomata yang paling sedikit terdapat pada konsentrasi 25 ppm, yaitu 21,591 mm⁻². Perbedaan rata-rata jumlah stomata daun berdasarkan perbedaan tingkat konsentrasi dapat dilihat pada Tabel 9. Sedangkan untuk mengetahui bentuk visual dari stomata daun anggrek, dapat dilihat pada Tabel 10. Berdasarkan Tabel 9, dapat dijelaskan bahwa semakin tinggi tingkat konsentrasi menyebabkan jumlah stomata semakin sedikit.

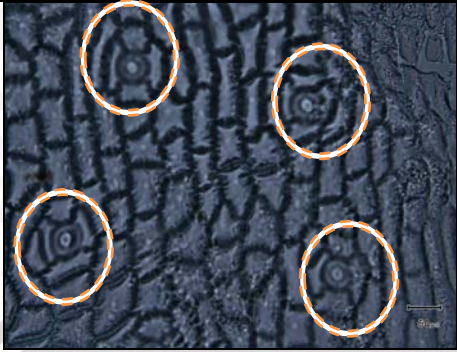
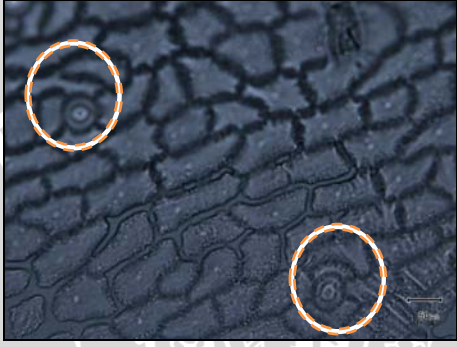
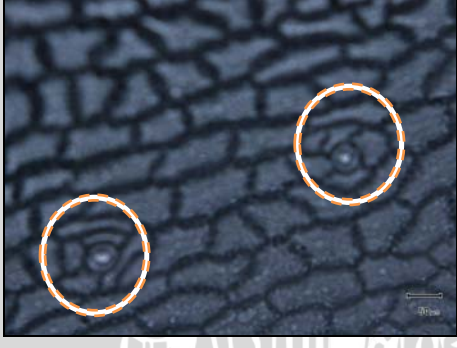

Tabel 9. Rata-rata jumlah stomata daun (umur 112 hari) berdasarkan perbedaan tingkat konsentrasi larutan kolkhisin.

No.	Konsentrasi (ppm)	Jumlah Stomata (mm ⁻²)
1.	0 (kontrol)	43,5378 b
2.	5	44,6 b
3.	10	33,982 ab
4.	20	25,4862 a
5.	25	21,591 a

Keterangan: - Angka yang diikuti huruf kecil di belakangnya yang berbeda pada masing-masing perlakuan menunjukkan berbeda nyata antar perlakuan pada uji jarak BNT 5%.

Tabel 10. Perbedaan jumlah stomata daun tanaman (umur 112 hari) berdasarkan perbedaan tingkat konsentrasi larutan kolkhisin.

No.	Konsentrasi (ppm)	Hasil
1.	0 (kontrol)	 <p>ket : Jumlah stomatanya 5</p>

2.	5		ket : Jumlah stomatanya 4
3.	10		ket : Jumlah stomatanya 2
4.	20		ket : Jumlah stomatanya 2
5.	25		ket : Jumlah stomatanya 1

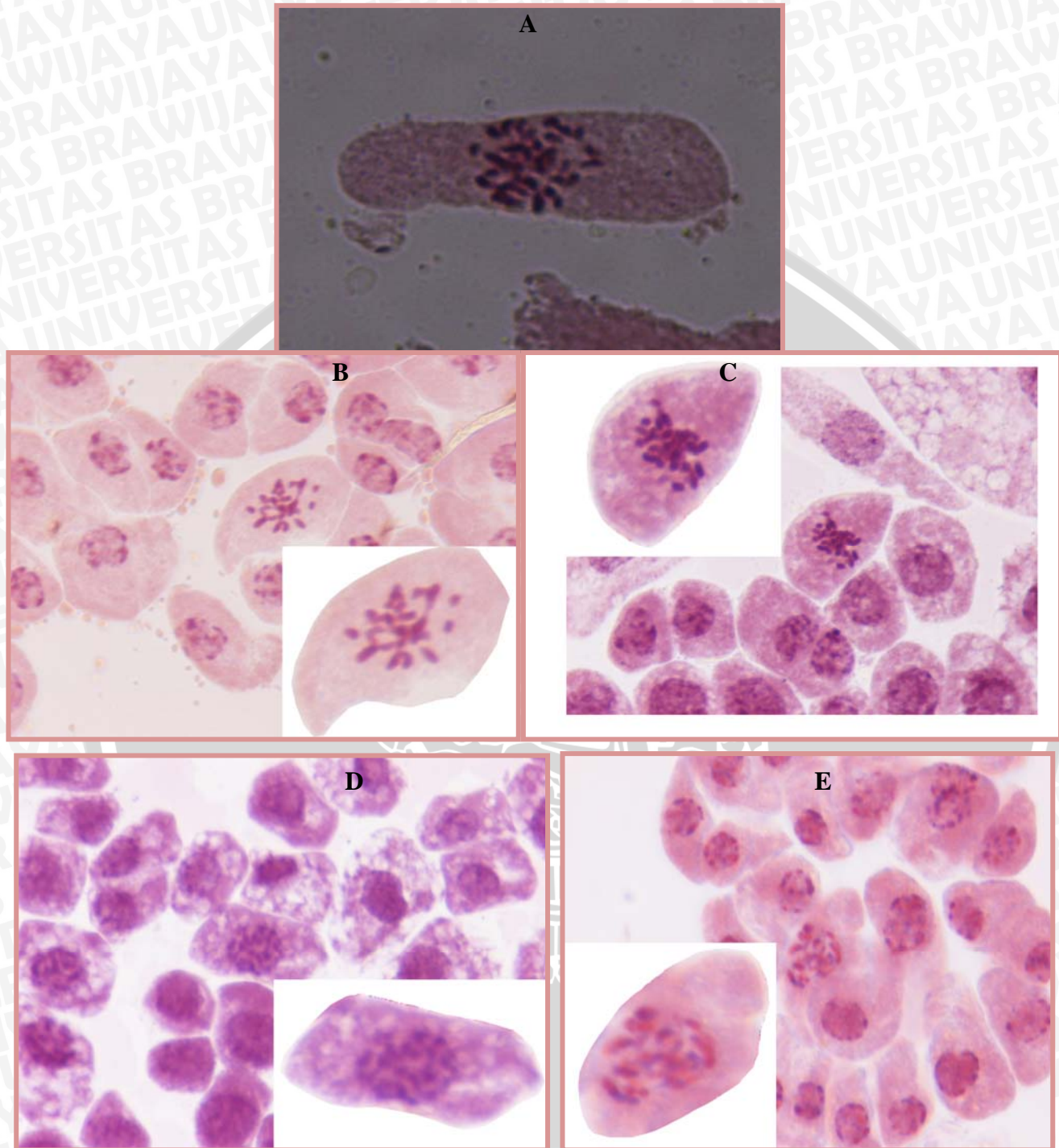
Keterangan : Hasil pengamatan jumlah stomata pada beberapa tingkat konsentrasi kolkhisin berdasarkan satu bidang pandang (luas bidang pandang = 0.113 mm²). 1) 0 ppm (kontrol) dengan jumlah 5 ; 2) 5 ppm dengan jumlah 4 ; 3). 10 ppm dengan jumlah 2 ; 4). 20 ppm dengan jumlah 2 dan 5). 25 ppm dengan jumlah 1. Pengamatan dilakukan dengan perbesaran 400x.

4.1.9 Jumlah Kromosom

Berdasarkan hasil perhitungan kromosom dengan menggunakan meristem ujung akar planlet tanaman anggrek *Phalaenopsis hieroglyphica* dengan pewarnaan aceto-carmine 45% menunjukkan bahwa pengaruh larutan kolkhisin dengan konsentrasi 5 ppm terhadap PLB tanaman anggrek dapat menyebabkan terjadinya penambahan jumlah kromosom diploid *Phalaenopsis hieroglyphica* ($2x = 38$) menjadi poliploid, tetapi sebagian tidak menyebabkan penggandaan kromosom. Sedangkan pada taraf konsentrasi 10 ppm; 20 ppm; dan 25 ppm telah menyebabkan penggandaan kromosom antara 40 hingga 48. Data hasil pengamatan jumlah kromosom dapat dilihat pada Tabel 11. Sedangkan secara visual gambar kromosom dapat dilihat pada Gambar 4.

Tabel 11. Jumlah kromosom anggrek (*Phalaenopsis hieroglyphica*) pada berbagai tingkat konsentrasi kolkhisin.

Konsentrasi (ppm)	Ulangan				
	I	II	III	IV	V
0 (kontrol)	38	38	38	38	38
5	38	40	38	42	40
10	40	44	44	42	40
20	46	44	48	46	44
25	48	44	48	46	48



Gambar 4. Kromosom dari tanaman dengan jumlah (A : Kontrol) = 38 ; (B : 5 ppm) = 42 ; (C: 10 ppm) = 44 ; (D : 20 ppm) = 48 dan (E : 25 ppm) = 48.

4.2 Pembahasan

Tanaman anggrek pada umumnya dibiakkan dengan kultur *in vitro* karena teknik ini mempunyai beberapa keunggulan yaitu tanaman yang dihasilkan bebas patogen, dapat membiakan dalam jumlah yang relatif banyak, bisa menumbuhkan bagian vegetatif dari tanaman, dan lain-lain. Selain itu dengan teknik *in vitro*, maka tanaman anggrek bulan akan dengan mudah mendapat perlakuan tertentu dengan tujuan meningkatkan keragamannya. Sedangkan salah satu cara dalam peningkatan keragaman ini adalah poliploidisasi. Poliploidi ialah keadaan bahwa individu memiliki lebih dari dua genom normalnya. Tanaman poliploidi mempunyai jumlah kromosom lebih banyak dari pada tanaman diploidnya. Sehingga biasanya tanaman tersebut kelihatan lebih kekar, bagian tanaman lebih besar (akar, batang, daun, bunga dan buah), sel-selnya lebih besar dan inti sel juga lebih besar. Pada penelitian ini, sumber pengamatan hasil ploidisasi tanaman anggrek *Phalaenopsis hieroglyphica* adalah berdasarkan karakter morfologi (waktu mulai terbentuk daun, waktu mulai terbentuk akar, jumlah daun, pertambahan jumlah daun tinggi tanaman dan bobot tanaman), anatomi (warna daun dan jumlah stomata), dan genetik (jumlah kromosom).

Dari hasil percobaan dapat dijelaskan bahwa pemberian larutan kolkhisin dengan beberapa tingkat konsentrasi tidak memberikan pengaruh yang nyata pada masing-masing perlakuan pada karakter umur muncul daun pertama. Berdasarkan Tabel 2 menunjukkan, bahwa rata-rata umur muncul daun pertama paling cepat pada konsentrasi 5 ppm yaitu 27,44 hari, sedangkan rata-rata muncul daun paling lama adalah pada konsentrasi 25 ppm yaitu 35,21 hari setelah perlakuan. Hal tersebut disebabkan waktu muncul daun pertama pada sistem kultur jaringan sangat lambat, walaupun perlakuan tersebut diberikan pada kondisi tanaman yang sama. PLB (*Protocorm Like Body*) yang digunakan mempunyai umur dan ukuran yang sama sebelum disubkulturkan. Karakter umur muncul daun pada tanaman anggrek *Phalaenopsis hieroglyphica* relatif lebih cepat jika dibandingkan dengan umur muncul akar, sehingga pertambahan daun juga rata-rata relatif sama. Penelitian Sumarji (2006) menjelaskan, bahwa penggandaan kromosom pada tanaman

semangka dapat menyebabkan terjadinya perubahan fenotip pada organ tanaman dan pertumbuhan tanaman.

Perendaman PLB (*Protocorm Like Body*) kedalam larutan kolkhisin dengan beberapa tingkat konsentrasi memberikan pengaruh yang nyata pada masing-masing perlakuan pada karakter umur muncul akar pertama berdasarkan uji BNT taraf 5%. Rata-rata umur muncul akar pertama yang paling cepat pada konsentrasi 0 ppm yaitu 43,66 hari. Pada konsentrasi 5 ppm yaitu 50,26 hari, pada konsentrasi 10 ppm adalah 56 hari, dan pada konsentrasi 20 ppm adalah 52,2667 hari. Sedangkan rata-rata muncul akar yang paling lama adalah pada konsentrasi 25 ppm yaitu 60,99 hari setelah perlakuan. Tingkat konsentrasi kolkhisin yang berbeda menyebabkan perubahan jumlah kromosom yang mengakibatkan perbedaan fenotip tanaman yang termutasi. Dari data tersebut dapat diketahui bahwa, semakin tinggi tingkat konsentrasi yang digunakan, maka umur muncul akar semakin lama. Terhambatnya pertumbuhan tanaman ternyata dapat merupakan indikasi terjadinya perubahan pada sel atau penggandaan kromosom. Pada penelitian Wang *et al.* (1992), menunjukkan bahwa munculnya akar pertama yang semakin lama pada tanaman kubis merupakan indikasi terjadinya penggandaan kromosom pada tanaman gubis yang mengalami ploidisasi.

Pada karakter jumlah daun hingga hari ke-84, menunjukkan bahwa perendaman tanaman anggrek *Phalaenopsis hieroglyphica* pada fase PLB ke dalam larutan kolkhisin dengan beberapa tingkat konsentrasi memberikan pengaruh yang nyata pada masing-masing perlakuan pada karakter jumlah daun hingga hari ke-84 berdasarkan uji F taraf 5%. Rata-rata jumlah daun pada konsentrasi 0 ppm adalah 2,664, kemudian pada konsentrasi 5 ppm adalah 2,289, selanjutnya pada konsentrasi 10 ppm dengan jumlah 2,188, pada konsentrasi 20 ppm mempunyai rata-rata jumlah daun 1,828 dan pada konsentrasi 25 ppm rata-rata jumlah daun adalah 1,907. Hal tersebut dapat dilihat pada jumlah daun paling sedikit terdapat pada konsentrasi 20 ppm yaitu 1,828, sedangkan rata-rata jumlah daun paling banyak adalah pada konsentrasi 0 ppm yaitu 2,664. Hal tersebut disebabkan karena perubahan dengan bertambahnya substansi yang ada dalam sel akibat penggandaan kromosom. Senyawa

kolkhisin menyebabkan gagalnya benang spindel yang terbentuk sehingga perkembangan sel juga menjadi terhambat. Pada dasarnya setiap tumbuhan mempunyai respon yang berbeda-beda tergantung jenis dan organ yang diberi perlakuan (Eigst *et al.*, 1957).

Tingkat konsentrasi kolkhisin memberikan pengaruh yang berbeda nyata pada masing-masing perlakuan terhadap karakter tinggi tanaman hingga hari ke 112 setelah perlakuan. Rata-rata tinggi tanaman pada konsentrasi 0 ppm adalah 0,9 cm, kemudian pada konsentrasi 5 ppm adalah 1,12 cm, sedangkan pada konsentrasi 10 ppm adalah 1,4 cm, pada konsentrasi 20 ppm menunjukkan tinggi 1,76 cm dan pada konsentrasi 25 ppm tinggi tanaman adalah 2,1 cm. Rata-rata tinggi tanaman paling rendah terdapat pada konsentrasi 0 ppm yaitu 0,9 cm, sedangkan rata-rata tinggi tanaman yang paling tinggi adalah pada konsentrasi 25 ppm yaitu 2,1 cm. Dari data tersebut dapat diketahui bahwa, pemberian kolkhisin memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap tinggi tanaman anggrek, dimana semakin tinggi tingkat konsentrasi yang digunakan, maka rata-rata tinggi tanaman semakin tinggi. Hal tersebut dikarenakan tanaman hasil perlakuan menunjukkan tipe pertumbuhan yang berbeda. Sulistianingsih (2006), menyatakan bahwa kolkhisin ialah salah satu reagen untuk mutasi yang menyebabkan terjadinya poliploid dimana organisme memiliki tiga set atau lebih kromosom dalam sel-selnya. Sedangkan sifat umum dari tanaman poliploid ini ialah tanaman menjadi lebih kekar, bagian tanaman lebih besar, sehingga nantinya sifat-sifat yang kurang baik akan menjadi lebih baik. Wang *et al.*, (1992) menambahkan, pada tanaman yang mengalami penggandaan kromosom mempunyai pertumbuhan vegetatif awal yang lambat dan selanjutnya mengalami vigor yang lebih cepat. Hal tersebut dikarenakan sel hasil ploidisasi sudah mengalami perbaikan, walaupun sebelumnya mengalami penghambatan dalam pembelahan. Tinggi tanaman juga dapat digunakan sebagai indeks untuk mengidentifikasi terjadinya penggandaan kromosom.

Pengaruh konsentrasi kolkhisin terhadap karakter pertumbuhan jumlah daun hingga hari ke 84, telah memberikan pengaruh yang berbeda nyata. Berdasarkan grafik dan Tabel 5, dapat diketahui bahwa semakin tinggi tingkat konsentrasi yang

diberikan, maka penambahan jumlah daun semakin sedikit. Dalam penelitiannya, Almaisarah (2008) menjelaskan bahwa tingkat konsentrasi kolkhisin yang berbeda mengakibatkan perbedaan fenotip tanaman termutasi. Semakin tinggi tingkat konsentrasi, semakin besar presentase tanaman termutasi. Hal ini disebabkan pada konsentrasi yang relatif tinggi, daya kerja kolkhisin semakin meningkat sehingga sel-sel menjadi lebih mudah mengalami mutasi. Kepekaan sel tanaman terhadap tingkat konsentrasi kolkhisin dipengaruhi oleh genotip tanaman dan bagian tanaman yang diperlakukan. Peningkatan konsentrasi dari 0 ppm menjadi 25 ppm dapat mengakibatkan menurunnya pertumbuhan vegetatif tanaman. Nasir (2001) menjelaskan bahwa, laju pertumbuhan autotetraploid biasanya lebih lambat dibandingkan dengan diploidnya dan pembungaanya juga lebih lambat. Tetapi pada titik waktu tertentu, laju pertumbuhan menjadi normal karena sel sudah mengalami perbaikan pada saat pembelahan.

Menurut Suryo (2007), tanaman poliploid mempunyai kromosom lebih banyak dari pada diploidnya yang menyebabkan tanaman lebih kekar dan panjang. Pada jumlah daun pemberian kolkhisin memberikan pengaruh yang nyata. Dimana semakin tinggi konsentrasi yang diberikan maka jumlah daun semakin sedikit. Hal ini disebabkan jumlah sel yang termutasi dan telah mengalami penggandaan kromosom pada tanaman yang telah diberi kolkhisin mengalami kontak dengan sel-sel tanaman dan mempengaruhi kromosom dalam sel tanaman. Selanjutnya sel yang telah termutasi akan mengalami mitosis dan menghasilkan sel-sel anak yang sama dengan jumlah kromosom yang telah mengganda. Kumpulan sel yang mengganda mengakibatkan terjadinya perubahan morfologi. Pada sebagian genotip tanaman, penggandaan kromosom akan mengakibatkan organ tanaman tumbuh besar tetapi pada genotip lainnya menyebabkan pertumbuhan terhambat. Tetapi pada waktu tertentu, jika sel sudah mampu melakukan perbaikan, maka sel ini akan berdeferensiasi sehingga bisa menghasilkan sel dengan pertumbuhan normal yang sifatnya poliploid.

Pada karakter bobot tanaman, perendaman tanaman anggrek *Phalaenopsis hieroglyphica* pada fase PLB ke dalam larutan kolkhisin dengan beberapa tingkat

konsentrasi menyebabkan pengaruh yang nyata pada masing-masing perlakuan pada karakter bobot tanaman. Hal tersebut berdasarkan uji BNT pada taraf 5% sebagai uji lanjutan. Perbedaan rata-rata bobot tanaman berdasarkan perbedaan tingkat konsentrasi dapat dilihat pada Tabel 6. Dimana analisis data secara statistika menunjukkan bahwa semakin tinggi tingkat konsentrasi yang digunakan, maka tanaman semakin tinggi. Rata-rata bobot tanaman pada konsentrasi 0 ppm adalah 0,0437 g, kemudian pada konsentrasi 5 ppm adalah 0,1891 g, sedangkan pada konsentrasi 10 ppm adalah 0,21906 g, pada konsentrasi 20 ppm menunjukkan 0,267 g dan pada konsentrasi 25 ppm bobot tanaman adalah 0,4747 g. Rata-rata bobot tanaman terkecil terdapat pada konsentrasi 0 ppm yaitu 0,0437 g. Sedangkan rata-rata bobot tanaman terbesar adalah pada konsentrasi 25 ppm yaitu 0,47474 g. Pada penelitian Sumarji (2006) terjadinya penggandaan kromosom pada tanaman mengakibatkan terjadinya perubahan fenotip pada organ-organ tanaman dan pertumbuhan tanaman meliputi penambahan jumlah daun dan luas daun. Ukuran daun tanaman yang termutasi semakin tebal dan besar karena mengikuti penambahan substansi yang ada didalam sel. Hal ini menyebabkan penambahan bobot tanaman termutasi semakin besar jika dibandingkan dengan tanaman diploidnya.

Berdasarkan hasil pengamatan karakter kualitatif warna daun menunjukkan bahwa perendaman tanaman anggrek *Phalaenopsis hieroglyphica* ke dalam larutan kolkhisin dengan beberapa tingkat konsentrasi menunjukkan perbedaan pada warna daun yang mencolok jika dibandingkan dengan kontrol. Warna daun yang mendominasi pada tiap tanaman yang diperlakukan adalah warna hijau agak kekuningan. Warna yang dihasilkan dari hasil pengamatan tersebut ialah pada konsentrasi 0 ppm menunjukkan warna 137B Moderate Olive Green (cenderung lebih hijau), pada konsentrasi 5 ppm menunjukkan warna 143B Strong Yellowish Green (hijau agak kekuningan), pada konsentrasi 10 ppm menunjukkan warna 144A Strong Yellowis Green (hijau agak kekuningan), pada konsentrasi 20 ppm menunjukan warna 143C Strong Yellowish Green (hijau agak kuning), dan pada konsentrasi 25 ppm menunjukan warna 143C Strong Yellowish Green (hijau agak kekuningan). Perbedaan warna daun tersebut dapat dilakukan dengan observasi visual yang

selanjutnya warna dibandingkan dengan uji pembandingan menggunakan RHS *colour chart*. Berdasarkan analisa visual warna daun, maka dapat diketahui bahwa semakin tinggi tingkat konsentrasi yang digunakan, maka warna yang dihasilkan semakin terang. Hal tersebut kemungkinan disebabkan penambahan ukuran sel yang semakin besar dengan kadar klorofil yang tetap, sehingga mengakibatkan tampilan warna daun seolah-olah memudar. Sebaliknya, menurut Salisbury *et al.* (1992), secara visual, warna daun tanaman yang mengalami penggandaan kromosom akibat perlakuan kolkhisin mempunyai daun berwarna lebih hijau. Hal ini disebabkan oleh kandungan klorofil yang ada di daun tanaman termutasi cenderung tinggi dibandingkan dengan kontrol. Ketika daun dan batang terbentuk, kloroplas yang berasal dari proplastid yang membelah berkembang menjadi kloroplas baru sehingga pada daun tanaman mengalami penggandaan kromosom dan terdapat beratus-ratus kloroplas baru.

Huei *et al.*, (2009), menyatakan bahwa jumlah kromosom dasar untuk spesies *Phalaenopsis* adalah $x=19$ dengan tingkat ploidi yang beragam, yaitu diploid ($2x=2n=38$), triploid ($3x=3n=57$) dan tetraploid ($4x=4n=76$). Hasil pengamatan pada penelitiannya menunjukkan bahwa umumnya stomata terdapat di permukaan atas dan bawah, dengan perkecualian satu aksesori yang stomatanya hanya terdapat di permukaan bawah, sesuai dengan pendapat Sutrian (1996), umumnya stomata terdapat pada ke dua permukaan atau hanya terdapat pada satu permukaan saja. Berdasarkan hasil pengamatan menunjukkan bahwa perendaman tanaman anggrek *Phalaenopsis hieroglyphica* pada fase PLB ke dalam larutan kolkhisin dengan beberapa tingkat konsentrasi menyebabkan pengaruh yang berbeda nyata pada masing-masing perlakuan. Hal tersebut berdasarkan uji BNT taraf 5%. Rata-rata jumlah stomata pada konsentrasi 0 ppm adalah $43,5378 \text{ mm}^{-2}$, pada konsentrasi 5 ppm adalah $44,6 \text{ mm}^{-2}$, pada konsentrasi 10 ppm adalah $33,982 \text{ mm}^{-2}$, pada konsentrasi 20 ppm adalah $25,4862 \text{ mm}^{-2}$ dan pada konsentrasi 25 ppm adalah $21,591 \text{ mm}^{-2}$. Rata-rata jumlah stomata yang paling banyak terdapat pada konsentrasi 5 ppm, yaitu $44,6 \text{ mm}^{-2}$. Sedangkan rata-rata jumlah stomata yang paling sedikit terdapat pada konsentrasi 25 ppm, yaitu $21,591 \text{ mm}^{-2}$. Berdasarkan data tersebut dapat

diketahui bahwa semakin tinggi tingkat konsentrasi kolkhisin yang diberikan, maka semakin sedikit jumlah stomata yang ditemukan. Hal ini disebabkan semakin tinggi konsentrasi yang diberikan maka semakin besar tingkat penggandaan kromosom yang terjadi, sehingga ukuran sel epidermis daun semakin besar. Ukuran sel epidermis daun yang semakin besar ini mengakibatkan jarak antar stomata juga semakin lebar sehingga dalam bidang pandang yang sama jumlah stomata yang ditemukan semakin sedikit. Sedangkan untuk ukuran dari sel stomata antara tanaman normal dengan tanaman poliploid adalah sama.

Berdasarkan hasil pengamatan jumlah kromosom (Tabel 11), maka dapat dijelaskan bahwa pengaruh pemberian kolkhisin pada konsentrasi 5 ppm sebagian dari tanaman mengalami penambahan kromosom, tetapi sebagian lainnya tidak mengalami penambahan kromosom. Hal tersebut dikarenakan respon dari masing-masing sel tanaman berbeda. Avery *et al.* (1947), menambahkan bahwa perubahan yang terjadi pada tanaman sangat bervariasi. Sebagian tanaman mengalami mutasi pada hampir seluruh bagian tanaman tetapi sebagian lainnya mengalami mutasi pada beberapa organ saja. Dari hal tersebut dapat diketahui bahwa kolkhisin yang diberikan pada setiap individu tidak mempengaruhi semua sel tanaman, tetapi hanya sebagian sel-sel saja. Adanya pengaruh yang berbeda pada sel-sel tanaman disebabkan kolkhisin hanya efektif pada sel yang sedang aktif membelah. Sel yang mempunyai mengalami poliploidi ditandai dengan sel tidak mengalami pembelahan, tetapi kondisi dari sister kromatidnya mengalami pemisahan (Gambar 4). Sedangkan pengaruh tingkat konsentrasi 10 ppm – 25 ppm telah menyebabkan terjadinya penambahan kromosom yaitu sebesar 40 – 48. Tetapi dalam hal ini perendaman hingga konsentrasi 25 ppm dengan lama perendaman 6 jam belum menyebabkan terjadinya triploid atau tetraploid.

Perubahan jumlah kromosom ini disebabkan pemberian kolkhisin dengan konsentrasi yang kritis dapat mencegah terbentuknya benang mikrotubuli dari gelendong inti, sehingga pemisahan kromosom yang menandai perpindahan dari tahap metafase ke anafase tidak berlangsung dan menyebabkan penggandaan kromosom tanpa penggandaan dinding sel. Oleh karena itu tidak terbentuk benang

spindel sehingga kromosom tetap dalam sitoplasma. Namun kromosom dapat memisah dari sentromernya dan dimulai tahap c-anafase yang dilanjutkan dengan pembentukan dinding inti. Sehingga terjadi retitisi inti dan mengandung jumlah kromosom yang berlipat dua. Apabila konsentrasi dibiarkan terus berlanjut maka penambahan genom akan mengikuti deret ukur (Suryo, 2007).

Pertambahan jumlah kromosom pada tanaman yang mengalami mutasi diakibatkan oleh perubahan susunan genetik pada kromosom yang telah mengalami penggandaan. Pada penelitian ini taraf konsentrasi yang sama (tabel 11) menghasilkan jumlah kromosom yang berbeda-beda. Hal tersebut disebabkan kolkhisin mempunyai pengaruh yang tidak sama terhadap masing-masing sel yang termutasi. Penggunaan kolkhisin mempengaruhi aktifitas sel yaitu menghentikan pembentukan benang spindel (benang pengikat kromosom), sehingga menyebabkan kromosom yang telah membelah tidak dapat memisahkan diri pada saat anafase dari pembelahan sel tanaman. Terhentinya proses pemisahan pada tahap metafase mengakibatkan jumlah kromosom dalam sel mengganda, namun jumlahnya akan berbeda-beda walaupun dengan taraf konsentrasi yang sama karena kondisi setiap sel berbeda-beda pada proses mitosis.

Dalam dunia pertanian, peningkatan keanekaragaman genetik akibat mutasi, rekombinasi serta reparasi dan segregasi selama meiosis merupakan sumber plasma nutfah untuk pemuliaan tanaman. Keanekaragaman ini dapat terjadi secara spontan dengan laju yang rendah atau dapat diinduksi oleh pengaruh kimia dan fisik dengan mematahkan kromosom atau mengubah perlakuannya selama pembelahan meiosis atau mitosis (Crowder, 1986).

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. Pengaruh beberapa taraf konsentrasi kolkhisin menyebabkan perubahan pada fenotip dan genetik karakter morfologi (waktu mulai terbentuk daun, waktu mulai terbentuk akar, jumlah daun, penambahan jumlah daun tinggi tanaman dan bobot tanaman), anatomi (warna daun dan jumlah stomata), dan genetik (jumlah kromosom). Pada karakter umur muncul akar pertama, jumlah daun, penambahan jumlah daun, bobot tanaman, tinggi tanaman, warna daun, jumlah stomata dan jumlah kromosom menunjukkan pengaruh yang nyata. Tetapi kolkhisin tidak terlalu berpengaruh terhadap umur muncul daun pertama.
2. Dari segi morfologi waktu muncul daun pertama, waktu muncul akar pertama, menjadi lebih lambat dari pada yang tidak diberi kolkhisin. Jumlah daun lebih sedikit tetapi pada titik tertentu mengalami perbaikan dalam pembelahan sel. Selain itu juga menyebabkan bobot tanaman menjadi lebih besar, warna daun lebih terang, jumlah stomata lebih sedikit dan jumlah kromosom lebih banyak.

1.2 Saran

1. Pemberian kolkhisin sebaiknya dilakukan pada pukul 07.00 – 08.30 mengingat pada waktu ini anggrek *Phalaenopsis hieroglyphica* paling banyak mengalami mitosis.
2. Kolkhisin hingga konsentrasi 25 ppm dengan lama perendaman 6 jam belum menyebabkan penggandaan kromosom secara sempurna, sehingga untuk mencapai poliploid yang optimal dibutuhkan peningkatan konsentrasi kolkhisin.

DAFTAR PUSTAKA

- Alard, R.W. 1960. Principles of Plant Breeding. John Willey and Sons. New York. London, Sydney.
- Almaisarah. 2008. Efektivitas Taraf Konsentrasi Kokhisin Terhadap Morfologi dan Penggandaan Kromosom Semangka dengan Sistem Kultur Jaringan dan Rumah Kaca. Program Pasca Sarjana Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya. Malang. Tidak dipublikasikan.
- Anonymous^a. 2009. Budidaya Tanaman Anggrek Bulan (*Phalaenopsis amabilis* L.). Available online <http://www.deptan.go.id/ditlinh>. (diakses Kamis, 24 Desember 2009)
- _____.^b. 2010. *Phalaenopsis hieroglyphica*. Available on line <http://www.orchidweb.com/orchidOfWeek.aspx?id=138>
- Ardian, M. 2008. Genetika Dasar. Fakultas Pertanian Universitas Lampung. Lampung. pp 6
- Arditti, J. 1992. Fundamental of Orchid Biology. Canada. pp 668
- Avery, J.R., George S. and E.B. Johnson. 1947. Hormones and Horticulture. Mc. Graw-Hill Book. Co. Inc. New York and London.
- Comber, J.B. 1980. Orchid of Java. Bentham Moxon Trust. Royal Botanic Gardens Vew.
- Crowder, L.V. 1997. Genetika Tumbuhan. Diterjemahkan oleh Lilik Kusdiarti; Penyunting Sutarso. Cetakan ke 5. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. pp.491
- Daisy, P. 2000. Pembibitan Anggrek dam Botol. Kanisius. Yogyakarta.
- Darmono, D.W. 2003. Menghasilkan Anggrek Silangan. Penebar Swadaya. Jakarta. 11(1):13-21.
- Dirk, V.A., J.G. Rosaa and D.D. Harpstead. 1956. Colchicine Induce True Breeding Chimera Sectors In Flax. Academic Journals 47(1):229-233.
- Eigsti, O.J and P. Dustin. 1957. Colchicin in Agriculture, Medicine, Biology and Chemistry. Ameslwa: The Iowa State College Press. Iowa

- Griesbach, R.J. 1981. Colchicine Induced Poliploidy in Phalaenopsis Orchids. Departement of Horticulture, Michigan State University, East Lansing. USA. The Journal of Heredity. 5(1):103-107.
- Griesbach, R.J. 2002. Development of *Phalaenopsis* Orchids for the Mass-Market. p. 458-465. In: J. Janick and A. Whipkey (eds.), Trends in new crops and new uses. ASHS Press. Alexandria VA.
- Gunawan, L. W. 2002. Budidaya Anggrek. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Hartati, R.R.2000. Penggunaan Colchicine dengan Penggandaan Kromosom Hasil Hibridisasi Interspesifik pada *Hibiscus sp.* untuk Mengatasi Sterilitas F1. Thesis. Universitas Brawijaya. Malang. Tidak dipublikasikan.
- Husni, A., D. Sukmadjaja dan I. Mariska. 1995. Variasi Somaklonal Tanaman Panili dengan Mutagen Colchicine secara Invitro. Prosiding Evaluasi dan Hasil Penelitian Tanaman Industri-Pusat penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri. Bogor. p.8-16.
- Hieter, L. and A. Griffiths. 1999. Propagation, Colchicine and Toxicity. Available at <http://www.carnivorousplants.org>
- Huei, C.W and C. Y. Tang. 2009. Ploidy Doubling by In Vitro Culture Of Excised Protocorms or Protocorm Like Bodies in Phalaenopsis Species. 1-20. Plant Cell Tissue Organ Culture.
- Iswanto, H. 2002. Anggrek Phalaenopsis. Agromedia Pustaka. Jakarta
- Jaskani, J.M., H. Raza, M.S. Khan, and W. Kwon. 2004. Effect of Antimitotic Agen Colchicine On Invitro Regeneration of Watermelon. Available online at <http://www.SpringerLink.com.content.dv5889g14ka1wm6m-JournalArticle..htm>
- Jaskani, M.J., M. Omura, and I.A. Khan. 2007. Cytogenetic Of Citrus p. 151-165. In: Genetics Breeding and Biotechnology. Igrar A. Khan (editor CAB International).
- Jong. K and M. Moller. 2000. New Chromosome Count in *Streptocarpus* (Gesneriaceae) from Madagascar and The Comoro Island and Their Taxonomic Significance. Royal Botanic Garden Edinburg, UK. Austria. Plant Systematics and Evolution. 224 : (173-182)
- Kalie, M.B. 1993. Bertanam Semangka. Penebar Swadaya. Jakarta. pp.60 .

- Kuehnle, A.R. 2007. Chapter 20: Orchids, *Dendrobium*. 539-560. In: N.O Anderson (ed.), Flower Breeding and Genetics, Springer.
- Macleod, R. 1947. Some Effect of Colchicine on Orchids. Am Orchid Soc Bull 16:336-337.
- Mangoendidjojo, W. 2003. Dasar-Dasar Pemuliaan Tanaman. Penerbit Kanisius. Yogyakarta. pp.182
- Miranda, F. 2008. Sophronitis Coccinea. Miranda Orchids. Malang.
- Morejohn, L.C., T.E. Bureau, J. Molè-Bajer, A.S. Bajer, and D.E. Fosket. (1987). Oryzalin, a Dinitroaniline Herbicide, Binds to Plant Tubulin and Inhibits Microtubule Polymerization *In Vitro*. *Planta*. 172: 252-264.
- Nakasone, H., Kamemoto, H. 1961. Artificial Induction of Poliploidy in Orchids by The Use of Colchicine. Hawaii Agric Exp Stn Tech Bull 42.
- Nasir, N. 2001. Pengantar Pemuliaan Tanaman. Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi : Departemen Pendidikan Nasional. Jakarta.
- Nasir, M. 2002. Bioteknologi Molekuler : Teknik Rekayasa Genetika Tanaman. Citra Aditya Balai. Bandung.
- Poespodarsono, S. 1988. Dasar-Dasar Ilmu Pemuliaan Tanaman. Pusat Antar Universitas. IPB. Bogor.
- Purwantoro, Aziz., Ambarwati, Erlina. 2005. Kekerabatan antar Anggrek Spesies Berdasarkan Sifar Morfologi Tanaman dan Bunga. Jurnal Ilmu Pertanian :Agrisci. 12 (1) :1-11.
- Rotor G. 1958. Colchicine as a Tool in Orchid hybridization. In : Proceedings 2nd World Orchid Conference. Rochester, England: Staples Printers Ltd. pp 159-170.
- Salisbury, F.B and C.W. Ross. 1992. Plant Physiology. Edisi ke 4. Terjemahan oleh Lukman dan Sumaryono. ITB. Bandung.
- Sriyanti, D. H. 2000. Pembibitan Anggrek dalam Botol. Kanisius. Yogyakarta.
- Stansfield, W.D. 1991. Genetika, Edisi Kedua. Erlangga. Jakarta
- Stock, A.D. 2005. Breeding for Traploid Red *Phalaenopsis*. IPA Journals. Available on line <http://www.bigleaforchids.com/info/breedingfortetraploid>.

- Sulistianingsih, R., Z. A. Suyanto dan N. E. Anggi. 2006. Peningkatan Kualitas Anggrek Dendrobium Hibrida dengan Pemberian Kolkhisin. Ilmu Pertanian. 11(1):13-21.
- Sumarji. 2006. Efektifitas Pemberian Kolkhisin terhadap Ploidisasi Tanaman Semangka (*Citrus vulgaris* Schard). Desertasi Program Doktor Ilmu Pertanian. Universitas Brawijaya. Malang.
- Suryo. 2007. Sitogenetika. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Sutopo, L., Triwanto, J. Chanan dan Muhidin. 1992. Diktat Pemuliaan Tanaman Jurusan Budidaya Pertanian. Universitas Muhammadiyah. Malang. pp 52 – 57.
- Sutrian Y. 1996 Pengantar Anatomi Tumbuhan Tentang Sel dan Jaringan. Rineka. Bandung
- Sweet, H.R. 1969. The Hieroglyphic Phalaenopsis. No Publishing. Available at http://www.wikipedia.org/pagesperso-orange.fr.bernard.lagrelle.p.hieroglyphica_alangais.html. (diakses 7 Maret 2010).
- Tambong, J.T.,V.T. Sapra and S. Garton. 1998. Invitro Induction of Tetraploid In Colchicine Treated Cocoyam Plantlets. Euphytica Departement of Plant Sience. Alamaba A & M Univercity. USA. (104): 191–197
- Tanaka, R. and H. Kamemoto. 1980. Chromosome in Orchids : Counting and Numbers. Hawaii Agricultur Exp. Stn Technology Bulletin. 127 : 1-11.
- Tresina. 2008. Pengaruh Tingkat Konsentrasi dan Waktu Perendaman Colchicine terhadap Morfologi dan Genetik Anggrek Hitam (*Coelogyne pandurata*). Thesis. Brawijaya University. Malang. Tidak dipublikasikan.
- Urwin, N.,J. Horsnell and T. Moon. 2007. Generation and Characteristic of Colchicine. Induced Autotetraploid *Lavandula agustifolia*. Euphytica 156 (1-2). p. 257-266
- Wang, Z.N., F.H.Xu and S.Z. Xu. 1992. The Chromosome Doubling Technique for Diploid Cultars and Interspesifik Hybrids. China-Cotton. (4):15-17.
- Wardiyati, T., D.Saptadi, S. Soedjono dan D. Widiastuti. 2002. Pengaruh Colchicine dan Radiasi Sinar Gamma Terhadap Pertumbuhan Vegetatif Anggrek Bulan. Agrivita 24 (2) : 80-88
- Watrous, S.B., D.F. Wimber. 1988. Artificial Induction of Polyploidy in *Paphiopedilum*. New York. Cienciarural 3:177-183.

Widiastoety, D. 2001. Perbaikan Genetik Dan Perbanyakkan Bibit Secara Invitro Dalam Mendukung Pengembangan Anggrek di Indonesia. Available online http://www.pustaka.net.orchid-cytology-techniques.pdfqueen_files/search.htm

Zainudin, Agus. 2006. Optimasi Proses PCR – RAPD Anggrek *Phalaenopsis sp.* yang Telah Diperlakukan dengan Colchicine. Available at <http://www.pubilkasi.umm.ac.id/phalaenopsis>. (diakses 24 Desember 2009)



Lampiran 1**Deskripsi Spesies *Phalaenopsis hieroglyphica***

Deskripsi :

- Tanaman epifit yang tumbuh monopodial, pertumbuhan batang anggrek bulan dengan arah vertikal pada salah satu titik tumbuh dan terdiri dari hanya satu batang utama.
- Daun anggrek bulan berbentuk lanset dengan panjang daun antara 20-30 cm dan lebar hingga 9 cm.
- Daun berdaging tebal, berwarna hijau muda hingga hijau keunguan dan tangkai bunga agak condong sedikit cabang.
- Ukuran batang sangat pendek dan di sepanjang batang selalu muncul akar udara.
- Akar anggrek bulan bersifat epifit dan tidak memiliki rambut. Pada akar terdapat jaringan vilamen yang berfungsi memudahkan akar menyerap air sebagai alat pernafasan.
- Mempunyai satu cluster (satu kelompok bunga), berdasarkan kesamaan tipe pertumbuhan batang, keragaan tanaman, daun jumlah kuntum bunga, panjang tangkai bunga, diameter bunga dan panjang kelopak bunga.

Nama Umum :

Anggrek Bulan Palawan

Potensi Bunga :

Tipe bunga yang indah, berwarna putih cream dengan corak merah kecoklatan.

Habitat :

Hidup dalam keadaan yang lembab (antara 50% - 60%), tumbuh dengan baik jika menggunakan air hujan, dan sedikit menyukai sinar matahari (membutuhkan intensitas cahaya optimum antara 20%-50%) serta suhu optimum antara 18°C - 28°C.

Penyebaran :

Anggrek ini banyak ditemukan di daerah Palawan-Philiphina.

Lampiran 2

Denah Percobaan

Ulangan	Perlakuan Konsentrasi Kolkhisin (gr / Liter)				
	C1 (0)	C2 (0.005)	C3 (0.01)	C4 (0.02)	C5 (0.025)
1	U1 C1	U1 C2	U1 C3	U1 C5	U1 C6
2	U2 C1	U2 C2	U2 C3	U2 C5	U2 C6
3	U3 C1	U3 C2	U3 C3	U3 C5	U3 C6
4	U4 C1	U4 C2	U4 C3	U4 C5	U4 C6
5	U5 C1	U5 C2	U5 C3	U5 C5	U5 C6

Denah Teracak

U3 C5	U4 C2	U1 C5	U2 C1	U3 C2
U3 C4	U1 C3	U3 C1	U4 C4	U1 C2
U5 C3	U5 C2	U4 C3	U3 C3	U1 C1
U4 C5	U5 C4	U5 C5	U4 C1	U1 C4
U2 C4	C2 C5	U2 C2	U2 C3	U5 C1

Suhu ruang 20 - 22°C

Intensitas Cahaya Menggunakan Lampu Neon

Kelembaban 50 – 60 %

U



Lampiran 3

Komposisi Bahan Media ½ MS

No.	Jenis	Komponen	Berat (gr/ml)	Volume yang diambil/Lmedia	Keterangan
1.	Macro nutriens	NH ₄ NO ₃	82.5 /500	5 ml	Kepekatan 100x
		KNO ₃	95 /500		
		KH ₂ PO ₄	8.5 /500		
		CaCl ₂ . 2H ₂ O	22 /500		
		MgSO ₄ . 7H ₂ O	18 /500		
2.	Micro nutriens	Na ₂ MoO ₄ . 2H ₂ O	0.025 /200	1 ml	Kepekatan 500x
		H ₃ BO ₃	0.62 /200		
		KI	0.083 /200		
		CoCl ₂ . 6H ₂ O	0.0025 /200		
		MnSO ₄ . 7H ₂ O	2.23 /200		
		ZnSO ₄ . 4H ₂ O	0.86 /200		
		CuSO ₄ . 5H ₂ O	0.0025 /200		
3.	FeEDTA	Na ₂ EDTA	3.73 /200	1 ml	Kepekatan 500x
		FeSO ₄ . 7H ₂ O	2.78 /200		
4.	Vitamin	Myoinocytol	10 /200	1 ml	Kepekatan 500x
		Glycine	0.2 /200		
		Niacine	0.05 /200		
		Piridoxin HCl	0.05 /200		
		Tiamin HCl	0.01 /200		

Lampiran 5

1. Analisa data ANOVA dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) Umur Muncul Daun Pertama (hari) berdasarkan tingkat pemberian kolkhisin.

Sumber Ragam	dB	JK	KT	F-Hit	F-Tab 5%
Perlakuan	4	151,949	37,98725	1,946886 ^{TN}	2.87
Galat	20	390,236	19,5118		
Total	24	542,185			

2. Analisa data ANOVA dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) Umur Muncul Akar Pertama (hari) berdasarkan tingkat pemberian kolkhisin.

Sumber Ragam	dB	JK	KT	F-Hit	F-Tab 5%
Perlakuan	4	837,8586	209,4647	5,109106*	2,87
Galat	20	819,966	40,9983		
Total	24	1657,825			

3. Analisa data ANOVA dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) Jumlah Daun (lembar) berdasarkan tingkat pemberian kolkhisin hingga hari ke-84.

Sumber Ragam	dB	JK	KT	F-Hit	F-Tab 5%
Perlakuan	4	2,222659	0,555665	3,822095*	2,87
Galat	20	2,907645	0,145382		
Total	24	5,130304			

4. Analisa data ANOVA dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) Bobot Tanaman (g) berdasarkan tingkat pemberian kolkhisin hingga hari ke-112.

Sumber Ragam	dB	JK	KT	F-Hit	F-Tab 5%
Perlakuan	4	0,486933	0,121733	8,387516*	2,87
Galat	20	0,290273	0,014514		
Total	24	0,777206			

5. Analisa data ANOVA dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) Tinggi Tanaman (cm) berdasarkan tingkat pemberian kolkhisin hingga hari ke-112.

Sumber Ragam	dB	JK	KT	F-Hit	F-Tab 5%
Perlakuan	4	4,6616	1,1654	6,584181*	2,87
Galat	20	3,54	0,177		
Total	24	8,2016			

6. Analisa data ANOVA dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) Jumlah Stomata Daun (mm^{-2}) berdasarkan tingkat pemberian kolkhisin hingga hari ke-112.

Sumber Ragam	dB	JK	KT	F-Hit	F-Tab 5%
Perlakuan	4	2148,345	537,0863	5,844887*	2,87
Galat	20	1837,799	91,88995		
Total	24	3986,144			

