

**INDUKSI POLIPLIIDI PADA ANGGREK *Dendrobium  
strebloceras* DENGAN KOLKHISIN**

**SKRIPSI**

Oleh:

**RISMAYA LUVINA W.S**



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

**2011**

**INDUKSI POLIPLIIDI PADA ANGGREK *Dendrobium  
strebloceras* DENGAN KOLKHISIN**

Oleh:  
**RISMAYA LUVINA W.S**  
0610470029 - 47

**SKRIPSI**

**Disampaikan Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar Sarjana  
Pertanian Strata Satu (S-1)**

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

**2011**

# UNIVERSITAS BRAWIJAYA



This document was created with Win2PDF available at <http://www.daneprairie.com>.  
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.



## LEMBAR PERSETUJUAN

Judul Penelitian : **INDUKSI POLIPLIIDI ANGGREK (*Dendrobium Strebloceras*  
L) DENGAN KOLKHISIN**

Nama mahasiswa : **RISMAYA LUVINA W.S**

NIM : **0610470029-47**

Jurusan : **Budidaya Pertanian**

Program Studi : **Pemuliaan Tanaman**

Menyetujui : **Dosen Pembimbing**

Pertama

Kedua

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

Niken Kendarini, SP, MSi  
NIP. 19740202 199903 2 001

Mengetahui

Ketua Jurusan Budidaya Pertanian

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

## LEMBAR PERSETUJUAN JURNAL

Judul Penelitian : **INDUKSI POLIPLIIDI ANGGREK (*Dendrobium Strebloceras*  
L) DENGAN KOLKHISIN**

Nama mahasiswa : **RISMAYA LUVINA W.S**

NIM : **0610470029-47**

Jurusan : **Budidaya Pertanian**

Program Studi : **Pemuliaan Tanaman**

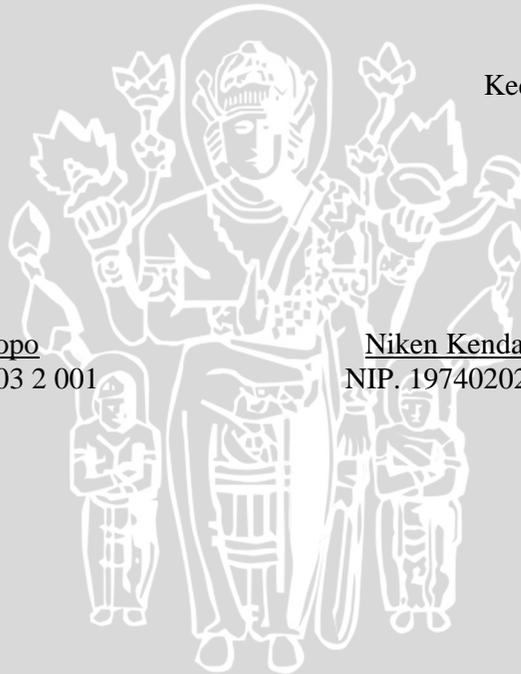
Menyetujui : **Dosen Pembimbing**

Pertama

Kedua

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

Niken Kendarini, SP, MSi  
NIP. 19740202 199903 2 001



# UNIVERSITAS BRAWIJAYA



This document was created with Win2PDF available at <http://www.daneprairie.com>.  
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.



LEMBAR PENGESAHAN

Mengesahkan,

MAJELIS PENGUJI

Penguji I

Penguji II

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

Niken Kendarini, SP, MSi  
NIP. 19740202 199903 2 001

Penguji III

Penguji IV

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

Dr. Ir. Nurul Aini, MS  
NIP. 19601012 198601 2 001

Tanggal Lulus :

# UNIVERSITAS BRAWIJAYA



This document was created with Win2PDF available at <http://www.daneprairie.com>.  
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.



## KATA PENGANTAR

Puji Syukur ke hadirat Tuhan Yesus Kristus karena atas limpahan kasih dan kemurahan-Nya, sehingga penulisan skripsi dengan judul **“Induksi Poliploid Anggrek *Dendrobium strebloceras* dengan kolkhisin”** dapat terselesaikan dengan baik.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada pihak-pihak yang telah membantu di dalam pelaksanaan penelitian maupun penyusunan skripsi ini, antara lain :

1. Dr.Ir. Lita Soetopo sebagai dosen pembimbing utama,
2. Niken Kendarini, SP, MSi sebagai pembimbing kedua, terima kasih atas bimbingan, saran, motivasi dan waktu yang ibu berikan.
3. Ir. Sri Lestari Purnamaningsih, MS yang telah memberikan masukan kepada penulis untuk melaksanakan penelitian.
4. Papa, mama dan adikku Euginia Natalia yang selalu memberi semangat dan doa dalam menyelesaikan penelitian ini,
5. Stefanus Dri Mahardhika yang banyak membantu selama penelitian,
6. Teman-teman PT'06 (Chaula, Fitri, Riska dan lainnya), CC dan teman-teman Kerto Leksono I no.80 (Nuning, erin, iput, aida, laras dsb) yang selalu memberi semangat,
7. Semua pihak yang membantu selama penelitian maupun selama penyusunan skripsi.

Penulis berharap skripsi ini bermanfaat dalam bidang Pertanian, khususnya Pemuliaan Tanaman untuk menambah keragaman genetik pada Anggrek.

Malang, Desember 2010

Penulis

# UNIVERSITAS BRAWIJAYA



This document was created with Win2PDF available at <http://www.daneprairie.com>.  
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.



## RINGKASAN

**RISMAYA LUVINA W.S. 0610470029-47. Induksi Poliploid pada Anggrek *Dendrobium strebloceras* dengan kolkhisin. Dibawah bimbingan Dr. Ir. Lita Soetopo dan Niken Kendarini, SP, MSi.**

---

Anggrek merupakan tanaman hias yang sepanjang masa digemari oleh para pecinta tanaman. Keragaman warna, corak, aroma, bentuk dan ukuran bunga semakin membuat anggrek menjadi primadona tanaman hias. Salah satu anggrek spesies yang berpotensi dikembangkan dalam bisnis tanaman hias ialah anggrek *Dendrobium strebloceras*. Jenis anggrek *Dendrobium strebloceras* mempunyai warna bunga yang bervariasi, masa istirahat pertumbuhan yang pendek atau bahkan tidak mempunyai masa istirahat dan jumlah kuntum bunga per tanaman mencapai 30 – 40 kuntum.

Perakitan anggrek *Dendrobium* unggul baru membutuhkan keragaman genetik yang luas, sehingga mempermudah dalam melakukan seleksi. Salah satu cara untuk memperluas keragaman genetik dan memperbaiki kualitas tanaman ialah dengan manipulasi genom untuk mendapatkan tanaman poliploid. Poliploid anggrek umumnya menunjukkan karakteristik yang lebih baik dibandingkan dengan tipe diploid. Beberapa karakter yang terkait dengan poliploiditas antara lain: peningkatan vigor serta ketahanan tanaman terhadap serangan hama dan penyakit, ukuran bunga yang lebih besar dan warna bunga yang lebih jelas, ketahanan bunga yang lebih lama, juga dapat digunakan sebagai bahan persilangan untuk menghasilkan jenis anggrek baru yang lebih berkualitas.

Tujuan dari penelitian ini ialah mempelajari interaksi antara lama perendaman dan konsentrasi kolkhisin pada poliploidisasi anggrek *Dendrobium strebloceras* serta mempelajari karakteristik morfologi, anatomi dan genetik eksplan *Dendrobium strebloceras* yang diperlakukan dengan kolkhisin, sedangkan hipotesis dari penelitian ini ialah terdapat interaksi antara lama perendaman dan konsentrasi kolkhisin pada poliploidisasi anggrek *Dendrobium strebloceras*, selain itu pemberian kolkhisin berpengaruh terhadap karakteristik morfologi, anatomi dan genetik eksplan *Dendrobium strebloceras*

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang yang dimulai pada bulan Mei hingga bulan Agustus 2010. Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi autoclave, oven listrik dan kompor gas, timbangan digital, entkas, botol bening berukuran 140 ml, sprayer, petridish, api bunsen, mikroskop, kaca preparat, cover glass, jarum, gelas ukur (beaker glass), botol kultur, pinset, sendok spatula, gelas pengaduk, tabung reaksi, pH meter, pipet, pisau scalpel dan kamera. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain anggrek *Dendrobium strebloceras* umur 5 bulan hasil selfing, aquades, benlate, clorox, larutan stock makro, larutan stock mikro, agar pemat, Fe-EDTA, mio-inositol, kolkhisin, tablet formalin, bayclean atau clorox, alkohol 70%, HCL, NaOH atau KOH, kertas saring, kertas lakmus, teepol, asam acetat dan senyawa *aceto orcein*. Metode dalam penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap Faktorial dengan 2 faktor. Faktor pertama adalah konsentrasi kolkhisin (kontrol ; 0,05% ; 0,1% ; 0,15%) dan faktor kedua adalah waktu perendaman dalam larutan kolkhisin (3 jam ; 6 jam ; 9 jam), masing-masing perlakuan diulang 5 kali. Pelaksanaan penelitian meliputi persiapan eksplan, persiapan larutan kolkhisin, pembuatan media, sterilisasi media

tanam, alat dan ruang inkubator, penginduksian kolkhisin pada eksplan anggrek, pengamatan dan analisis data. Pengamatan meliputi peubah jumlah individu yang hidup, jumlah daun/ tanaman, jumlah akar/ tanaman, berat tanaman, tinggi tanaman, jumlah stomata, kerapatan stomata, warna daun dan jumlah kromosom. Data pengamatan dianalisis dengan sidik ragam ANOVA pada taraf 5%, apabila berbeda nyata, maka dilakukan uji lanjutan BNT pada taraf 5%.

Berdasarkan hasil penelitian didapatkan bahwa interaksi antara konsentrasi dan lama perendaman berpengaruh nyata terhadap peubah jumlah daun, jumlah akar, jumlah stomata dan kerapatan stomata, tetapi tidak berpengaruh nyata terhadap peubah berat dan tinggi tanaman, selain itu terdapat perubahan morfologi *Dendrobium strebloceras* meliputi jumlah daun, jumlah akar, berat tanaman, tinggi tanaman dan warna daun, perubahan anatomi yang meliputi jumlah stomata dan kerapatan stomata serta perubahan genetik meliputi jumlah kromosom akibat adanya interaksi antara tingkat konsentrasi dan waktu perendaman kolkhisin.

Pengaruh yang bervariasi pada beberapa peubah pengamatan, meliputi jumlah daun/tanaman, jumlah akar/tanaman, berat tanaman, tinggi tanaman, jumlah stomata, kerapatan stomata, warna daun dan jumlah kromosom. Rata-rata jumlah daun/tanaman paling sedikit adalah pada konsentrasi 0.15% dan lama perendaman 9 jam yaitu sebesar 12,67, sedangkan rata-rata jumlah daun/tanaman paling banyak adalah pada tanaman kontrol yaitu sebesar 19,00. Rata-rata jumlah akar/tanaman paling sedikit adalah pada konsentrasi 0.15% dan lama perendaman 9 jam yaitu sebesar 2,65, sedangkan jumlah akar/tanaman paling banyak adalah pada tanaman kontrol yaitu sebesar 3,00. Rata-rata berat tanaman terkecil adalah pada lama perendaman 3 jam yaitu sebesar 0,045 g, sedangkan rata-rata berat tanaman terbesar adalah pada lama perendaman 9 jam yaitu sebesar 0,085 g. Rata-rata tinggi tanaman terkecil adalah pada konsentrasi 0.15% yaitu sebesar 2,00 cm, sedangkan rata-rata tinggi tanaman tertinggi adalah pada tanaman kontrol. Rata-rata jumlah stomata terendah adalah pada konsentrasi 0.15% dan lama perendaman 9 jam yaitu sebesar 16,00, sedangkan rata-rata jumlah stomata tertinggi adalah pada tanaman kontrol yaitu sebesar 45,80. Rata-rata kerapatan stomata terendah adalah pada konsentrasi 0.15% yaitu sebesar 132,712 mm<sup>2</sup>, sedangkan rata-rata kerapatan stomata tertinggi adalah pada tanaman kontrol yaitu sebesar 399,999 mm<sup>2</sup>. Warna daun tanaman yang diberi perlakuan kolkhisin mempunyai warna yang lebih hijau dibanding tanaman kontrol. Pada hasil pengamatan menunjukkan bahwa terjadi perubahan jumlah kromosom dari kromosom dasar  $2n = 38$  menjadi  $2n = 40$  sampai  $2n = 48$ . Jumlah kromosom paling banyak adalah pada konsentrasi 0.15% dan lama perendaman 9 jam yaitu  $2n = 48$ .

# UNIVERSITAS BRAWIJAYA



This document was created with Win2PDF available at <http://www.daneprairie.com>.  
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.



**DAFTAR ISI**

<b>Ringkasan .....</b>	<b>i</b>
<b>Kata Pengantar .....</b>	<b>iii</b>
<b>Riwayat hidup .....</b>	<b>iv</b>
<b>Daftar isi .....</b>	<b>v</b>
<b>Daftar tabel .....</b>	<b>vii</b>
<b>Daftar gambar .....</b>	<b>viii</b>
<b>Daftar lampiran .....</b>	<b>ix</b>
<b>1. PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar belakang .....	1
1.2 Tujuan .....	3
1.3 Hipotesis .....	3
<b>2. TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Botani Tanaman Anggrek .....	4
2.2 Syarat tumbuh .....	6
2.3 Pemuliaan Tanaman Anggrek .....	7
2.4 Penggandaan Kromosom (Poliploid) .....	9
2.5 Kholkisin .....	12
2.6 Tujuan Penggunaan Kholkhisin .....	14
2.7 Penggandaan Kromosom dengan Kholkhisin .....	16
2.8 Teknik Pemberian Kholkhisin pada Tanaman .....	16
2.9 Teknik Khusus untuk Mempelajari Aktivitas Kholkisin .....	17
<b>3. BAHAN DAN METODE</b>	
3.1 Tempat dan Waktu .....	19
3.2 Alat dan Bahan .....	19
3.3 Metode Penelitian .....	19
3.4 Pelaksanaan Penelitian .....	21
3.4.1 Persiapan Eksplan .....	21
3.4.2 Persiapan Larutan Kolkhisin .....	21

3.4.3 Pembuatan Media .....	21
3.4.4 Sterilisasi media tanam, alat dan ruang inkubator .....	22
3.4.5 Penginduksian Kolkhisin pada eksplan Anggrek .....	23
3.4.6 Pengamatan .....	23
3.4.5 Analisis Data .....	24
<b>4. HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
4.1 Hasil .....	25
4.1.1 Pertumbuhan Plantlet <i>Dendrobium strebloceras</i> in vitro .....	25
4.1.2 Perubahan Morfologi plantlet Anggrek <i>Dendrobium</i> .....	26
4.1.2.1 Pengaruh Kolkhisin terhadap Jumlah Daun .....	27
4.1.2.2 Pengaruh Kolkhisin terhadap Jumlah Akar .....	30
4.1.2.3 Pengaruh Kolkhisin terhadap Berat Tanaman .....	37
4.1.2.4 Pengaruh Kolkhisin terhadap Tinggi Tanaman .....	38
4.1.2.5 Pengaruh Kolkhisin terhadap Jumlah Stomata .....	39
4.1.2.6 Pengaruh Kolkhisin terhadap Kerapatan Stomata .....	44
4.1.2.7 Pengaruh Kolkhisin terhadap Warna Daun .....	45
4.1.3 Pengaruh Kolkhisin terhadap Jumlah Kromosom .....	47
4.2 Pembahasan .....	49
4.2.1 Pengaruh Kolkhisin terhadap Karakteristik Morfologi .....	49
4.2.2 Pengaruh Kolkhisin terhadap Karakteristik Anatomi .....	55
4.2.3 Pengaruh Kolkhisin terhadap Karakteristik Genetik .....	55
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>63</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>68</b>

## DAFTAR TABEL

Nomor	Teks	Halaman
1	Persentase (%) pertumbuhan eksplan anggrek .....	25
2	Hasil Analisis Ragam beberapa karakter vegetatif planlet anggrek <i>Dendrobium strebloceras</i> akibat perlakuan konsentrasi kolkhisin dan lama perendaman .....	26
3	Rata-rata jumlah daun pada beberapa tingkat konsentrasi .....	27
4	Rata-rata jumlah daun pada lama perendaman yang berbeda .....	28
5	Rata-rata jumlah daun pada beberapa tingkat konsentrasi dan lama perendaman yang berbeda .....	29
6	Rata-rata jumlah akar pada beberapa tingkat konsentrasi .....	31
7	Rata-rata jumlah akar pada lama perendaman yang berbeda .....	32
8	Rata-rata jumlah akar pada beberapa tingkat konsentrasi dan lama perendaman yang berbeda .....	33
9	Pengaruh lama perendaman terhadap berat tanaman, tinggi tanaman, jumlah stomata dan kerapatan stomata 35 hst .....	38
10	Pengaruh konsentrasi kolkhisin terhadap berat tanaman, tinggi tanaman, jumlah stomata dan kerapatan stomata 35 hst .....	38
11	Rata-rata jumlah stomata pada beberapa tingkat konsentrasi dan lama perendaman yang berbeda .....	40
12	Gambar jumlah stomata pada tingkat konsentrasi dan lama perendaman yang berbeda .....	42
13	Rata-rata kerapatan stomata pada beberapa tingkat konsentrasi dan lama perendaman yang berbeda .....	44
14	Warna daun pada tingkat konsentrasi dan lama perendaman yang berbeda berdasarkan Royal Horticulture Society Colour Chart ...	46
15	Jumlah kromosom pada beberapa tingkat konsentrasi dan lama perendaman yang berbeda .....	47

## DAFTAR GAMBAR

Nomor	Teks	Halaman
1	Bunga dan daun <i>Dendrobium strebloceras</i> .....	4
2	Tinggi tanaman <i>Dendrobium strebloceras</i> .....	39
3	Jumlah kromosom <i>Dendrobium strebloceras</i> .....	48
4.	Skema Mitosis Normal Dibandingkan dengan Mitosis dalam Nukleus yang Diperlakukan dengan Kolkhisin (C-Mitosis) .....	60



## DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Teks	Halaman
1	Komposisi Bahan Media ½ MS .....	68
2	Prosedur Pengamatan Kromosom .....	69
3	Uji F Terhadap Beberapa Variabel Pengamatan .....	70



# UNIVERSITAS BRAWIJAYA



This document was created with Win2PDF available at <http://www.daneprairie.com>.  
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.



## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Anggrek ialah tanaman hias yang sepanjang masa digemari oleh para pecinta tanaman. Keragaman warna, corak, aroma, bentuk dan ukuran bunga semakin membuat anggrek menjadi primadona tanaman hias. Kondisi ini sangat didukung oleh potensi anggrek Indonesia yang berjumlah lebih dari 5.000 spesies (Rukmana, 2000). Salah satu anggrek spesies yang berpotensi dikembangkan dalam bisnis tanaman hias ialah anggrek *Dendrobium strebloceras*.

*Dendrobium strebloceras* banyak ditemukan di pulau Halmahera, Maluku. Anggrek ini hidup di daerah dengan ketinggian tempat rendah. Jenis anggrek *strebloceras* mempunyai warna bunga yang bervariasi, masa istirahat pertumbuhan yang pendek atau bahkan tidak mempunyai masa istirahat (Sunadi, 1979) dan jumlah kuntum bunga per tanaman mencapai 30 kuntum. Oleh karena itu, anggrek *Dendrobium strebloceras* digunakan sebagai tetua dalam persilangan untuk perakitan anggrek hibrida.

Anggrek *Dendrobium* yang disukai masyarakat umumnya mempunyai warna dan bentuk bunga yang menarik, jumlah kuntum bunga/tanaman banyak, rajin berbunga, ketahanan lama bunga mekar dan ketahanan terhadap hama penyakit. Perakitan anggrek *Dendrobium* unggul baru dengan sifat yang disukai konsumen membutuhkan keragaman genetik yang luas, sehingga memudahkan dalam melakukan seleksi. Salah satu cara untuk memperluas keragaman genetik dan memperbaiki kualitas tanaman ialah dengan manipulasi genom untuk mendapatkan tanaman poliploid (Anonymous, 2006). Anggrek poliploid umumnya menunjukkan karakteristik yang lebih baik dibandingkan dengan tipe diploid. Beberapa karakter yang terkait dengan poliploidi antara lain: peningkatan vigor serta ketahanan tanaman terhadap serangan hama dan penyakit, ukuran bunga yang lebih besar dan warna bunga yang lebih jelas, serta ketahanan bunga yang lebih lama dibandingkan dengan jenis diploid (Crowder, 1997; Wimber, 1967); aroma bunga yang lebih wangi, juga dapat digunakan sebagai bahan persilangan untuk menghasilkan jenis anggrek baru yang lebih berkualitas (Dermen, 1940). Namun tingkat poliploidi yang terlalu tinggi dapat menyebabkan masa berbunga

lebih lambat dan jumlah bunga berkurang. Oleh karena itu, poliploidisasi dapat dilakukan untuk produksi bunga yang mengutamakan penampilan dan display kultivar, tetapi tidak untuk produksi bunga potong (Soetopo, 2009).

Anggrek yang telah mengalami poliploidisasi dapat langsung dilepas menjadi varietas anggrek baru setelah melalui tahapan seleksi atau dapat dipergunakan sebagai bahan/material tanaman untuk program pemuliaan tanaman anggrek selanjutnya. Hal ini dilakukan oleh Stock (2005) dengan merakit anggrek-anggrek tetraploid, kemudian menyilangkan anggrek-anggrek tetraploid tersebut yang berbeda untuk mendapatkan anggrek tetraploid dengan kualitas bunga yang lebih baik.

Manipulasi genom dapat dilakukan dengan pemberian kolkhisin. Kolkhisin menyebabkan terjadinya poliploid, dimana pada tanaman anggrek pemberian kolkhisin merupakan teknik membuat bunga anggrek berukuran lebih besar dari keadaan normalnya (Sandra, 2003). Konsentrasi kolkhisin dan lama perendaman tergantung bahan tanam yang digunakan. Konsentrasi dan lama perendaman berperan penting dalam poliploidisasi. Konsentrasi kolkhisin yang digunakan untuk pembentukan tanaman poliploid berkisar antara 0.01 - 0.03% pada anggrek (Sulistianingsih, 2004). Lama perendaman bervariasi, tergantung pada jenis dan bagian tanaman yang digunakan. Pada protokorm anggrek yang direndam lebih lama dengan konsentrasi kolkhisin lebih tinggi menunjukkan ketegaran (vigoritas) protokorm yang lebih tinggi (Soedjono dan Suskandari, 1996 dalam Rahayu, 2004) .

Lama perendaman dan konsentrasi kolkhisin berpengaruh nyata terhadap jumlah kromosom dan pertumbuhan agronomis tanaman bawang merah (Permadi *et.al*, 1991) dan pada bawang putih (Hindarti, 2002 dalam Sulistianingsih *et.al* 2004) yang mengemukakan bahwa terdapat pengaruh nyata antara lama perendaman dan konsentrasi kolkhisin pada jumlah kromosom, lebar daun, tinggi tanaman, bobot segar, diameter umbi, volume umbi, bobot siung dan kandungan protein, tetapi tidak berpengaruh nyata terhadap jumlah siung bawang putih.

## 1.2 Tujuan Penelitian

- a. Mempelajari interaksi antara lama perendaman dan konsentrasi kolkhisin pada poliploidisasi anggrek *Dendrobium strebloceras*.
- b. Mempelajari karakteristik morfologi, anatomi dan genetik eksplan *Dendrobium strebloceras* yang diperlakukan dengan kolkhisin.

## 1.3 Hipotesis Penelitian

- a. Terdapat interaksi antara lama perendaman dan konsentrasi kolkhisin pada poliploidisasi anggrek *Dendrobium strebloceras*.
- b. Pemberian kolkhisin berpengaruh terhadap karakteristik morfologi, anatomi dan genetik eksplan *Dendrobium strebloceras*.



## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Botani Tanaman Anggrek

Tanaman anggrek *Dendrobium* termasuk dalam divisio *Spermatophyta*, kelas *Angiospermae*, famili *Orchidaceae*, genus *Dendrobium* (Tjitrosoepomo, 1989).

Bunga anggrek *Dendrobium* tidak berbeda jauh dengan bunga anggrek lainnya. Bunga mempunyai 5 bagian utama yaitu sepal (kelopak bunga), petal (mahkota bunga), bakal buah, polinia dan putik. Bunga *Dendrobium strebloceras* berbentuk tanduk dengan bagian tepi petal memilin, lebar bunga sekitar 2,4 cm dan panjang bunga sekitar 3,8 cm. Pelindung bunga terluar waktu bunga masih kuncup adalah sepal dan tiga helai sepal tersebut letaknya membentuk segitiga. Tiga helai petal juga membentuk segitiga. Dua helai yang di atas membentuk sudut  $120^\circ$  dengan helai ketiga yang lebih besar disebut bibir. Bibir tersebut bermacam-macam bentuk dan warnanya.



Gambar 1. Bunga *Dendrobium strebloceras*

Polinia pada anggrek *Dendrobium* hanya satu disebut *monandrae*. Polinia dan putik menjadi satu membentuk suatu struktur yang disebut *column* (*gynostemium*). Bentuk polen anggrek tidak seperti serbuk, tetapi berbentuk gumpalan polen yang disebut polinia. Polinia melekat pada ujung *column* melalui

suatu struktur yang disebut *placenta* dan tertutup dengan *pollen cup* (tudung pollen).

Kepala putik (stigma) terletak di bawah polinia, menghadap ke bibir dan tampak seperti lubang dangkal yang bulat dan agak lengket. Bakal buah bunga terletak di bawah struktur mahkota. Kedudukan yang demikian disebut *inferior ovary*. Bakal buah ini biasanya bersatu dengan tangkai bunga (*flower stalk*). Bunga *Dendrobium* terbentuk antara helai daun yang disebut *pleuranthe* (Gunawan, 2000).

Menurut Hendaryono (2000), anggrek *Dendrobium* memiliki tipe polen yang tidak mempunyai lempeng perekat (*discus viscidis*). Tipe anggrek yang polennya tidak mempunyai lempeng perekat disebut polinaria, seperti pada anggrek *Vanda* dan *Phalaenopsis*.

Alat reproduksi pada bunga anggrek terdiri atas alat reproduksi jantan dan (androecium) alat reproduksi betina (gynoecium). Alat reproduksi jantan meliputi bagian sebagai berikut :

- a. Pollen cap ialah kelopak penutup polinia.
- b. Polinia ialah jaringan yang mengandung ribuan sel induk mikrospora.
- c. Stipe ialah jaringan tipis antara polen dan viscidium.
- d. Caudicle ialah jaringan tipis yang berasal dari pemanjangan polinia.
- e. Viscidium atau viscid disk ialah jaringan melebar dan berperekat untuk menarik polen keluar.
- f. Rostelum ialah tonjolan pemisah antara tempat letak polinia dengan stigma.

Alat reproduksi betina (gynoecium) meliputi bagian-bagian sebagai berikut :

- a. Stigma ialah rongga atau lubang yang berisi cairan kental agak lengket sebagai tempat meletakkan polen dan masuknya tabung serbuk sari ke dalam ovari pada waktu terjadinya penyerbukan.
- b. Ovari (bakal buah) ialah bagian yang di dalamnya terdapat plasenta dan ovul (bakal biji)
- c. Plasenta ialah jaringan yang melekat pada dinding sebelah dalam ovari dan mempunyai tonjolan sel-sel nuselar yang akan berfungsi sebagai sel induk megaspora yang selanjutnya menjadi ovul.

d. Buah berbentuk kapsular dan mempunyai tiga carpel (rongga). Di dalam buah berisi banyak biji berembrio yang berukuran sangat kecil dan halus seperti tepung (Darmono, 2003).

Menurut Gunawan (2000), buah anggrek merupakan buah capsular yang berbelah enam. Buah anggrek *Dendrobium* akan masak 3 - 4 bulan setelah pembuahan. Buah anggrek merupakan “buah latera” atau “replum” yaitu buah yang saat masak membuka atau pecah tidak pada ujung atau pangkal buah, tetapi pecah di tengah-tengahnya (Soeryowinoto, 1987)

Buah anggrek berwarna hijau tua dan bila sudah masak berwarna hijau kekuningan. Bentuk buah anggrek *Dendrobium* bulat kecil. Pada satu tangkai bunga dapat tumbuh beberapa buah anggrek. Namun, bila bunga lebih dari dua, biji-biji dalam buah tersebut akan mengalami kematian sel karena hanya terdapat testa tanpa *protocorm*. Bentuk buah tampak seperti memiliki enam rusuk, namun sebenarnya hanya memiliki tiga rusuk sejati. Bila buah disayat melintang, maka akan tampak biji-biji terkumpul di tiga sudut rusuk sejati tersebut. Biasanya satu buah anggrek berisi sekitar 900.000 biji. Biji pada Anggrek *Dendrobium* ini berwarna putih kekuningan. Buah yang paling baik digunakan dan lebih mudah penanganannya adalah buah yang tidak terlalu muda dan tidak terlalu tua. Buah tersebut memiliki tanda-tanda antara lain ketegangan permukaan buah tinggi, berwarna kekuningan dan bila dibuka biji sudah tidak lengket (Hendaryono, 2000)

Biji-biji anggrek tidak mempunyai endosperm yaitu cadangan makanan seperti biji tanaman lainnya. Cadangan makanan ini diperlukan untuk perkecambahannya atau pertumbuhan awal biji. Perkecambahannya dibantu dengan makanan hasil penguraian sisa-sisa tanaman yang dilakukan oleh jasad renik mikoriza, yaitu jenis cendawan, oleh karena itu untuk perkecambahannya diperlukan gula dan persenyawaan-persenyawaan lain dari luar atau dari lingkungan sekelilingnya (Gunawan, 2000).

## 2.2 Syarat Tumbuh

Menurut Gunawan (2000), intensitas cahaya matahari yang sesuai dengan tanaman anggrek adalah berkisar antara 1000 - 2000 (footcandle). Anggrek *Dendrobium* dapat menerima 50 - 60% cahaya matahari langsung. Pengaturan

banyaknya cahaya ini dapat dilakukan dengan mengatur kerapatan paranet. Panjang penyinaran dapat mempengaruhi pembungaan tanaman dewasa, tetapi pembungaan pada anggrek *Dendrobium* Jacquelyn Thomas dan *Dendrobium* Lady hay tidak dipengaruhi oleh panjang penyinaran. Kualitas cahaya matahari yang terbaik untuk tanaman anggrek pada umumnya adalah cahaya putih. Anggrek dapat juga ditumbuhkan dalam rumah dengan sumber cahaya dari lampu fluorescent.

Kebutuhan suhu pada anggrek *Dendrobium* bervariasi, tergantung pada tipenya. Anggrek *Dendrobium* tipe *evergreen* memerlukan suhu yang sangat hangat pada siang hari dan suhu dingin pada malam hari, tetapi suhu malam tidak boleh kurang dari 21°C. Tipe *deciduous* menginginkan suhu yang dingin pada siang dan malam hari. Suhu pada malam yang masih aman bagi pertumbuhan anggrek tipe *deciduous* adalah tidak kurang dari 13°C. *Dendrobium* tipe *semideciduous* (*nobile*) membutuhkan suhu yang lebih dingin pada malam hari untuk inisiasi bunga. Suhu pada malam hari sekitar 18°C dapat merangsang produksi bunga dengan baik (Sessler, 1978).

Kelembaban yang dibutuhkan anggrek *Dendrobium* untuk pertumbuhan maksimal dan pembungaan adalah sekitar 50 – 70 %. Kelembaban harus dipertahankan setiap waktu dan jangan sampai tanaman kekeringan (Sessler, 1978)

### 2.3 Pemuliaan Tanaman Anggrek

Pemuliaan tanaman anggrek secara umum bertujuan untuk memperoleh dan mengembangkan varietas atau hibrida baru yang lebih baik dari varietas yang sudah ada sebelumnya. Tujuan dari pemuliaan tanaman anggrek ialah :

1. Perbaiki warna, ukuran dan substansi bunga
2. Meningkatkan panjang tangkai bunga dan jumlah bunga per tangkai
3. Display bunga yang tepat
4. Jika bunga memiliki lebih dari satu warna, maka harus ada perpaduan yang tepat antara warna pada petal, sepal dan lebelum (mahkota, kelopak dan bibir)
5. Lama mekar bunga

6. Kerajinan berbunga
7. Hibrida yang cocok sebagai tanaman pot
8. Ketahanan terhadap cekaman biotik dan abiotik

Berdasarkan umur tanaman anggrek yang merupakan tanaman tahunan, maka program pemuliaan tanaman anggrek dapat dirancang dalam tiga tahap yaitu jangka pendek (1-2 tahun), jangka menengah (3-5 tahun) dan jangka panjang (>10 tahun). Mutasi dan poliploidisasi merupakan program jangka menengah dalam pemuliaan tanaman secara inkonvensional (Soetopo, 2009). Tujuan dari program pemuliaan tanaman anggrek jangka menengah adalah untuk menambah keragaman genetik dan mendapatkan spesies baru hingga karakternya stabil dalam jangka waktu 3 – 5 tahun.

Keragaman genetik yang merupakan tulang punggung perbaikan genetik tanaman dapat diinduksi dengan menggunakan mutagen radiasi fisik dan mutagen kimia. Mutagen kimia yang biasa digunakan yaitu EMS dan nitrosomethylurea (Gottschalk, 1983) serta alkaloid colchicine (Eigsty, 1957). Perendaman tunas dari *Cymbidium coningsbyanum* 'Brockhurst' dalam larutan colchicine dua kali dengan interval 10 hari dilaporkan dapat menghasilkan tetraploid (Pierik, 1987). Teknik serupa juga telah berhasil diaplikasikan pada *Dendrobium* dan juga *Vanda* (Yadav and Bose, 1989).

Perbaikan genetik dilakukan untuk menambah keragaman karakteristik tanaman anggrek dan untuk memenuhi persyaratan tentang kualitas anggrek tersebut, baik secara konvensional maupun inkonvensional. Secara konvensional dilakukan dengan cara persilangan atau mengawinkan bunga dengan cara meletakkan pollen pada stigma. Hasil dari persilangan adalah terjadinya proses pembentukan buah dan biji (Darmono, 2003). Secara inkonvensional yaitu seleksi mutan, produksi tanaman homozigot, hibridisasi somatik, transfer gen, atau perbaikan varietas (Widiastoety, 2001). Perbaikan varietas anggrek *Dendrobium* secara inkonvensional dapat dilakukan dengan cara penggandaan kromosom menggunakan kolkhisin (Nurmalinda, 1999).

#### 2.4 Pengandaan kromosom (poliploidi)

Poliploidi adalah keadaan bahwa individu memiliki lebih dari dua genom. Tanaman poliploid umumnya mempunyai jumlah kromosom lebih banyak daripada tanaman diploid, sehingga biasanya tanaman kelihatan lebih kekar, bagian tanaman menjadi lebih besar (akar, batang, daun, bunga ataupun buah), sel-selnya (tampak jelas pada sel-sel epidermis) lebih besar, inti sel juga lebih besar, buluh-buluh pengangkutan mempunyai diameter lebih besar dan stomata lebih besar (Suryo, 1995).

Di alam poliploidi terjadi secara luas. Diperkirakan 30% dari angiospermae adalah poliploid, sedangkan gramineae lebih dari 70%. Tanaman poliploidi cenderung terdapat pada bagian tepi dari penyebaran tanaman diploidnya dan mempunyai toleransi lebih besar dibanding tanaman diploid terhadap lingkungan ekstrim (Poespodarsono, 1988). Poliploidi buatan dapat dilakukan dengan meniru yang terjadi di alam atau dengan menggunakan mutagen. Kolkhisin adalah mutagen yang umum dipakai untuk mendapatkan tanaman poliploid (Anonimous, 2006).

Pengaruh poliploid dan cirinya antara lain :

1. Inti dan isi sel lebih besar. Hal ini ditunjukkan oleh ukuran stomata dan butir serbuk sari.
2. Daun dan bunga bertambah besar. Pertambahan ini ada batasnya hingga bila terjadi pertambahan secara terus pada jumlah kromosom tidak menyebabkan perubahan secara berlanjut.
3. Dapat terjadi perubahan senyawa kimia, termasuk peningkatan atau perubahan pada jenis proporsi karbohidrat, protein, vitamin atau alkaloid.
4. Laju pertumbuhannya lebih lambat dibandingkan tanaman diploid dan berbunganya juga terhambat.
5. Meiosis sering tidak teratur, sehingga terjadi kromosom tidak berpasangan terbentuk bivalen, trivalen, quadrivalen dan seterusnya.
6. Segregasi genetik berubah sehingga perbandingan segregasi menjadi tetrasomik (pada tetraploid), hexasonik (pada hexaploid) dan seterusnya.

7. Poliploid ganjil seperti triploid dan pentaploid hampir seluruhnya steril, karena pemisahan tidak teratur pada proses meiosis menyebabkan pembentukan gamet tidak seimbang.
8. Daya adaptasi geografis lebih luas dibandingkan dengan moyangnya yang diploid
9. Menurunnya fertilitas pada poliploid merupakan hal penting untuk diperhatikan pada pemuliannya. Penurunan ini dapat terjadi pada daya hidup butir tepung sari dan jumlah biji. Derajat penurunan tergantung dari spesiesnya ( Poespodarsono, 1988)

Penyebab terjadinya poliploid ada dua, yaitu autopoliploid dan allopoliploid. Autopoliploid merupakan terjadinya penggandaan langsung pada kromosom. Allopoliploid terjadi dari hasil persilangan antara tanaman yang berbeda genom. Menurut Poespodarsono (1988), beberapa persyaratan untuk pembentukan tanaman autopoliploid yang perlu diperhatikan, antara lain : (i) Jumlah kromosom rendah, sehingga setelah penggandaan kromosom tidak melampaui batas optimum ; (ii) spesies menyerbuk silang ; (iii) lebih sesuai untuk tanaman yang dapat dikembangkan-biakkan secara vegetatif.

Tingkat ploidi yang lebih tinggi dari tetraploid tidak umum ditemukan dalam populasi alamiah, tetapi beberapa tumbuhan yang sangat penting adalah poliploid. Beberapa triploid sebagaimana juga tetraploid memperlihatkan fenotipe yang lebih kuat daripada rekannya yang diploid, selain itu juga mempunyai daun, bunga dan buah yang lebih besar atau gigantisme (Stansfield, 1991)

Poliploid seringkali memberikan efek dramatis dalam penampilan atau pewarisan sifat yang bisa positif atau negatif. Tanaman secara umum bereaksi positif terhadap poliploidi, yaitu adanya perubahan yang menyebabkan bagian-bagian tanaman menjadi lebih besar dari ukuran normal. Tetraploid (misalnya kentang) dan heksaploid (misalnya gandum) berukuran lebih besar (reaksi “gigas” atau “raksasa”) daripada leluhurnya yang diploid. Karena hasil panen lebih tinggi, poliploid dimanfaatkan dalam pemuliaan tanaman (Wikipedia, 2006).

Poliploidi adalah kondisi pada suatu organisme yang memiliki set kromosom (genom) lebih dari sepasang. Organisme hidup pada umumnya memiliki sepasang set kromosom pada sebagian besar tahap hidupnya. Kondisi ini

disebut diploid (disingkat  $2n$ ). Namun demikian, sejumlah organisme pada tahap yang sama memiliki lebih dari sepasang set. Gejala semacam ini dinamakan poliploid. Tipe poliploid diberi nama berdasarkan banyaknya set kromosom. Jadi, triploid ( $3n$ ), tetraploid ( $4n$ ), pentaploid ( $5n$ ), heksaploid ( $6n$ ), oktoploid, dan seterusnya. Dalam kenyataan, organisme dengan satu set kromosom (haploid,  $n$ ) juga ditemukan hidup normal di alam. Kromosom anggrek *Dendrobium strebloseros* adalah 38 (Arditti, 1992).

Tanaman poliploid adalah tanaman yang memiliki lebih dari dua set kromosom atau genom (Crowder, 1997). Beberapa terminologi dalam poliploid, diantaranya adalah :

- a. haploid adalah tanaman yang mempunyai jumlah kromosom dari kelipatan jumlah kromosom dasar.
- b. euploid adalah individu yang memiliki jumlah kromosom merupakan kelipatan dari kromosom dasarnya. Yang termasuk di dalam kategori euploid adalah monoploid ( $X$ ), diploid ( $2X$ ), triploid ( $3X$ ), tetraploid ( $4X$ ), pentaploid ( $5X$ ) dan seterusnya.
- c. aneuploid adalah individu yang memiliki jumlah kromosom bukan merupakan kelipatan kromosom dasarnya ( $n$ ). Yang termasuk di dalam kategori aneuploid adalah nullisomik ( $2X-2$ ), monosomik ( $2X-1$ ), monosomik ganda ( $2X-1-1$ ), trisomik ( $2X+1$ ), trisomik ganda ( $2X+1+1$ ), tetrasomik ( $2X+2$ ), monosomik trisomik ( $2X-1+1$ )
- d. hyperploid adalah individu yang memiliki jumlah kromosom lebih kecil dari kelipatan  $n$ .
- e. hypoploid adalah individu yang memiliki jumlah kromosom lebih banyak dari kelipatan  $n$ .

Poliploid pada tanaman dapat terjadi karena dua kemungkinan, yaitu secara alami dan secara buatan. Secara alami, poliploid terjadi karena sel-sel kadang-kadang mengalami pemisahan yang tak teratur selama mitosis sehingga menghasilkan sel-sel meristematis, yang menyebabkan kelipatan jumlah kromosomnya tetap berada dalam generasi baru dari tanaman itu, dan sel-sel reproduktif dapat mengalami reduksi yang tak teratur sehingga kromosom-kromosom tidak memisah secara sempurna ke kutub-kutub sel pada anafase,

sehingga jumlah kromosom dalam gamet menjadi lipat dua. Secara buatan, poliploidi dapat diperoleh dengan perlakuan bahan kimia seperti asam nitrit, EMS (ethyl methane sulfonate), pewarna acridine (proflavin, acridine range), asenaften, kloralhidrat, sulfanilamid, etil-merkuri-klorid, heksakloroksikloheksan dan kolkhisin. Zat kimia yang paling banyak digunakan dan efektif karena mudah larut dalam air ialah kolkhisin (Gottschalk, 1983).

Brewbaker (1983) berpendapat bahwa diantara berbagai efek poliploidi, ada empat arti dalam bidang pertanian, yaitu : (1) setiap perubahan pada jumlah kromosom akan merubah segregasi genetik; (2) setiap penambahan jumlah kromosom akan memberikan suatu efek penutup yang mengurangi gen-gen resesif yang merugikan; (3) penambahan jumlah kromosom hampir selalu sering menunjukkan keunggulan sifat; dan (4) sterilitas pada gamet dan penurunan daya perkembangbiakan.

### 2.5 Kolkhisin

Kolkhisin ( $C_{22}H_{25}O_6N$ ) merupakan suatu alkaloid yang berasal dari umbi dan biji tanaman Autumn crocus (*Colchicum autumnale* Linn.) yang termasuk dalam famili Liliaceae. Tanaman yang berbunga dalam musim gugur ini hanya memperlihatkan bunga-bunganya saja diatas permukaan tanah. Dalam musim semi tanaman ini memiliki daun, buah dan biji (Suryo, 1995).

Kolkhisin merupakan salah satu reagen untuk mutasi yang menyebabkan poliploid dimana organisme memiliki tiga set atau lebih kromosom dalam sel-selnya, sedangkan sifat umum dari tanaman poliploid ini adalah menjadi lebih kekar, bagian tanaman lebih besar (akar, batang, daun, bunga dan buah), sehingga nantinya sifat-sifat yang kurang baik akan menjadi lebih baik tanpa mengubah potensi hasilnya (Hieter & Griffiths, 1999).

Tidak ada ukuran tertentu mengenai besarnya konsentrasi larutan kolkhisin yang harus digunakan, juga mengenai lamanya waktu perlakuan. Namun dapat dikatakan bahwa pada umumnya kolkhisin akan bekerja dengan efektif pada konsentrasi 0,01% - 1,00%. Larutan kolkhisin juga dapat bekerja efektif pada konsentrasi 0,001 - 1,00%. Lamanya perlakuan kolkhisin juga berkisar antara 3 - 24 jam (Suryo, 1995).

Jika konsentrasi larutan kolkhisin dan lamanya waktu perlakuan kurang mencapai keadaan yang tepat, maka poliploid belum dapat diperoleh. Sebaliknya jika konsentrasinya terlalu tinggi atau waktu perlakuan terlalu lama, maka kolkhisin akan memperlihatkan pengaruh negatif yaitu penampilan tanaman menjadi jelek, sel-sel banyak yang rusak atau bahkan menyebabkan matinya tanaman (Narsikin, 2002).

Kepekaan terhadap perlakuan kolkhisin amat berbeda diantara spesies tanaman. Oleh karena itu baik konsentrasi maupun perlakuan akan berbeda pula, bahkan untuk bagian tanaman yang berbeda akan lain pula dosis dan waktunya. Untuk biji yang cepat berkecambah, biji direndam dalam larutan selama 1 – 5 hari sebelum tanam dengan larutan kolkhisin antar 0,001 – 1,5% (Poespodarsono, 1988)

Sel-sel tumbuhan umumnya tahan terhadap konsentrasi larutan kolkhisin yang relatif kuat. Substansi kolkhisin cepat mengadakan difusi ke dalam jaringan tanaman dan kemudian disebarluaskan ke berbagai bagian tubuh tanaman melalui jaringan pengangkut. Berbagai percobaan menunjukkan bahwa penggunaan kolkhisin yang agak kuat dan dalam waktu singkat memberikan hasil yang lebih baik daripada kebalikannya. Oleh karena itu konsentrasi 0, 2 % sering dipakai. Namun demikian, perlu dicari konsentrasi optimum yang dapat menghasilkan presentase yang paling tinggi dari sel-sel yang mengalami perubahan menjadi poliploid (Suryo, 1995)

Kolkhisin bersifat sebagai racun terutama pada tumbuhan dan dapat dilihat pengaruhnya pada nucleus yang sedang membelah. Larutan kolkhisin dengan konsentrasi yang kritis mencegah terbentuknya benang-benang spindle dari gelondong inti sehingga pemisahan kromosom pada anaphase dari mitosis tidak berlangsung dan menyebabkan penggandaan kromosom tanpa pembentukan dinding sel (Suryo, 1995).

Menurut Nasir (2001), larutan kolkhisin digunakan pada jaringan meristematik untuk menginduksi penggandaan somatik. Menurut Suryo (1995) menambahkan fungsi kolkhisin yaitu untuk menghalang-halangi terbentuknya spindle (gelondong inti) pada mitosis. Kolkhisin bersifat racun, larut dalam air, merupakan alkaloid dan sangat aktif pada konsentrasi rendah. Pada mitosis,

kolkhisin dapat memperjelas detil morfologi kromosom bahkan memungkinkan terjadinya poliploidi.

Menurut Nasir (2001), penggandaan kromosom dapat terjadi secara spontan atau buatan. Penggandaan buatan terjadi bila pada pembelahan sel kromosomnya juga mengganda, tetapi nukleusnya gagal mengganda sehingga membentuk inti dengan jumlah kromosom ganda. Bila penggandaan kromosom terjadi segera setelah pembuahan maka individu yang dihasilkan akan menjadi poliploid sempurna, sedangkan penggandaan pada tahap perkembangan lanjut hanya membentuk sektor poliploid saja. Bila penggandaan terjadi setelah meiosis maka pengurangan gamet akan terbentuk dan bila dibuahi dengan gamet normal maka akan terbentuk poliploid tidak berimbang.

Hayer dan Gardner (1955) *cit.* Jauhariana (1995) menyatakan bahwa konsentrasi kolkhisin yang digunakan bervariasi dari 0,0006% sampai 1,0% dengan lama perendaman 1-6 hari, tergantung jenis benihnya. Benih yang lambat berkecambah umumnya memerlukan waktu yang lama. Jauhariana (1995) menyatakan pada umumnya kolkhisin efektif pada kadar 0,01%-1,0%. Oleh karena itu, pada percobaan-percobaan poliploidisasi digunakan kadar-kadar larutan kolkhisin tertentu, dari kadar terendah sampai tertinggi, sehingga diperoleh kadar optimum untuk mendapatkan tanaman poliploid dengan produksi tertinggi. Pada tanaman anggrek, pemberian kolkhisin merupakan teknik membuat bunga anggrek raksasa atau berukuran lebih besar dari keadaan normalnya (Sandra, 2003).

## 2.6 Tujuan penggunaan kolkhisin

Kalie (1993) menyatakan bahwa kolkhisin digunakan untuk menghasilkan tanaman tetraploid, yaitu tanaman yang memiliki empat set kromosom. Hal ini dapat terjadi karena kolkhisin 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 spindel (Addink, 2002).

Lebih lanjut akan dikatakan bahwa penggandaan kromosom secara *in vitro* dapat dilakukan pada bahan tanaman yang masih sangat muda, bahkan pada

tingkat sel (Husni, Sukmadjaja dan Mariska, 1995). Perlakuan kolkhisin untuk penggandaan 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 (Eigsty dan Dusti, 1957)

Tanaman tetraploid yang terjadi akibat adanya penggandaan kromosom memiliki nilai ekonomis yang lebih tinggi dibanding tanaman diploid, karena secara morfologi daun, biji dan buah tampak lebih besar sehingga lebih disukai konsumen. Crowder (1997) menyatakan bahwa penggandaan kromosom dapat menyebabkan penambahan ukuran sel yang berdampak pada morfologi tanaman, seperti semakin besar ukuran daun, batang dan bunga, tetapi juga dapat menurunkan tingkat kesuburan/fertilitas tanaman. Arditti (1992) menyatakan bahwa poliploidisasi dapat menyebabkan pertambahan ukuran daun, ukuran dan ketebalan bunga, serta menyebabkan warna daun lebih gelap .

Hasil penelitian Urwin dkk (2007) membuat tanaman autotetraploid *Lavandula angustifolia* (Lavender), menggunakan kolkhisin dengan konsentrasi 125 mg/l memberikan hasil penampakan morfologi berupa tangkai bunga lebih tebal, ukuran bunga dan biji lebih besar. Demikian juga pada hasil penelitian Miranda (2008) yang membuat tanaman *Sophronitis coccinea* (Laelilinae) tetraploid menggunakan kolkhisin, memberikan ukuran bunga lebih berat dibandingkan tanaman diploidnya.

Kolkhisin juga dapat digunakan untuk mengatasi sterilitas tanaman hasil persilangan antarspesies akibat ketidakseimbangan kromosom ketika terjadi pembelahan, yaitu pada saat mitosis, pergerakan kromosom yang multivalen menyebabkan terbentuknya sel-sel khimera dengan jumlah kromosom homolog sedikit atau tidak ada sama sekali (Kosmiatin dan Mariska, 2005).

Poespodarsono (1988) menegaskan bahwa penggandaan kromosom secara buatan sebagai salah satu upaya untuk mengatasi sterilitas hasil persilangan dilakukan sedini mungkin. Penggandaan pada tahap dini dimaksudkan untuk meningkatkan peluang mendapatkan tanaman amphidiploid. Amphidiploid ialah tetraploid yang fertil dengan dua set kromosom yang berasal dari dua spesies atau generasi yang berbeda (Crowder, 1997).

### 2.7 Penggandaan kromosom dengan kolkhisin

Kolkhisin yang bersifat racun pada tumbuhan, memberikan pengaruhnya pada nucleus yang sedang membelah. Larutan kolkhisin dengan konsentrasi kritis mencegah terbentuknya benang-benang plasma dari gelendong inti, sehingga pemisahan kromosom pada anaphase dari mitosis tidak berlangsung dan menyebabkan penggandaan kromosom tanpa pembentukan dinding sel. Proses mitosis yang mengalami modifikasi dinamakan C-mitosis. Karena tidak terbentuk spindle, maka kromosom-kromosom tetap tinggal berserakan dalam sitoplasma (pada stadium C-metafase). Pada stadium ini kromosom-kromosom memperlihatkan gambaran yang khas, yaitu seperti tanda silang. Akan tetapi kromosom-kromosom dapat memisahkan pada sentromernya dan mulailah C-anafase. Selanjutnya terbentuknya dinding nucleus sehingga nucleus mengalami “restitusi” (nucleus perbaikan) yang mengandung jumlah kromosom lipat dua. Apabila pengaruh dari kolkhisin telah menghambur, sel poloploid yang baru ini dapat membentuk spindle pada kedua kutubnya dan membentuk nucleus anakan poliploid seperti pada telofase dari mitosis biasanya. Akan tetapi jika konsentrasi larutan kolkhisin yang kritis dibiarkan terus berlanjut, maka penambahan genom akan mengikuti suatu deret ukur seperti  $4X$ ,  $8X$ ,  $16X$  dan seterusnya (Brewbaker, 1983)

Kolkhisin mempunyai pengaruh dalam menghentikan aktivitas benang-benang pengikat kromosom atau spindle sehingga kromosom yang telah membelah tidak memisahkan diri dalam anaphase dari pembelahan sel tanaman. Terhentinya proses pemisahan dalam metaphase mengakibatkan jumlah kromosom dalam sel menjadi ganda (Brewbaker, 1983).

### 2.8 Teknik Pemberian Kolkhisin Pada Tanaman

Sel-sel tumbuhan umumnya tahan terhadap konsentrasi larutan kolkhisin yang relatif kuat. Larutan kolkhisin cepat mengadakan difusi ke dalam jaringan tanaman dan kemudian disebarluaskan ke berbagai bagian tubuh tanaman melalui jaringan pengangkut. Berbagai percobaan menunjukkan bahwa penggunaan konsentrasi larutan kolkhisin agar kuat diberikan pada waktu singkat memberikan hasil lebih baik daripada kebalikannya.

Bagian tanaman yang dapat diberi perlakuan dengan kolkhisin meliputi :

1. Benih, yaitu dengan merendamnya dalam larutan kolkhisin. Konsentrasi larutan dan lamanya waktu perendaman tergantung dari macamnya benih. Makin tebal /keras kulit benih, makin kuat konsentrasi kolkhisin yang dituhkan dan memerlukan waktu perendaman yang lebih lama.
2. Primordial (mata kuncup) tunas atau bunga, biasanya diperlukan dengan cara membubuhkan larutan kolkhisin dalam bentuk tetesan berulang kali, karena harus dijaga supaya jangan sampai kering. Akan lebih efektif bila digunakan campuran kolkhisin dengan lanolin yang disikatkan pada proimordial, karena lanolin tidak mudah menjadi kering.
3. Benih yang telah berkecambah direndam dalam larutan kolkhisin. Cara ini lebih efektif karena setelah selesai diadakan perlakuan, pertumbuhan kecambah dapat diikuti. Waktu perendaman yang terlalu lama akan menyebabkan matinya kecambah dan sebaliknya waktu perendaman yang terlalu singkat tidak akan menghasilkan tanaman poliploid. Kecambah dari tanaman monokotil sulit diberi perlakuan dengan kolkhisin karena titik tumbuhnya terlindung di bawah koleoptil.
4. Akar, dengan merendam seluruh akar telah dicoba pada berbagai macam spesies tanaman dengan pengaruh yang efektif, terutama pada rumput-rumputan (*Graminae*)
5. Batang atau cabang tanaman yang berkayu, harus memperhatikan waktu yang baik yaitu menunggu sampai dormansi dari batang atau cabang itu dilampaui sehingga sel-selnya dalam keadaan puncak mengadakan pembelahan sel (Suryo, 1995).

### **2.9 Teknik Khusus Untuk Mempelajari Aktivitas Kolkhisin**

Beberapa teknik yang disertai dengan pengamatan yang cermat telah dilakukan dengan tujuan untuk mempelajari aktivitas kolkhisin, antara lain :

1. Kromosom dapat digunakan untuk mengetahui aksi dari kolkhisin terhadap mitosis dan proses pertumbuhan.
2. Studi mengenai aksi kolkhisin terhadap saluran serbuk sari telah dilakukan oleh Transkowsky (1931).

3. Mitosis di dalam sel-sel rambut benang sari dari tanaman *Tradescantia* telah diteliti *in vivo*. Apabila sel-sel tersebut dibiarkan tumbuh pada agar yang mengandung kolkhisin, maka lamanya waktu yang dibutuhkan untuk berlangsungnya C-mitosis dapat diukur.
4. Kolkhisin sering digunakan pada ujung akar bawang merah (*Allium cepa*) guna meneliti berbagai stadia selama C-mitosis dan perubahan morfologi kromosom, sehingga perlakuan kolkhisin pada ujung akar bawang merah itu dinamakan "*Allium cepa test*" (Narsikin, 2002)

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



### III. BAHAN DAN METODE

#### 3.1 Tempat dan waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang yang dimulai pada bulan Mei hingga bulan Agustus 2010.

#### 3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi autoclave, oven listrik dan kompor gas, timbangan digital, entkas, botol bening berukuran 140 ml, sprayer, petridish, api bunsen, mikroskop, kaca preparat, cover glass, jarum, gelas ukur (beaker glass), botol kultur, pinset, sendok spatula, gelas pengaduk, tabung reaksi, pH meter, pipet, pisau scalpel dan kamera.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain anggrek *Dendrobium strebloceras* umur 5 bulan hasil selfing, aquades, benlate, clorox, larutan stock makro, larutan stock mikro (Lampiran 1), agar pematat, ZPT Auksin, ZPT sitokinin (BA), Fe-EDTA, mio-inositol, kolkhisin, tablet formalin, bayclean atau clorox, alkohol 70%, HCL, NaOH atau KOH, larutan Ekstraksi (EDTA, Tris HCl dan NaCl), kertas saring, kertas lakmus, teepol, asam acetat dan senyawa *aceto orcein*.

#### 3.3 Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan di laboratorium yang disusun dalam Rancangan Acak Lengkap Faktorial dengan 2 faktor (Faktor pertama adalah konsentrasi kolkhisin dan faktor kedua adalah waktu perendaman dalam larutan kolkhisin), masing-masing faktor I terdiri dari 4 perlakuan dan faktor II terdiri dari 3 perlakuan dan diulang 5 kali. Masing-masing perlakuan diberi 3 tanaman, sehingga secara keseluruhan terdapat 180 tanaman.

- a. Faktor I konsentrasi kolkhisin yang terdiri dari :

K0 : tanpa kolkhisin (kontrol)

K1 : konsentrasi kolkhisin 0,05%

K2 : konsentrasi kolkhisin 0,1%

K3 : konsentrasi kolkhisin 0,15%

b. Faktor II waktu perendaman dalam larutan kolkhisin yang terdiri dari :

T1 : waktu perendaman 3 jam (pukul 06.00 - 09.00)

T2 : waktu perendaman 6 jam (pukul 06.00 – 12.00)

T3 : waktu perendaman 9 jam (pukul 06.00 – 15.00)

Kombinasi percobaan yang dipakai adalah sebagai berikut :

**Kombinasi sebelum pengacakan**

		K <sub>0</sub>	K <sub>1</sub>	K <sub>2</sub>	K <sub>3</sub>
U <sub>1</sub>	T <sub>1</sub>	K <sub>0</sub> T <sub>1</sub> U <sub>1</sub>	K <sub>1</sub> T <sub>1</sub> U <sub>1</sub>	K <sub>2</sub> T <sub>1</sub> U <sub>1</sub>	K <sub>3</sub> T <sub>1</sub> U <sub>1</sub>
	T <sub>2</sub>	K <sub>0</sub> T <sub>2</sub> U <sub>1</sub>	K <sub>1</sub> T <sub>2</sub> U <sub>1</sub>	K <sub>2</sub> T <sub>2</sub> U <sub>1</sub>	K <sub>3</sub> T <sub>2</sub> U <sub>1</sub>
	T <sub>3</sub>	K <sub>0</sub> T <sub>3</sub> U <sub>1</sub>	K <sub>1</sub> T <sub>3</sub> U <sub>1</sub>	K <sub>2</sub> T <sub>3</sub> U <sub>1</sub>	K <sub>3</sub> T <sub>3</sub> U <sub>1</sub>
U <sub>2</sub>	T <sub>1</sub>	K <sub>0</sub> T <sub>1</sub> U <sub>2</sub>	K <sub>1</sub> T <sub>1</sub> U <sub>2</sub>	K <sub>2</sub> T <sub>1</sub> U <sub>2</sub>	K <sub>3</sub> T <sub>1</sub> U <sub>2</sub>
	T <sub>2</sub>	K <sub>0</sub> T <sub>2</sub> U <sub>2</sub>	K <sub>1</sub> T <sub>2</sub> U <sub>2</sub>	K <sub>2</sub> T <sub>2</sub> U <sub>2</sub>	K <sub>3</sub> T <sub>2</sub> U <sub>2</sub>
	T <sub>3</sub>	K <sub>0</sub> T <sub>3</sub> U <sub>2</sub>	K <sub>1</sub> T <sub>3</sub> U <sub>2</sub>	K <sub>2</sub> T <sub>3</sub> U <sub>2</sub>	K <sub>3</sub> T <sub>3</sub> U <sub>2</sub>
U <sub>3</sub>	T <sub>1</sub>	K <sub>0</sub> T <sub>1</sub> U <sub>3</sub>	K <sub>1</sub> T <sub>1</sub> U <sub>3</sub>	K <sub>2</sub> T <sub>1</sub> U <sub>3</sub>	K <sub>3</sub> T <sub>1</sub> U <sub>3</sub>
	T <sub>2</sub>	K <sub>0</sub> T <sub>2</sub> U <sub>3</sub>	K <sub>1</sub> T <sub>2</sub> U <sub>3</sub>	K <sub>2</sub> T <sub>2</sub> U <sub>3</sub>	K <sub>3</sub> T <sub>2</sub> U <sub>3</sub>
	T <sub>3</sub>	K <sub>0</sub> T <sub>3</sub> U <sub>3</sub>	K <sub>1</sub> T <sub>3</sub> U <sub>3</sub>	K <sub>2</sub> T <sub>3</sub> U <sub>3</sub>	K <sub>3</sub> T <sub>3</sub> U <sub>3</sub>
U <sub>4</sub>	T <sub>1</sub>	K <sub>0</sub> T <sub>1</sub> U <sub>4</sub>	K <sub>1</sub> T <sub>1</sub> U <sub>4</sub>	K <sub>2</sub> T <sub>1</sub> U <sub>4</sub>	K <sub>3</sub> T <sub>1</sub> U <sub>4</sub>
	T <sub>2</sub>	K <sub>0</sub> T <sub>2</sub> U <sub>4</sub>	K <sub>1</sub> T <sub>2</sub> U <sub>4</sub>	K <sub>2</sub> T <sub>2</sub> U <sub>4</sub>	K <sub>3</sub> T <sub>2</sub> U <sub>4</sub>
	T <sub>3</sub>	K <sub>0</sub> T <sub>3</sub> U <sub>4</sub>	K <sub>1</sub> T <sub>3</sub> U <sub>4</sub>	K <sub>2</sub> T <sub>3</sub> U <sub>4</sub>	K <sub>3</sub> T <sub>3</sub> U <sub>4</sub>
U <sub>5</sub>	T <sub>1</sub>	K <sub>0</sub> T <sub>1</sub> U <sub>5</sub>	K <sub>1</sub> T <sub>1</sub> U <sub>5</sub>	K <sub>2</sub> T <sub>1</sub> U <sub>5</sub>	K <sub>3</sub> T <sub>1</sub> U <sub>5</sub>
	T <sub>2</sub>	K <sub>0</sub> T <sub>2</sub> U <sub>5</sub>	K <sub>1</sub> T <sub>2</sub> U <sub>5</sub>	K <sub>2</sub> T <sub>2</sub> U <sub>5</sub>	K <sub>3</sub> T <sub>2</sub> U <sub>5</sub>
	T <sub>3</sub>	K <sub>0</sub> T <sub>3</sub> U <sub>5</sub>	K <sub>1</sub> T <sub>3</sub> U <sub>5</sub>	K <sub>2</sub> T <sub>3</sub> U <sub>5</sub>	K <sub>3</sub> T <sub>3</sub> U <sub>5</sub>

### Kombinasi perlakuan setelah pengacakan

K <sub>3</sub> T <sub>1</sub> U <sub>3</sub>	K <sub>2</sub> T <sub>2</sub> U <sub>4</sub>	K <sub>3</sub> T <sub>1</sub> U <sub>1</sub>	K <sub>3</sub> T <sub>1</sub> U <sub>4</sub>
K <sub>1</sub> T <sub>3</sub> U <sub>3</sub>	K <sub>3</sub> T <sub>2</sub> U <sub>1</sub>	K <sub>1</sub> T <sub>1</sub> U <sub>4</sub>	K <sub>3</sub> T <sub>2</sub> U <sub>3</sub>
K <sub>2</sub> T <sub>2</sub> U <sub>2</sub>	K <sub>1</sub> T <sub>2</sub> U <sub>4</sub>	K <sub>0</sub> T <sub>2</sub> U <sub>1</sub>	K <sub>3</sub> T <sub>3</sub> U <sub>2</sub>
K <sub>0</sub> T <sub>1</sub> U <sub>1</sub>	K <sub>3</sub> T <sub>2</sub> U <sub>4</sub>	K <sub>2</sub> T <sub>3</sub> U <sub>2</sub>	K <sub>2</sub> T <sub>1</sub> U <sub>4</sub>
K <sub>1</sub> T <sub>1</sub> U <sub>1</sub>	K <sub>1</sub> T <sub>3</sub> U <sub>1</sub>	K <sub>3</sub> T <sub>3</sub> U <sub>3</sub>	K <sub>1</sub> T <sub>3</sub> U <sub>4</sub>
K <sub>2</sub> T <sub>3</sub> U <sub>1</sub>	K <sub>1</sub> T <sub>1</sub> U <sub>5</sub>	K <sub>0</sub> T <sub>3</sub> U <sub>2</sub>	K <sub>3</sub> T <sub>3</sub> U <sub>4</sub>
K <sub>1</sub> T <sub>1</sub> U <sub>2</sub>	K <sub>2</sub> T <sub>2</sub> U <sub>5</sub>	K <sub>1</sub> T <sub>1</sub> U <sub>3</sub>	K <sub>0</sub> T <sub>2</sub> U <sub>2</sub>
K <sub>3</sub> T <sub>3</sub> U <sub>1</sub>	K <sub>0</sub> T <sub>2</sub> U <sub>3</sub>	K <sub>0</sub> T <sub>2</sub> U <sub>4</sub>	K <sub>2</sub> T <sub>1</sub> U <sub>2</sub>
K <sub>0</sub> T <sub>3</sub> U <sub>4</sub>	K <sub>3</sub> T <sub>1</sub> U <sub>5</sub>	K <sub>1</sub> T <sub>3</sub> U <sub>2</sub>	K <sub>3</sub> T <sub>2</sub> U <sub>2</sub>
K <sub>0</sub> T <sub>1</sub> U <sub>2</sub>	K <sub>3</sub> T <sub>3</sub> U <sub>5</sub>	K <sub>2</sub> T <sub>3</sub> U <sub>5</sub>	K <sub>1</sub> T <sub>2</sub> U <sub>1</sub>
K <sub>1</sub> T <sub>2</sub> U <sub>5</sub>	K <sub>2</sub> T <sub>1</sub> U <sub>1</sub>	K <sub>1</sub> T <sub>2</sub> U <sub>3</sub>	K <sub>2</sub> T <sub>3</sub> U <sub>4</sub>
K <sub>1</sub> T <sub>3</sub> U <sub>5</sub>	K <sub>0</sub> T <sub>3</sub> U <sub>5</sub>	K <sub>0</sub> T <sub>2</sub> U <sub>5</sub>	K <sub>2</sub> T <sub>3</sub> U <sub>3</sub>
K <sub>3</sub> T <sub>1</sub> U <sub>2</sub>	K <sub>0</sub> T <sub>3</sub> U <sub>3</sub>	K <sub>0</sub> T <sub>1</sub> U <sub>4</sub>	K <sub>2</sub> T <sub>2</sub> U <sub>1</sub>
K <sub>0</sub> T <sub>1</sub> U <sub>3</sub>	K <sub>2</sub> T <sub>1</sub> U <sub>3</sub>	K <sub>1</sub> T <sub>2</sub> U <sub>2</sub>	K <sub>0</sub> T <sub>1</sub> U <sub>5</sub>
K <sub>0</sub> T <sub>3</sub> U <sub>1</sub>	K <sub>3</sub> T <sub>2</sub> U <sub>5</sub>	K <sub>2</sub> T <sub>2</sub> U <sub>3</sub>	K <sub>2</sub> T <sub>2</sub> U <sub>2</sub>

### 3.4 Pelaksanaan Penelitian

#### 3.4.1 Persiapan eksplan

Bahan tanaman berasal dari eksplan angrek *Dendrobium strebloceras* hasil sub kultur ke 2 berumur 5 bulan setelah tabur dengan tinggi tanaman  $\pm 1$  cm.

#### 3.4.2 Persiapan larutan kolkhisin

Sebelum membuat larutan kolkhisin yang digunakan untuk perlakuan, terlebih dahulu membuat larutan stock kolkhisin. Kristal kolkhisin ditimbang sesuai perlakuan sebanyak 0,005 gr ; 0,01 gr ; 0,015 gr/ Liter atau setara dengan 0,05% ; 0,1% ; 0,15%, tambahkan aquades hingga 1 liter, dikocok hingga homogen, kemudian disaring dengan kertas saring, sehingga tidak ada kotoran atau endapan, simpan bahan sebagai larutan stock. Penginduksian membutuhkan larutan kolkhisin untuk masing-masing perlakuan sebanyak 10 ml (hingga eksplan terendam).

#### 3.4.3 Pembuatan Media

Media tumbuh yang digunakan dalam penelitian ini ialah media  $\frac{1}{2}$  MS (Murashige-Skoog, 1962). Jenis-jenis senyawa yang dibutuhkan pada larutan stock media MS dapat dilihat di lampiran 1. Sebelum membuat media, terlebih

dahulu membuat larutan stock. Fungsi larutan stock untuk mempermudah penimbangan dan dapat digunakan untuk membuat media selanjutnya.

Pembuatan media agar dilakukan dengan mencampurkan stok bahan kimia makro kepekatan 10x (100 ml per liter larutan) dan stok mikro, vitamin, besi masing-masing memiliki kepekatan 500x (50 ml per liter larutan). Proses pembuatan media  $\frac{1}{2}$  MS adalah yang pertama semua bahan ditimbang dan ditakar sesuai ukuran, kemudian gula dimasukkan ke dalam gelas kimia, dipanaskan dengan air kelapa dan sedikit air hingga benar-benar larut, setelah itu pH diukur dengan kertas pH universal. pH yang ideal untuk media adalah 5,3. Apabila pH terlalu asam maka ditambah dengan NaOH dan apabila terlalu basa ditambah dengan HCl, kemudian agar dimasukkan. Media kemudian dimasukkan ke dalam botol 140 ml dengan takaran 30 ml/botol. Botol ditutup dengan tutup karet dan sedikit ditekan dengan kayu agar tidak lepas ketika disterilisasi. Media siap disterilisasi dalam autoklaf.

#### **3.4.4 Sterilisasi media tanam, alat dan ruang inkubator**

Sterilisasi media tanam dilakukan dengan memasukkan botol media ke dalam autoclave dan disterilisasi dengan suhu 120°C dengan tekanan 1,5 kg/cm<sup>2</sup> selama 15 - 20 menit. Botol-botol media yang sudah steril diangkat dan disimpan di tempat sejuk sampai siap untuk penanaman eksplan (Wijayani, 1994). Demikian juga pada sterilisasi kolkhisin, aquades yang akan digunakan sebagai pelarut kolkhisin disterilisasi dengan cara dimasukkan ke dalam autoclave selama 15 - 20 menit pada suhu 120°C dengan tekanan 1,5 kg/cm<sup>2</sup>.

Sterilisasi entkas dan alat-alat yang digunakan di dalam entkas (pinset, sendok spatula, petridish dan pipet) dengan menyemprotkan alkohol 70% dan memberikan 5 butir tablet formalin di dalam entkas. Setelah itu entkas dibiarkan selama minimal 7 jam sebelum digunakan.

Sterilisasi ruang inkubator (ruang penyimpanan) adalah dengan menggunakan lampu ultraviolet (UV lamp) dan lantai ruang inkubator disterilkan dengan alkhohol.

### 3.4.5 Penginduksian kolkhisin pada eksplan angrek

Penginduksian kolkhisin dilakukan dengan cara merendam tanaman dalam larutan kolkhisin dengan masing-masing perlakuan sesuai konsentrasi kolkhisin dan waktu perendaman eksplan. Perendaman dilakukan pada pukul 06.00.

Eksplan yang telah steril direndam dalam larutan kolkhisin. Penuangan larutan kolkhisin dilakukan sampai titik tumbuh tanaman terendam. Perendaman dilakukan di dalam entkas dengan cara memasukkan eksplan dalam botol berisi larutan kolkhisin yang sudah steril dan menyimpannya di tempat gelap (tidak terkena sinar matahari) agar kualitas kolkhisin tetap terjaga, sampai waktu perendaman yang telah ditentukan. Eksplan yang telah direndam, ditanam dalam media agar yang telah disiapkan. Proses regenerasi hingga pertumbuhan akar.

### 3.4.6 Pengamatan

Pengamatan yang dilakukan meliputi peubah :

- a. jumlah planlet yang hidup, yaitu menghitung jumlah individu tanaman setiap perlakuan yang tetap tumbuh dan berwarna hijau.
- b. jumlah daun/tanaman yaitu menghitung jumlah daun yang membuka sempurna.
- c. jumlah akar/tanaman yaitu menghitung jumlah akar yang tumbuh.
- d. berat yaitu menimbang berat tanaman (g).
- e. tinggi tanaman yaitu mengukur tanaman dari ruas kotiledon sampai ujung teratas tanaman (cm).
- f. jumlah stomata yaitu menghitung jumlah stomata dalam 5 bidang pandang menggunakan mikroskop kamera.
- g. kerapatan stomata yaitu menghitung stomata bagian epidermis bawah daun per mm<sup>2</sup> menggunakan mikroskop kamera.
- h. warna daun yaitu melihat warna daun dengan menggunakan Royal Horticulture Society Colour Chart.
- i. jumlah kromosom, yaitu menghitung jumlah kromosom pada saat metafase.

Pengamatan jumlah kromosom, tinggi tanaman, berat tanaman, jumlah stomata, kerapatan stomata dan warna daun dilakukan pada akhir pengamatan (35 hst), kecuali pada jumlah akar/ tanaman dan jumlah daun/ tanaman dilakukan tiap minggu.

Pengamatan jumlah kromosom dilakukan di bawah mikroskop saat pembelahan mitosis pada akar anggrek dengan metode squash dengan pewarnaan *Acetoorcein* (lampiran 2).

### 3.4.7 Analisis Data

Data pengamatan dianalisis dengan sidik ragam ANOVA pada taraf 5%, apabila berbeda nyata, maka dilakukan uji lanjutan dengan Uji BNT pada taraf 5%.



## IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 HASIL

#### 4.1.1 Pertumbuhan Planlet *Dendrobium strebloceras* in vitro

**Tabel 1. Persentase (%) pertumbuhan eksplan angrek**

Konsentrasi (%)	Lama perendaman (jam)	Jumlah Eksplan (planlet)		Tumbuh 35 hst
		Dikulturkan	Mati (%)	
Kontrol		45	0%	100%
0.05	3	15	10%	90%
	6	15	20%	80%
	9	15	20%	80%
0.1	3	15	20%	80%
	6	15	30%	70%
	9	15	20%	80%
0.15	3	15	40%	60%
	6	15	40%	60%
	9	15	40%	60%

Tabel 1 menunjukkan bahwa presentase pertumbuhan paling baik terdapat pada tanaman kontrol. Tidak ada eksplan yang terkontaminasi, sedangkan pada tanaman yang diberi perlakuan kolkhisin mengalami kontaminasi. Semakin tinggi konsentrasi kolkhisin dan lama perendaman, maka semakin tinggi pula tingkat kontaminasi yang dialami. Hal ini kemungkinan disebabkan karena kolkhisin merupakan senyawa racun bagi tumbuhan. Kontaminasi yang paling banyak ditemukan ialah kontaminasi yang disebabkan oleh jamur, sedangkan kontaminasi karena bakteri hanya ditemukan beberapa saja. Kontaminasi karena jamur dapat berasal dari beberapa penyebab sebagai berikut : sterilisasi media yang kurang sempurna, lingkungan kerja dan pelaksanaan/cara kerja saat penanaman, eksplan, molekul – molekul atau benda asing berukuran kecil yang jatuh atau masuk ke dalam botol kultur jaringan setelah penanaman dan ketika diletakkan di ruang kultur atau masih tertinggalnya agar pada saat subkultur. Cara untuk mengurangi tingginya tingkat kontaminasi dapat dilakukan dengan cara membersihkan

berbagai sarana dalam kegiatan kultur (pipet, botol – botol kultur, dll) dan membersihkan sisa agar yang masih tertinggal pada saat subkultur.

#### 4.1.2 Perubahan Morfologi planlet Anggrek *Dendrobium*

Hasil penelitian menunjukkan adanya pengaruh interaksi antara tingkat konsentrasi dan lama perendaman, faktor tingkat konsentrasi dan faktor lama perendaman kolkhisin yang bervariasi terhadap pertumbuhan eksplan anggrek *Dendrobium strebloceras* meliputi jumlah daun, jumlah akar, berat tanaman, tinggi tanaman, jumlah stomata dan kerapatan stomata.

**Tabel 2. Hasil Analisis Ragam beberapa karakter vegetatif planlet anggrek *Dendrobium strebloceras* akibat perlakuan konsentrasi kolkhisin dan lama perendaman**

Peubah	Konsentrasi kolkhisin (%)	Lama perendaman (jam)	K x T
7 hst			
Jumlah daun	16,218 **	0,799 TN	0,93 TN
Jumlah akar	0,100 TN	0,304 TN	3,780 **
14 hst			
Jumlah daun	28,817 **	0,217 TN	1,217 TN
Jumlah akar	8,058 **	3,654 **	2,799 *
21 hst			
Jumlah daun	26,409 **	4,347 *	5,876 **
Jumlah akar	0,892 TN	7,871 **	11,054 **
28 hst			
Jumlah daun	16,218 **	0,799 TN	0,931 TN
Jumlah akar	14,947 **	0,469 TN	0,403 TN
35 hst			
Jumlah daun	30,636 **	5,070 *	5,566 **
Jumlah akar	23,257 **	7,609 **	5,188 **
Berat tanaman	1,375 TN	4,390 **	1,225 TN
Tinggi tanaman	4,388*	0,360 TN	0,345 TN
Jumlah stomata	10,402 **	0,277 TN	6,310 **
Kerapatan stomata	95,822 **	2,999 TN	9,568 **

Keterangan : TN = Tidak Nyata ; \*\* = nyata pada  $\alpha = 0.01$  ; \* = nyata pada  $\alpha = 0.05$

#### 4.1.2.1 Pengaruh Kolkhisin Terhadap Jumlah Daun

Tabel 2 menunjukkan pada minggu pertama (7 hst), hasil anova menunjukkan bahwa tingkat konsentrasi kolkhisin memberikan pengaruh terhadap peubah jumlah daun saat dilakukan uji F pada taraf  $\alpha = 0.05$ . Lama perendaman serta interaksi antara tingkat konsentrasi dan lama perendaman tidak memberikan pengaruh terhadap peubah jumlah daun. Pada minggu kedua (14 hst), hasil anova menunjukkan bahwa tingkat konsentrasi kolkhisin memberikan pengaruh terhadap peubah jumlah daun saat dilakukan uji F pada taraf  $\alpha = 0.05$ . Lama perendaman serta interaksi antara tingkat konsentrasi dan lama perendaman tidak memberikan pengaruh terhadap peubah jumlah daun. Pada minggu ketiga (21 hst), hasil anova menunjukkan bahwa tingkat konsentrasi kolkhisin, lama perendaman dan interaksi keduanya memberikan pengaruh terhadap peubah jumlah daun saat dilakukan uji F pada taraf  $\alpha = 0.05$ . Pada minggu keempat (28 hst), hasil anova menunjukkan bahwa interaksi antara tingkat konsentrasi dan waktu perendaman kolkhisin tidak memberikan pengaruh terhadap peubah jumlah daun saat dilakukan uji F pada taraf  $\alpha = 0.05$ , demikian pula pada faktor waktu perendaman, akan tetapi tingkat konsentrasi memberikan pengaruh terhadap peubah jumlah daun.

**Tabel 3. Rata-rata jumlah daun pada beberapa tingkat konsentrasi yang berbeda**

Konsentrasi Kolkhisin (%)	Jumlah daun pada HST ke				
	7	14	21	28	35
0	2,578 c	3,089 c	3,089 c	3,489 b	3,733 b
0.05	1,600 b	1,600 b	2,356 b	2,667 a	3,222 a
0.1	1,467 a	1,480 a	2,245 a	2,889 a	3,178 a
0.15	1,400 a	1,440 a	2,022 a	2,933 a	3,111 a

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada uji BNT 5%

Dari tabel 3 dapat dilihat bahwa pada minggu pertama (7 hst) pemberian kolkhisin pada tingkat konsentrasi 0.05% - 0.15% menghasilkan jumlah daun lebih sedikit dibandingkan dengan tanaman kontrol. Pemberian kolkhisin pada tingkat konsentrasi yang lebih tinggi mengakibatkan jumlah daun semakin sedikit, akan tetapi jumlah daun pada tingkat konsentrasi 0.1% dan 0.15% tidak berbeda nyata (tabel 3).

Pada minggu kedua (14 hst), pemberian kolkhisin pada tingkat konsentrasi 0.05% - 0.15% menyebabkan jumlah daun lebih sedikit dibandingkan dengan tanaman kontrol. Pemberian kolkhisin pada tingkat konsentrasi yang lebih tinggi mengakibatkan jumlah daun semakin sedikit, akan tetapi jumlah daun pada tingkat konsentrasi 0.1% dan 0.15% tidak berbeda nyata.

Pada minggu ketiga (21 hst), pemberian kolkhisin pada tingkat konsentrasi 0.05% - 0.15% menyebabkan jumlah daun semakin sedikit dibandingkan dengan tanaman kontrol. Semakin tinggi tingkat konsentrasi kolkhisin, maka jumlah daun semakin sedikit, akan tetapi jumlah daun pada tingkat konsentrasi 0.1% dan 0.15% tidak berbeda.

Pada minggu keempat (28 hst), pemberian kolkhisin pada tingkat konsentrasi 0.5% - 0.15% menyebabkan jumlah daun lebih sedikit dibandingkan dengan tanaman kontrol. Antara kontrol dengan semua tingkat konsentrasi mempunyai nilai yang berbeda nyata, akan tetapi semua kombinasi konsentrasi mempunyai nilai yang tidak berbeda nyata satu sama lain.

Pada minggu kelima (35 hst), pemberian kolkhisin pada tingkat konsentrasi 0.05% - 0.15% menyebabkan jumlah daun semakin sedikit dibandingkan dengan tanaman kontrol, namun tidak berbeda antar tingkat konsentrasi satu dengan tingkat konsentrasi lainnya.

**Tabel 4. Rata-rata jumlah daun pada lama perendaman yang berbeda**

Lama Perendaman (jam)	Jumlah daun pada HST ke				
	7	14	21	28	35
3	1,880	2,467	2,470 a	3,133	3,300 ab
6	1,700	2,400	2,950 c	2,950	3,217 ab
9	1,700	2,420	2,900 bc	2,900	3,417 b

**Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada uji BNT 5%**

Tabel 4 menunjukkan bahwa lama perendaman memberikan pengaruh terhadap jumlah daun pada minggu ketiga (21 hst) dan minggu kelima (35 hst), Pada minggu ketiga (21 hst) dapat dilihat bahwa jumlah daun terkecil terdapat pada lama perendaman 3 jam, sedangkan lama perendaman 6 dan 9 jam tidak berbeda nyata. Pada minggu kelima (35 hst), lama perendaman 6 jam dan 9 jam tidak memberikan pengaruh terhadap jumlah daun dibandingkan dengan lama

perendaman 3 jam, akan tetapi lama perendaman 9 jam menyebabkan jumlah daun lebih banyak dibandingkan jumlah daun pada lama perendaman 6 jam

**Tabel 5. Rata-rata jumlah daun pada beberapa tingkat konsentrasi dan lama perendaman yang berbeda**

Konsentrasi kolkhisin (%)	Lama perendaman (jam) pada umur tanaman (hst)					
	21			35		
	3	6	9	3	6	9
0	17,000 A	17,000 A	17,667 A	19,333 B	17,667 A	19,667 C
0.05	15,333 C	13,667 B	12,667 A	17,000 A	17,667 B	15,333 A
0.1	14,000 B	13,000 A	13,000 A	15,333 B	14,667 A	16,667 C
0.15	14,000 A	14,667 B	14,667 B	16,000 B	15,667 A	16,667 C

**Keterangan :** Angka yang diikuti huruf kecil yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada uji BNT 5%, angka yang diikuti huruf besar pada baris yang sama tidak berbeda nyata pada uji BNT 5%.

Tabel 5 menunjukkan bahwa pada minggu ketiga (21 hst), faktor waktu perendaman berpengaruh terhadap jumlah daun pada tingkat konsentrasi 0.05%, 0.1% dan 0.15%. Pada tingkat konsentrasi 0.05%, semakin lama waktu perendaman akan menyebabkan semakin berkurangnya jumlah daun. Pada tingkat konsentrasi 0.1%, lama perendaman 6 jam dan 9 jam menyebabkan semakin sedikit jumlah daun dibandingkan lama perendaman 3 jam. Pada tingkat konsentrasi 0.15%, lama perendaman 6 jam dan 9 jam menyebabkan jumlah daun lebih banyak dibanding lama perendaman 3 jam. Faktor tingkat konsentrasi berpengaruh terhadap jumlah daun pada lama perendaman 3, 6 dan 9 jam. Lama perendaman 3, 6 dan 9 jam menyebabkan jumlah daun semakin sedikit dibandingkan dengan tanaman kontrol. Semakin tinggi tingkat konsentrasi kolkhisin, maka semakin sedikit jumlah daun. Akan tetapi jumlah daun pada konsentrasi 0.1% dan 0.15% tidak berbeda nyata. Pada lama perendaman 6 jam, tingkat konsentrasi 0.05% - 0.15% menyebabkan jumlah daun semakin sedikit dibandingkan tanaman kontrol. Begitu juga pada lama perendaman 9 jam, tingkat konsentrasi 0.05% - 0.15% menyebabkan jumlah daun semakin sedikit dibandingkan tanaman kontrol, akan tetapi tingkat konsentrasi 0.05% tidak berbeda dengan tingkat konsentrasi 0.1%.

Pada minggu kelima (35 hst), dapat diketahui bahwa tingkat konsentrasi 0.05% - 0.15%, jumlah daun dipengaruhi oleh lamanya waktu perendaman. Pada tingkat konsentrasi 0.05%, lama perendaman 6 jam menyebabkan jumlah daun lebih banyak dibanding lama perendaman 3 jam dan 9 jam. Pada lama perendaman 9 jam menyebabkan jumlah daun lebih banyak dibandingkan dari lama perendaman 6 jam, akan tetapi tidak berbeda dengan lama perendaman 3 jam. Pada konsentrasi 0.1%, jumlah daun dipengaruhi oleh lamanya waktu perendaman. Waktu perendaman 3 jam – 9 jam memberikan jumlah daun yang berbeda antar satu dengan lainnya. Pengaruh lama perendaman terhadap jumlah daun terlihat juga pada konsentrasi 0.15%, jumlah daun dipengaruhi oleh lamanya waktu perendaman. Waktu perendaman 3 jam – 9 jam memberikan jumlah daun yang berbeda antar satu dengan lainnya. Jumlah daun tertinggi terdapat pada lama perendaman 9 jam. Pada lama perendaman, jumlah daun juga dipengaruhi oleh konsentrasi kolkhisin. Pada lama perendaman 3 jam, konsentrasi 0.05% - 0.15% menyebabkan jumlah daun lebih sedikit dibandingkan tanaman kontrol. Pada tingkat konsentrasi 0.05% menyebabkan jumlah daun lebih sedikit dibandingkan tanaman kontrol, tetapi tidak berbeda dengan tingkat konsentrasi 0.1%. Pada lama perendaman 6 jam, konsentrasi 0.05% - 0.15% menyebabkan jumlah daun semakin sedikit dibandingkan dengan tanaman kontrol, tetapi tidak berbeda dengan tingkat konsentrasi 0.05%. Pada lama perendaman 9 jam, tingkat konsentrasi 0.05% - 0.15% menyebabkan jumlah daun lebih sedikit dibandingkan tanaman kontrol. Tingkat konsentrasi 0.1% menyebabkan jumlah daun lebih sedikit, akan tetapi tidak berbeda dengan tingkat konsentrasi 0.15%.

#### **4.1.2.2 Pengaruh Kolkhisin Terhadap Jumlah Akar**

Pada minggu pertama (7 hst), hasil anova menunjukkan bahwa interaksi antara tingkat konsentrasi dan waktu perendaman memberikan pengaruh terhadap jumlah akar saat dilakukan uji F pada taraf  $\alpha = 0.05$ , sedangkan faktor lama perendaman tidak memberikan pengaruh terhadap jumlah akar, demikian juga perlakuan tingkat konsentrasi kolkhisin tidak memberikan pengaruh terhadap jumlah akar. Pada minggu kedua (14 hst), hasil anova menunjukkan bahwa antara tingkat konsentrasi, lama perendaman dan interaksi keduanya memberikan

pengaruh terhadap jumlah akar saat dilakukan uji F pada taraf  $\alpha = 0.05$ . Pada minggu kedua (14 hst), hasil anova menunjukkan bahwa antara tingkat konsentrasi, lama perendaman dan interaksi keduanya memberikan pengaruh terhadap jumlah akar saat dilakukan uji F pada taraf  $\alpha = 0.05$ . Pada minggu ketiga (21 hst), hasil anova menunjukkan bahwa interaksi antara tingkat konsentrasi dan lama perendaman memberikan pengaruh terhadap jumlah akar saat dilakukan uji F pada taraf  $\alpha = 0.05$ , begitu juga faktor lama perendaman, akan tetapi pengaruh terhadap jumlah akar tidak terlihat pada perlakuan tingkat konsentrasi kolkhisin. Pada minggu keempat (28 hst), hasil anova menunjukkan bahwa konsentrasi kolkhisin, lama perendaman dan interaksi antara konsentrasi kolkhisin dan lama perendaman memberikan pengaruh terhadap jumlah akar saat dilakukan uji F pada taraf  $\alpha = 0.05$ . Pada minggu kelima (35 hst), hasil anova menunjukkan bahwa interaksi antara tingkat konsentrasi dan lama perendaman memberikan pengaruh terhadap jumlah akar saat dilakukan uji F pada taraf  $\alpha = 0.05$ , begitu juga dengan tingkat konsentrasi dan lama perendaman (tabel 2).

**Tabel 6. Rata-rata jumlah akar pada beberapa tingkat konsentrasi yang berbeda**

Konsentrasi Kolkhisin (%)	Jumlah akar pada HST ke				
	7	14	21	28	35
0	1,222	1,644 a	2,367	3,178 d	3,111 b
0.05	1,222	1,400 b	2,267	2,300 a	2,533 a
0.1	1,222	1,533 b	2,250	2,444 b	2,511 a
0.15	1,222	1,644 b	2,250	2,822 c	3,156 b

**Keterangan :** Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada uji BNT 5%

Tabel 6. menunjukkan bahwa pada minggu kedua (14 hst), pemberian kolkhisin dengan tingkat konsentrasi 0.05% - 0.15% menyebabkan jumlah akar semakin sedikit dibandingkan dengan tanaman kontrol, akan tetapi tidak berbeda antara satu dengan lainnya. Pada minggu keempat (28 hst), pemberian kolkhisin pada tingkat konsentrasi 0.05% - 0.15% menyebabkan jumlah akar lebih sedikit dibandingkan tanaman kontrol. Semakin tinggi konsentrasi kolkhisin, maka jumlah akar semakin sedikit. Pada minggu kelima (35 hst), pemberian kolkhisin pada tingkat konsentrasi 0.05% - 0.15% menyebabkan jumlah akar semakin sedikit dibandingkan dengan tanaman kontrol, akan tetapi tingkat konsentrasi

0.05% tidak berbeda dengan kontrol dan tingkat konsentrasi 0.15% tidak berbeda dengan 0.1%.

**Tabel 7. Rata-rata jumlah akar pada lama perendaman yang berbeda.**

Lama Perendaman (jam)	Jumlah akar pada HST ke				
	7	14	21	28	35
3	1,217	1,550 b	2,617 b	2,917 b	3,000 b
6	1,250	1,450 a	2,483 a	2,583 a	2,833 a
9	1,200	1,450 a	2,553 a	2,533 a	2,650 a

**Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada uji BNT 5%.**

Tabel 7 menunjukkan bahwa pada minggu kedua (14 hst), jumlah akar tertinggi terdapat pada lama perendaman 3 jam, sedangkan jumlah akar pada lama perendaman 6 jam dan 9 jam lebih sedikit dibandingkan dengan jumlah akar pada lama perendaman 3 jam, akan tetapi keduanya tidak berbeda. Lama perendaman berpengaruh terhadap jumlah akar pada minggu ketiga (21 hst). Jumlah akar pada perendaman 6 jam dan 9 jam menyebabkan jumlah akar semakin sedikit dibandingkan dengan lama perendaman 3 jam, akan tetapi jumlah akar pada lama perendaman 6 jam dan 9 jam tidak berbeda. Pada minggu keempat (28 hst), perendaman plantlet anggrek dalam senyawa kolkhisin selama 9 jam menyebabkan jumlah akar menjadi semakin sedikit dibandingkan pada lama perendaman 3 jam dan tidak berbeda nyata dengan lama perendaman 6 jam. Begitu juga pada minggu kelima (35 hst), pemberian kolkhisin pada lama perendaman 6 jam dan 9 jam menyebabkan jumlah akar semakin sedikit dibandingkan dengan tanaman pada lama perendaman 3 jam, akan tetapi jumlah akar pada lama perendaman 6 jam dan 9 jam tidak berbeda.

**Tabel 8. Rata-rata jumlah akar pada beberapa tingkat konsentrasi dan lama perendaman**

Konsentrasi kolkhisin (%)	Umur tanaman (hst) pada lama perendaman (jam)														
	7			14			21			28			35		
	3	6	9	3	6	9	3	6	9	3	6	9	3	6	9
0	6,22 A	6,67 B	7,00 C	7,67 A	7,00 A	9,00 B	11,67 A	12,00 B	18,67 C	15,00 A	15,67 B	18,67 C	15,33 A	16,67 B	19,00 C
0.05	6,33 A	6,33 A	6,67 B	7,00 A	9,00 C	8,00 B	11,67 B	10,67 A	12,67 C	12,00 A	13,00 B	13,67 C	12,33 A	13,67 C	15,67 B
0.1	5,67 A	6,00 B	5,33 A	6,40 B	8,00 C	5,67 A	11,33 A	12,67 B	11,67 A	12,00 B	13,00 C	12,00 A	12,33 A	13,33 C	12,67 B
0.15	5,33 B	6,00 C	5,00 A	6,33 A	8,00 B	6,33 A	11,00 B	10,67 A	11,33 C	12,33 B	11,33 A	11,67 A	13,00 A	15,33 B	16,00 C

Keterangan : Angka yang diikuti huruf kecil yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada uji BNT 5%, angka yang diikuti huruf besar yang sama pada baris yang sama tidak berbeda nyata pada uji BNT 5%.

Tabel 8 menunjukkan bahwa pada tingkat konsentrasi 0.05% - 0.15%, jumlah akar dipengaruhi oleh lama perendaman. Pemberian kolkhisin dengan tingkat konsentrasi 0.05% pada lama perendaman 9 jam menyebabkan jumlah akar semakin banyak. Jumlah akar pada lama perendaman 3 jam dan 6 jam tidak berbeda nyata. Pemberian kolkhisin dengan tingkat konsentrasi 0.1% pada lama perendaman 3 – 9 jam memberikan pengaruh terhadap jumlah akar. Jumlah akar tertinggi terlihat pada waktu perendaman 6 jam, sedangkan lama perendaman 3 jam dan 9 jam tidak berbeda nyata. Pemberian kolkhisin dengan tingkat konsentrasi 0.15% pada lama perendaman 6 jam menyebabkan jumlah akar paling banyak dibandingkan dengan lama perendaman 3 jam dan 9 jam. Jumlah akar paling sedikit terdapat pada lama perendaman 9 jam. Pada lama perendaman 3 – 9 jam, jumlah akar dipengaruhi oleh tingkat konsentrasi kolkhisin. Pemberian kolkhisin dengan lama perendaman 3 jam, tingkat konsentrasi 0.05% - 0.15% menyebabkan jumlah akar semakin sedikit dibandingkan dengan tanaman kontrol, akan tetapi pemberian kolkhisin pada tingkat konsentrasi 0.05% tidak berbeda dengan tanaman kontrol. Pemberian kolkhisin dengan lama perendaman 6 jam pada tingkat konsentrasi 0.05% menyebabkan jumlah akar paling tinggi. Pemberian kolkhisin dengan lama perendaman 6 jam pada tingkat konsentrasi 0.1% dan 0.15% menyebabkan jumlah akar semakin sedikit dibandingkan dengan kontrol dan tingkat konsentrasi 0.05%, tetapi keduanya tidak berbeda. Pemberian kolkhisin dengan lama perendaman 9 jam pada tingkat konsentrasi 0.05% - 0.15% menyebabkan jumlah akar semakin sedikit dibandingkan dengan tanaman kontrol.

Interaksi antara lama perendaman dan konsentrasi kolkhisin pada minggu kedua (14 hst) mempengaruhi jumlah akar. Dapat dilihat dari tabel 8 yang menunjukkan bahwa tingkat konsentrasi 0.05%, jumlah akar dipengaruhi oleh waktu perendaman. Pemberian kolkhisin dengan lama perendaman 6 jam menyebabkan jumlah akar semakin banyak dibanding dengan lama perendaman 3 dan 9 jam. Jumlah akar paling sedikit terdapat pada lama perendaman 3 jam. Pemberian kolkhisin dengan konsentrasi 0.1% pada lama perendaman 6 jam menyebabkan jumlah akar lebih banyak dibanding pada lama perendaman 3 jam dan 9 jam. Jumlah akar paling sedikit terdapat pada lama perendaman 9 jam.

Pemberian konsentrasi kolkhisin 0.15% pada lama perendaman 6 jam menyebabkan jumlah akar paling banyak dibandingkan dengan lama perendaman 3 jam dan 9 jam. Jumlah akar pada lama perendaman 3 jam dan 9 jam tidak berbeda. Pada lama perendaman 3 – 9 jam, jumlah akar dipengaruhi oleh konsentrasi kolkhisin. Pemberian kolkhisin dengan lama perendaman 3 jam pada tingkat konsentrasi 0.05% - 0.15% menyebabkan jumlah akar semakin sedikit dibandingkan dengan tanaman kontrol, akan tetapi jumlah akar pada konsentrasi 0.05% dan 0.1% tidak berbeda nyata. Pemberian kolkhisin dengan lama perendaman 6 jam pada tingkat konsentrasi 0.05% - 0.15% menyebabkan jumlah akar semakin sedikit dibandingkan dengan tanaman kontrol. Jumlah akar pada konsentrasi 0.1% dan 0.15% tidak berbeda. Jumlah akar paling sedikit terdapat pada tingkat konsentrasi 3 jam. Pemberian kolkhisin dengan lama perendaman 9 jam pada tingkat konsentrasi 0.05% - 0.15% menyebabkan jumlah akar semakin sedikit dibandingkan dengan tanaman kontrol. Semakin tinggi konsentrasi kolkhisin, maka jumlah akar akan semakin sedikit.

Interaksi antara lama perendaman dan konsentrasi kolkhisin pada minggu ketiga (21) hst dapat dilihat pada tabel 8 yang menunjukkan bahwa pada tingkat konsentrasi 0.05% - 0.15%, jumlah akar dipengaruhi oleh lama perendaman. Pemberian kolkhisin dengan waktu perendaman 9 jam pada tingkat konsentrasi 0.05% menyebabkan jumlah akar paling banyak dibandingkan dengan lama perendaman 3 jam dan 6 jam. Jumlah akar paling sedikit terdapat pada lama perendaman 6 jam. Pemberian kolkhisin dengan waktu perendaman 6 jam pada tingkat konsentrasi 0.1% menyebabkan jumlah akar paling banyak dibanding dengan lama perendaman 3 jam dan 9 jam. Jumlah akar pada lama perendaman 3 jam dan 9 jam tidak berbeda. Pemberian kolkhisin dengan waktu perendaman 9 jam pada tingkat konsentrasi 0.15% menyebabkan jumlah akar semakin banyak dibandingkan pada lama perendaman 3 jam dan 6 jam. Jumlah akar paling sedikit terdapat pada lama perendaman 6 jam. Pada lama perendaman 3 - 9 jam, jumlah akar dipengaruhi oleh tingkat konsentrasi. Pemberian kolkhisin dengan tingkat konsentrasi 0.05% - 0.1% pada lama perendaman 3 jam menyebabkan jumlah akar semakin sedikit dibandingkan dengan tanaman kontrol. Jumlah akar pada tingkat konsentrasi 0.05% tidak berbeda dengan tanaman kontrol. Pemberian

kolkhisin dengan tingkat konsentrasi 0.05% - 0.15% pada lama perendaman 6 jam menyebabkan jumlah akar semakin sedikit dibandingkan dengan tanaman kontrol. Jumlah akar pada konsentrasi 0.05% dan 0.15% tidak berbeda. Pemberian kolkhisin pada tingkat konsentrasi 0.05% - 0.15% pada lama perendaman 9 jam menyebabkan jumlah akar semakin sedikit dibandingkan dengan tanaman kontrol. Semakin tinggi konsentrasi kolkhisin, menyebabkan jumlah akar semakin sedikit.

Interaksi antara lama perendaman dan konsentrasi kolkhisin pada minggu keempat (28 hst) dapat dilihat dari tabel 8 yang menunjukkan bahwa lama perendaman memberikan pengaruh terhadap jumlah akar pada tingkat konsentrasi 0.05%. Pemberian kolkhisin dengan tingkat konsentrasi 0.05% pada lama perendaman 9 jam menyebabkan jumlah akar paling banyak dibanding pada lama perendaman 3 jam dan 6 jam. Semakin lama waktu perendaman, maka semakin banyak jumlah akar. Pemberian kolkhisin dengan tingkat konsentrasi 0.1% pada lama perendaman 9 jam menyebabkan jumlah akar paling sedikit dibanding pada lama perendaman 3 jam dan 6 jam. Jumlah akar paling banyak terdapat pada lama perendaman 6 jam. Pemberian kolkhisin dengan tingkat konsentrasi 0.15% pada lama perendaman 3 jam menyebabkan jumlah akar semakin sedikit dibandingkan dengan tanaman pada lama perendaman 6 jam dan 9 jam. Jumlah akar pada lama perendaman 6 jam dan 9 jam tidak berbeda. Tingkat konsentrasi 0.05% - 0.15% memberikan pengaruh terhadap jumlah akar pada lama perendaman 3 jam. Pemberian kolkhisin dengan lama perendaman 3 jam pada tingkat konsentrasi 0.05% - 0.15% menyebabkan jumlah akar semakin sedikit dibandingkan dengan tanaman kontrol, akan tetapi jumlah akar pada tingkat konsentrasi 0.1% dan 0.15% tidak berbeda. Pemberian kolkhisin dengan lama perendaman 6 jam pada tingkat konsentrasi 0.05% - 0.15% menyebabkan jumlah akar semakin sedikit dibandingkan dengan tanaman kontrol, akan tetapi jumlah akar pada tingkat konsentrasi 0.05% dan 0.1% tidak berbeda. Pemberian kolkhisin dengan lama perendaman 9 jam pada tingkat konsentrasi 0.05% - 0.15% menyebabkan jumlah akar semakin sedikit dibandingkan dengan tanaman kontrol, semakin tinggi tingkat konsentrasi kolkhisin, maka semakin sedikit jumlah akar.

Interaksi antara konsentrasi kolkhisin dan lama perendaman pada minggu kelima (35) hst dapat dilihat pada tabel 8 yang menunjukkan bahwa lama

perendaman memberikan pengaruh terhadap jumlah akar. Pemberian kolkhisin dengan tingkat konsentrasi 0.05% pada lama perendaman 9 jam menyebabkan jumlah akar paling banyak dibandingkan dengan lama perendaman 3 jam dan 9 jam. Semakin lama waktu perendaman, maka semakin banyak jumlah akar. Pemberian kolkhisin dengan tingkat konsentrasi 0.1% pada lama perendaman 6 jam menyebabkan jumlah akar paling banyak dibandingkan dengan lama perendaman 3 jam dan 9 jam. Pemberian kolkhisin dengan tingkat konsentrasi 0.15% pada lama perendaman 9 jam menyebabkan jumlah akar paling banyak dibandingkan dengan lama perendaman 3 jam dan 6 jam. Tingkat konsentrasi memberikan pengaruh terhadap jumlah akar pada tanaman kontrol dan tingkat konsentrasi 0.05% – 0.15%. Pemberian kolkhisin dengan lama perendaman 3 jam pada tingkat konsentrasi 0.05% - 0.15% menyebabkan jumlah akar semakin sedikit dibanding dengan tanaman kontrol. Jumlah akar pada tingkat konsentrasi 0.1% tidak berbeda dengan tingkat konsentrasi 0.15%. Pemberian kolkhisin dengan lama perendaman 6 jam pada tingkat konsentrasi 0.05% - 0.15% menyebabkan jumlah akar lebih sedikit dibandingkan dengan tanaman kontrol. Jumlah akar pada tingkat konsentrasi 0.1% tidak berbeda dengan tingkat konsentrasi 0.15%. Pemberian kolkhisin dengan lama perendaman 9 jam pada tingkat konsentrasi 0.05% - 0.15% menyebabkan jumlah akar semakin sedikit dibandingkan dengan tanaman kontrol, akan tetapi tanaman pada tingkat konsentrasi 0.1% dan tingkat konsentrasi 0.15% tidak berbeda.

#### **4.1.2.3 Pengaruh Kolkhisin Terhadap Berat Tanaman**

Hasil anova pada peubah berat tanaman menunjukkan bahwa interaksi antara tingkat konsentrasi dan lama perendaman tidak memberikan pengaruh saat dilakukan uji F pada taraf  $\alpha = 0.05$ , begitu juga dengan tingkat konsentrasi kolkhisin, akan tetapi lama perendaman memberikan pengaruh terhadap peubah berat tanaman (tabel 2).

**Tabel 9. Pengaruh lama perendaman terhadap berat tanaman, tinggi tanaman, jumlah stomata dan kerapatan stomata 35 hst.**

Lama perendaman (jam)	Berat tanaman (g)	Tinggi tanaman (cm)	Jumlah stomata	Kerapatan stomata (mm <sup>2</sup> )
3	0,045 a	1,33	5,44	48,142
6	0,052 a	1,39	5,23	46,283
9	0,085 b	1,49	4,98	44,071

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada uji BNT 5%

Tabel 9 menunjukkan bahwa lama perendaman 9 jam menyebabkan bertambahnya berat tanaman dibandingkan dengan lama perendaman 3 jam dan 6 jam. Berat tanaman pada lama perendaman 3 jam dan 6 jam tidak berbeda nyata.

#### 4.1.2.4 Pengaruh Kolkhisin Terhadap Tinggi Tanaman

Hasil anova pada peubah tinggi tanaman menunjukkan bahwa interaksi antara tingkat konsentrasi dan lama perendaman tidak memberikan pengaruh saat dilakukan uji F pada taraf  $\alpha = 0.05$ , begitu juga dengan lama perendaman, akan tetapi tingkat konsentrasi kolkhisin memberikan pengaruh terhadap peubah tinggi tanaman (tabel 2).

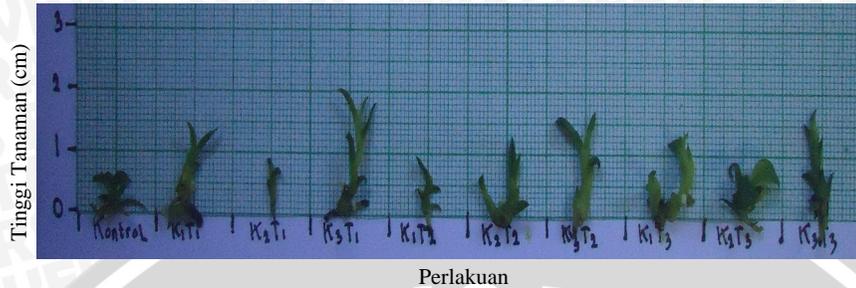
**Tabel 10. Pengaruh konsentrasi kolkhisin terhadap berat tanaman, tinggi tanaman, jumlah stomata dan kerapatan stomata 35 hst.**

Konsentrasi kolkhisin (%)	Berat tanaman (g)	Tinggi tanaman (cm)	Jumlah stomata	Kerapatan stomata (mm <sup>2</sup> )
0	0,037	1,600 a	7,640 b	74,742 b
0.05	0,048	1,350 a	4,680 a	35,446 a
0.1	0,035	1,160 a	4,400 a	32,328 a
0.15	0,059	2,000 b	4,147 a	27,471 a

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada uji BNT 5%

Tabel 10 menunjukkan bahwa pemberian kolkhisin pada tingkat konsentrasi 0.15% menyebabkan bertambahnya tinggi tanaman dibandingkan dengan tanaman kontrol. Tinggi tanaman pada tanaman kontrol, tingkat konsentrasi 0.05% dan 0.1% tidak berbeda nyata.

Visualisasi rerata tinggi tanaman berdasarkan interaksi antara tingkat konsentrasi dan waktu perendaman dapat dilihat pada gambar 2.



**Gambar 2.** Tinggi tanaman *Dendrobium strebloceras* dengan (a) Kontrol; (b) K1T1 : 0.05% + 3 jam; K2T1 : 0.1% + 3 jam; K3T1 : 0.15% + 3 jam; K1T2 : 0.1% + 3 jam; K2T2 : 0.1% + 6 jam; K2T3 : 0.1% + 9 jam; K3T1: 0.15% + 3 jam; K3T2 : 0.15% + 6 jam; K3T3 : 0.15% + 9 jam.

#### 4.1.2.5 Pengaruh Kolkhisin Terhadap Jumlah Stomata

Hasil anova pada peubah jumlah stomata menunjukkan bahwa interaksi antara tingkat konsentrasi dan lama perendaman memberikan pengaruh saat dilakukan uji F pada taraf  $\alpha = 0.05$ , begitu juga dengan tingkat konsentrasi, akan tetapi lama perendaman tidak memberikan pengaruh terhadap peubah jumlah stomata (tabel 2).

Dari hasil yang telah didapatkan, jumlah stomata pada tanaman kontrol lebih banyak dibandingkan dengan tanaman yang telah diberi perlakuan kolkhisin. Pada tanaman kontrol, jumlah stomata yang ditemukan berkisar antara 7 – 10 per bidang pandang, sedangkan pada tanaman yang diberi perlakuan sebagian besar memiliki stomata kurang dari itu. Pada tingkat konsentrasi 0.05% dan waktu perendaman 3 jam, jumlah stomata tertinggi yaitu 8, sedangkan rata-rata stomata yang dimiliki berkisar antara 5 - 6. Pada tingkat konsentrasi 0.05% dan waktu perendaman 6 jam berkisar antara 4 – 5. Pada tingkat konsentrasi yang sama dan waktu perendaman 9 jam, jumlah stomata semakin sedikit yaitu berkisar antara 1 – 4. Pada tingkat konsentrasi yang berbeda yaitu 0.1% dan waktu perendaman 3 jam, jumlah stomata berkisar antara 1 – 3. Pada konsentrasi yang sama dan waktu perendaman 6 jam, jumlah stomata justru lebih banyak dibanding waktu perendaman 3 jam, yaitu berkisar antara 4 – 6. Pada tingkat konsentrasi yang sama dan lama perendaman 9 jam, beberapa tanaman mempunyai jumlah stomata

yang banyak. Akan tetapi hanya sebagian saja. Rata-rata tanaman pada perlakuan ini mempunyai jumlah stomata sebanyak 4 -5. Pada tingkat konsentrasi yang lebih tinggi yaitu 0.15%, jumlah stomata yang dimiliki semakin sedikit. Hal ini terlihat pada semua waktu perendaman yaitu 3 jam, 6 jam dan 9 jam. Rata-rata jumlah stomata yang dimiliki berkisar antara 3 - 4.

Pemberian kolkhisin pada tingkat konsentrasi 0.05% - 0.15% menyebabkan jumlah stomata semakin sedikit dibandingkan dengan tanaman kontrol. Pemberian kolkhisin dengan tingkat konsentrasi 0.05% tidak berbeda dengan tingkat konsentrasi 0.1% dan 0.15% (tabel 10)

**Tabel 11. Rata-rata jumlah stomata pada beberapa tingkat konsentrasi dan lama perendaman yang berbeda.**

Konsentrasi kolkhisin (%)	Lama perendaman (jam)		
	3	6	9
0	32,400 c A	43,000 c B	45,800 c C
0.05	32,000 c C	22,200 b B	18,000 a A
0.1	23,800 b A	25,800 b B	29,000 b C
0.15	22,500 a B	15,600 a A	16,000 a A

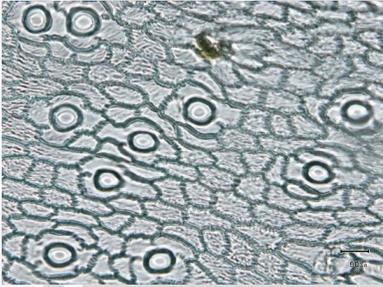
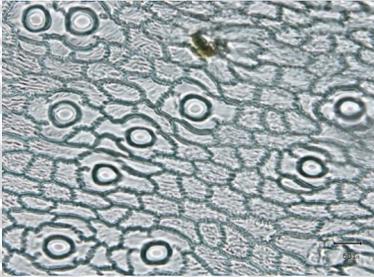
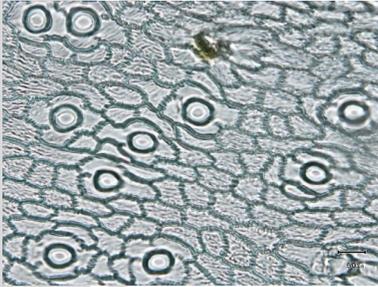
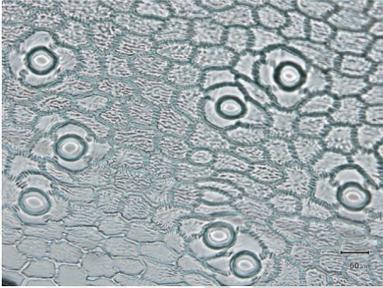
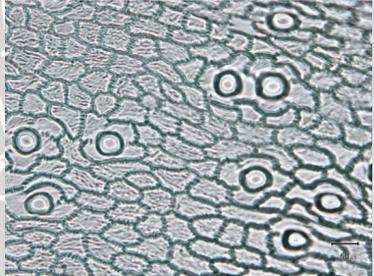
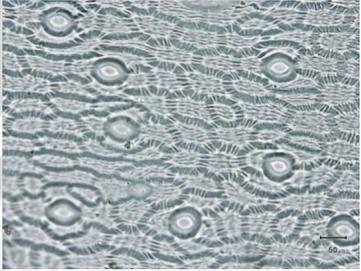
**Keterangan :** Angka yang diikuti huruf kecil yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada uji BNT 5%, angka yang diikuti huruf besar yang sama pada baris yang sama tidak berbeda nyata pada uji BNT 5%.

Tabel 11 menunjukkan bahwa lama perendaman memberikan pengaruh terhadap jumlah stomata pada tingkat konsentrasi 0.05%. Pemberian kolkhisin dengan tingkat konsentrasi 0.15% pada lama perendaman 9 jam menyebabkan jumlah stomata semakin sedikit dibandingkan pada lama perendaman 3 jam dan 6 jam. Pemberian kolkhisin dengan tingkat konsentrasi 0.1% pada lama perendaman 9 jam menyebabkan jumlah stomata menjadi banyak dibanding dengan tanaman pada lama perendaman 3 jam dan 6 jam. Pemberian kolkhisin dengan tingkat konsentrasi 0.15% pada lama perendaman 9 jam menyebabkan jumlah stomata menjadi lebih sedikit dibandingkan dengan lama perendaman 3 jam, akan tetapi tidak berbeda dengan lama perendaman 6 jam.

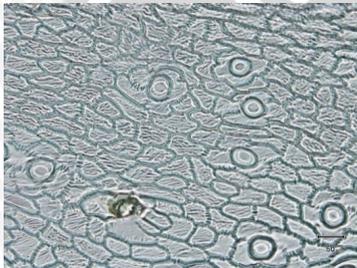
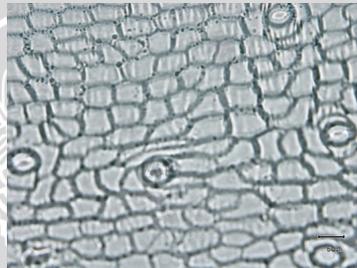
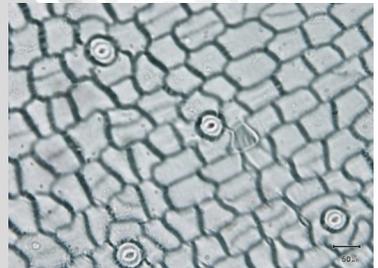
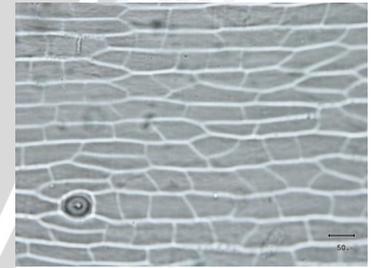
Tingkat konsentrasi kolkhisin memberikan pengaruh terhadap jumlah stomata pada lama perendaman 3 jam – 9 jam. Pemberian kolkhisin dengan lama perendaman 3 jam pada tingkat konsentrasi 0.05% - 0,15% menyebabkan jumlah stomata lebih sedikit dibandingkan tanaman kontrol, akan tetapi tidak berbeda dengan pada tingkat konsentrasi 0.05%. Semakin tinggi tingkat konsentrasi, maka jumlah stomata akan semakin sedikit. Pemberian kolkhisin dengan lama perendaman 6 jam pada tingkat konsentrasi 0.15% menyebabkan jumlah stomata lebih sedikit dibandingkan dengan tanaman kontrol, tingkat konsentrasi 0.05% dan tingkat konsentrasi 0.05%. Pemberian kolkhisin pada tingkat konsentrasi 0.05% menghasilkan jumlah stomata yang tidak berbeda dengan tanaman pada tingkat konsentrasi 0.1%. Pemberian kolkhisin dengan lama perendaman 9 jam pada tingkat konsentrasi 0.15% menyebabkan jumlah stomata lebih sedikit dibandingkan dengan tanaman kontrol dan tingkat konsentrasi 0.1%, tetapi tidak berbeda dengan tanaman pada tingkat konsentrasi 0.05%.



Tabel 12. Jumlah kromosom pada tingkat konsentrasi dan lama perendaman yang berbeda

Konsentrasi Kolkhisin (%)	Lama Perendaman (jam)		
	3	6	9
0			
0.05			

Lanjutan  
Tabel 12. Jumlah kromosom pada tingkat konsentrasi dan lama perendaman yang berbeda

Konsentrasi Kolkhisin (%)	Lama Perendaman (jam)		
	3	6	9
0.1			
0.15			

#### 4.1.2.6 Pengaruh kolkhisin terhadap kerapatan stomata

Hasil anova pada peubah jumlah stomata menunjukkan bahwa interaksi antara tingkat konsentrasi dan lama perendaman memberikan pengaruh saat dilakukan uji F pada taraf  $\alpha = 0.05$ , begitu juga dengan tingkat konsentrasi, akan tetapi lama perendaman tidak memberikan pengaruh terhadap peubah kerapatan stomata (tabel 2). Pemberian kolkhisin dengan tingkat konsentrasi 0.05% - 0.15% menyebabkan kerapatan stomata semakin rendah dibandingkan tanaman kontrol (tabel 10).

**Tabel 13. Rata-rata kerapatan stomata pada beberapa tingkat konsentrasi dan lama perendaman yang berbeda**

Konsentrasi kolkhisin (%)	Lama perendaman (jam)		
	3	6	9
0	338,830 d A	382,300 d B	399,999 d C
0.05	161,060 b B	191,148 b C	157,519 b A
0.1	93,838 a A	208,845 c B	229,006 c C
0.15	192,600 c C	61,945 a A	132,712 a B

**Keterangan :** Angka yang diikuti huruf kecil yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada uji BNT 5%, angka yang diikuti huruf besar yang sama pada baris yang sama tidak berbeda nyata pada uji BNT 5%.

Tabel 13 menunjukkan bahwa waktu perendaman memberikan pengaruh terhadap kerapatan stomata pada tingkat konsentrasi 0.05%. Pemberian kolkhisin dengan tingkat konsentrasi 0.05% - 0.15% pada lama perendaman 3 jam menyebabkan kerapatan stomata semakin kecil dibandingkan dengan tanaman kontrol. Pemberian kolkhisin dengan tingkat konsentrasi 0.05% - 0.15% pada lama perendaman 6 jam menyebabkan kerapatan stomata semakin kecil dibandingkan dengan tanaman kontrol. Begitu juga pemberian kolkhisin dengan tingkat konsentrasi 0.05% - 0.15% pada lama perendaman 9 jam menyebabkan kerapatan stomata menjadi kecil dibanding dengan tanaman kontrol.

Tingkat konsentrasi memberikan pengaruh terhadap kerapatan stomata pada lama perendaman. Pemberian kolkhisin dengan tingkat konsentrasi 0.05% pada lama perendaman 6 jam menyebabkan kerapatan stomata menjadi lebih

besar dibandingkan dengan tanaman pada tingkat konsentrasi 0.05% dan tingkat konsentrasi 0.15%. Pemberian kolkhisin dengan tingkat konsentrasi 0.1% pada lama perendaman 9 jam menyebabkan kerapatan stomata lebih besar dibandingkan dengan tanaman pada tingkat konsentrasi 0.05% dan tingkat konsentrasi 0.1%. Pemberian kolkhisin dengan tingkat konsentrasi 0.15% pada lama perendaman 3 jam menyebabkan kerapatan stomata lebih tinggi dibanding dengan lama perendaman 6 jam dan 9 jam.

#### **4.1.2.7 Pengaruh Kolkhisin Terhadap Warna Daun**

Berdasarkan hasil penelitian yang didapatkan, diketahui bahwa telah terjadi perubahan warna daun akibat dari pemberian kolkhisin dengan cara merendam plantlet pada berbagai konsentrasi dan lamanya waktu perendaman. Warna daun tanaman yang diberi perlakuan kolkhisin mempunyai warna yang lebih hijau dibanding tanaman kontrol. Visualisasi warna daun berdasarkan tingkat konsentrasi dan lama perendaman yang berbeda tersebut dapat dilihat pada tabel 14. Pengamatan dilakukan pada stadia yang sama yaitu 35 hst.



Tabel 14. Warna daun pada tingkat konsentrasi dan lama perendaman yang berbeda berdasarkan Royal Horticulture Society Colour Chart

Konsentrasi Kolkhisin (%)	Lama Perendaman (jam)		
	3	6	9
0	 <p>139C Moderate Yellowish Green</p>	 <p>139C Moderate Yellowish Green</p>	 <p>139C Moderate Yellowish Green</p>
0.05	 <p>142A Strong Yellowish Green</p>	 <p>137C Moderate Yellowish Green</p>	 <p>142A Strong Yellowish Green</p>
0.1	 <p>142B Brilliant Yellowish Green</p>	 <p>141C Strong Yellowish Green</p>	 <p>143C Strong Yellowish Green</p>
0.15	 <p>138A Moderate Yellowish Green</p>	 <p>143A Strong Yellowish Green</p>	 <p>141C Strong Yellowish Green</p>

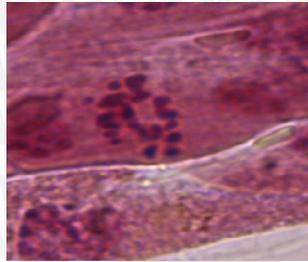
### 4.1.3 Pengaruh kolkhisin terhadap jumlah kromosom

Metode pemberian kolkhisin dengan merendam plantlet pada larutan tersebut memberi pengaruh nyata terhadap jumlah kromosom. Perubahan jumlah kromosom yang dihasilkan pada setiap kombinasi perlakuan tidak sama tergantung dari besarnya konsentrasi kolkhisin dan lamanya perendaman yang diberikan. Tidak ada suatu tolak ukur tertentu untuk mengetahui jumlah kromosom yang dihasilkan suatu tanaman yang termutasi kolkhisin dengan cara mengenali perubahan morfologi yang ditunjukkan tanaman, maka dari itu perlu dilakukan pengamatan mikroskopis untuk mengetahui perubahan jumlah kromosom yang terjadi. Pengamatan mikroskopis yang telah dilakukan, mendapatkan jumlah kromosom yang berbeda. Jumlah kromosom kontrol yaitu 38, sedangkan jumlah kromosom yang dihasilkan akibat pemberian kolkhisin yaitu 40, 42, 44, 46 dan 48. Berdasarkan hasil pengamatan, dapat diketahui bahwa kromosom tertinggi dihasilkan pada tingkat konsentrasi tertinggi yaitu 0.15% dan pada lama perendaman tertinggi yaitu 9 jam.

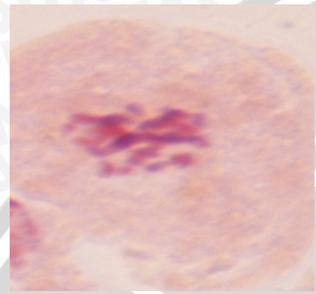
**Tabel 15. Jumlah kromosom pada beberapa tingkat konsentrasi dan lama perendaman yang berbeda**

Konsentrasi Kolkhisin (%)	Jumlah Kromosom pada Lama perendaman (jam)		
	3	6	9
0	38	38	38
0.05	40, 42	42	40, 42
0.1	42	42, 44	42, 44
0.15	44, 46	44, 46	46, 48

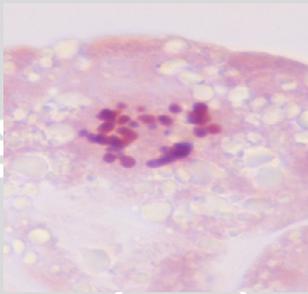
Selain jumlah kromosom, dapat dilihat pada gambar 3 bahwa perbedaan antara tanaman kontrol dan tanaman yang diberi perlakuan kolkhisin adalah pada susunan kromosom saat anafase. Kromosom pada tanaman kontrol akan menuju ke kutubnya masing-masing, sedangkan pada tanaman yang diberi perlakuan kolkhisin terlihat kromosom menduplikat dan tetap berserakan.



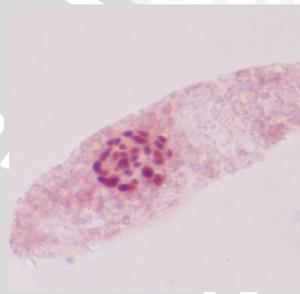
Kontrol = 38 kromosom



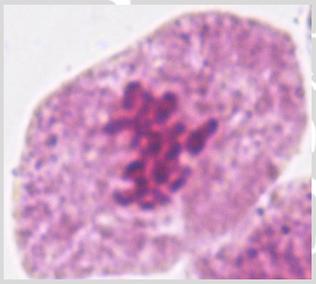
K1T1 = 40 kromosom



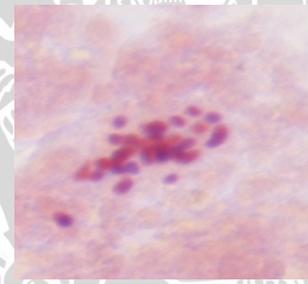
K1T2 = 42 kromosom



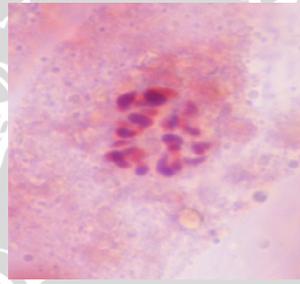
K1T3 = 44 kromosom



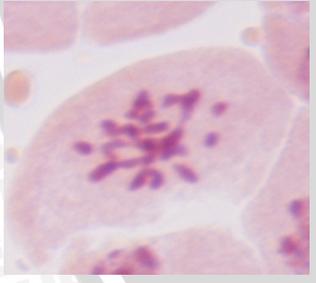
K2T1 = 44 kromosom



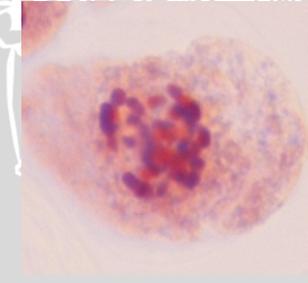
K2T2 = 44 kromosom



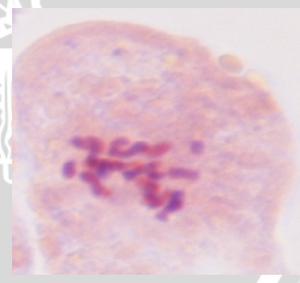
K2T3 = 46 kromosom



K3T1 = 46 kromosom



K3T2 = 48 kromosom



K3T3 = 48 kromosom

Gambar 3. Jumlah Kromosom *Dendrobium strebloceras* dengan (a) Kontrol; (b) K1T1= 0.05% + 3 jam; (c). K1T2= 0.05% + 6 jam; (d) 0.05% + 9 jam; (e) 0.1% + 3 jam; (f) 0.1% + 6 jam; (g) 0.1% + 9 jam; (h) 0.15% + 3 jam; (i) 0.15% + 6 jam; (j) 0.15% + 9 jam. Pengamatan pada perbesaran 10 x 100 kali.

## 4.2 PEMBAHASAN

### 4.2.1 Pengaruh Kolkhisin terhadap Karakteristik Morfologi Tanaman

Menurut Suryo (1995), karakteristik morfologi merupakan salah satu indikator untuk melihat keberhasilan poliploidisasi. Perubahan pada karakteristik morfologi tanaman dapat disebabkan adanya perubahan pada jumlah kromosom yang menyebabkan terjadinya perubahan pada gen-gen yang bertanggungjawab pada ekspresi fenotip tanaman. 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.

Avery dan Johnson (1947) menambahkan bahwa perubahan yang terjadi pada tanaman akibat pengaruh kolkhisin bervariasi. Sebagian tanaman mengalami mutasi pada hampir seluruh bagian tanaman mulai titik tumbuh sampai organ generatif, tetapi sebagian lainnya mengalami mutasi pada beberapa organ saja. Jumlah kromosom yang dihasilkan pada konsentrasi dan lama perendaman yang sama, terkadang berbeda jumlah kromosomnya. Dari kenyataan tersebut dapat disimpulkan bahwa kolkhisin yang diberikan pada setiap individu tanaman tidak mempengaruhi semua sel tanaman. Hal ini disebabkan kolkhisin hanya efektif pada sel yang sedang aktif membelah.

Dari variasi mutasi yang terjadi menunjukkan bahwa aktivitas pembelahan sel antar individu tidak sama. Pada individu tanaman yang memiliki lebih banyak sel yang sedang aktif membelah pada saat pemberian kolkhisin, akan mengakibatkan persentase sel termutasi lebih tinggi. Sebaliknya pada individu tanaman yang memiliki lebih sedikit sel yang sedang aktif membelah pada saat pemberian kolkhisin, akan mengakibatkan hanya beberapa sel yang termutasi.

Pemberian kolkhisin pada individu tanaman yang memiliki sel aktif membelah pada seluruh jaringan tanaman dapat mengakibatkan terjadinya penggandaan kromosom yang menyebabkan penambahan jumlah dan ukuran sel serta gen yang menyebabkan DNA meningkat yang diikuti penambahan RNA yang mengkode protein (enzim dan protein struktural) sehingga menyebabkan perubahan fenotip tanaman (Stansfield, 1991).

Perbedaan tingkat konsentrasi kolkhisin yang diberikan akan mengakibatkan perbedaan fenotip tanaman termutasi. Semakin tinggi konsentrasi kolkhisin, semakin besar persentase tanaman termutasi. Hal ini disebabkan pada konsentrasi relatif rendah, daya kerja kolkhisin mempengaruhi sel tanaman juga rendah sehingga hanya sedikit sel-sel yang mengalami mutasi. Pada tingkat konsentrasi yang lebih tinggi, daya kerja kolkhisin meningkat sehingga sel-sel lebih mudah mengalami mutasi. Hal ini berkaitan dengan daya kerja kolkhisin yang mempengaruhi sel-sel tanaman. Kepekaan sel tanaman terhadap tingkat konsentrasi kolkhisin juga dipengaruhi oleh genotip tanaman dan bagian tanaman yang diperlakukan. Salah satu indikasi terjadinya perubahan pada sel atau mengalami penggandaan kromosom ialah terhambatnya pertumbuhan tanaman pada waktu awal, kemudian mengalami pertumbuhan yang gigas (Suryo, 1995).

Soetopo (2009), menambahkan bahwa secara faktual, respons setiap jenis tanaman terhadap kolkhisin sangat bervariasi, begitu pula terhadap perbedaan konsentrasi dan waktu perendaman dalam larutan kolkhisin. Untuk biji yang cepat berkecambah, perendaman dilakukan pada konsentrasi larutan antara 0.5 – 1.0%. Sedangkan Crowder (1997) menyebutkan bahwa tanaman poliploid juga dapat diperoleh dengan perlakuan pasta atau larutan kolkhisin konsentrasi 0.5 – 1.0%. Waktu pemberian kolkhisin juga harus memperhatikan waktu pembelahan sel bahan tanam yang paling optimum, sehingga kolkhisin dapat bekerja lebih efektif. Pada penelitian ini ditemukan bahwa plantlet *Dendrobium strablocceras* mengalami mitosis terbanyak pada pukul 08.00 – 09.00 pagi, sehingga sebaiknya pemberian kolkhisin dilakukan pada rentang waktu tersebut.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian kolkhisin pada beberapa tingkat konsentrasi dan waktu perendaman memberikan pengaruh yang bervariasi pada beberapa karakteristik morfologi, meliputi jumlah daun, jumlah akar, berat tanaman, tinggi tanaman dan warna daun.

Pemberian kolkhisin 0.05% - 0.15% dan lama perendaman 3 – 9 jam memberikan pengaruh terhadap jumlah daun. Semakin tinggi tingkat konsentrasi kolkhisin dan lama perendaman, maka jumlah daun akan semakin sedikit. Poehlman dan Sleper (1995) menyatakan bahwa ukuran sel tanaman poliploid seringkali membesar, namun jumlahnya berkurang. Membesarnya ukuran sel

mengakibatkan efisiensi metabolisme tanaman menurun, sehingga pertumbuhannya terhambat dan waktu berbunganya melambat.

Pemberian kolkhisin 0.05% - 0.15% dan lama perendaman 3 – 9 jam memberikan pengaruh terhadap jumlah akar. Semakin tinggi tingkat konsentrasi kolkhisin dan lama perendaman, maka jumlah akar akan semakin sedikit. Menurut penelitian yang telah dilakukan Tresina (2008), berdasarkan hubungan keeratan antara parameter genetik dan morfologi, diketahui bahwa peningkatan jumlah kromosom akan meningkatkan waktu inisiasi akar. Peningkatan waktu inisiasi akar menyebabkan peningkatan waktu inisiasi anakan, sehingga menurunkan jumlah daun dan jumlah akar. Hal ini berkaitan dengan fungsi akar sebagai organ vegetatif utama yang memasok air, mineral dan bahan-bahan yang penting untuk pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Semakin banyak jumlah kromosom, maka semakin tinggi waktu inisiasi akar, semakin sedikit jumlah akar dan semakin rendah kerapatan stomata per satuan luas, semakin lama waktu inisiasi akar, maka semakin lama waktu inisiasi anakan dan semakin sedikit jumlah daun. Semakin semakin tinggi tanaman, maka semakin berat tanaman.

Pemberian kolkhisin 0.05% - 0.15% dan lama perendaman 3 – 9 jam memberikan pengaruh terhadap berat tanaman. Semakin lama waktu perendaman, maka berat tanaman akan semakin tinggi. Menurut Poespodarsono (1988), pengaruh poliploid antara lain : (a). Inti dan isi sel lebih besar ; (b). Daun dan bunga bertambah besar. Pertambahan ukuran ini ada batasnya, sehingga bila terjadi penambahan terus pada jumlah kromosom tidak menyebabkan penambahan secara berlanjut ; (c). Dapat terjadi perubahan senyawa kimia, termasuk peningkatan atau perubahan pada macam atau proporsi karbohidrat, protein, vitamin atau alkaloid.

Pemberian kolkhisin 0.05% - 0.15% dan lama perendaman 3 – 9 jam memberikan pengaruh terhadap tinggi tanaman, kenyataan ini disebabkan oleh tanaman yang telah termutasi mengalami perubahan jumlah kromosom menyebabkan terjadinya perubahan pada gen-gen yang bertanggung jawab pada ekspresi fenotip tanaman sehingga mengakibatkan pertambahan ukuran sel maupun perubahan jaringan dan organ yang dibentuknya. Hal ini dapat dilihat dari perubahan fenotip yang terjadi. Sumarji (2006), menyebutkan penggandaan

kromosom pada tanaman mengakibatkan terjadinya perubahan fenotip pada organ – organ tanaman dan pertumbuhan tanaman. Dengan metode pemberian kolkhisin ini memiliki peluang lebih besar untuk mengalami kontak dengan sel – sel meristematik dan mempengaruhi kromosom dalam sel. Selanjutnya sel – sel yang telah temutasi akan mengalami mitosis dan menghasilkan sel – sel anak yang sama dengan jumlah kromosom yang telah mengganda. Kumpulan sel dengan kromosom yang telah mengganda mengakibatkan perubahan fenotip.

Dapat diketahui dari penelitian ini bahwa pemberian kolkhisin pada tingkat konsentrasi 0.05% - 0.15% dan waktu perendaman 3 – 9 jam, menyebabkan tinggi dan berat tanaman meningkat jika dibandingkan dengan kontrol, akan tetapi menurunkan jumlah daun, jumlah akar, jumlah stomata dan kerapatan stomata. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian Mishra (1997) pada kopi, Beck dkk. (2002) pada *Acacia mearnsii* (de Wild), Gao dkk. (2002) pada *Scutellaria baicalensis* dan Thao dkk. (2003) pada *Alocasia* yang menunjukkan korelasi positif antara tingkat poliploidi dan kerapatan stomata. Kerapatan stomata tanaman poliploid lebih rendah dibandingkan dengan tanaman diploid.

Ekspresi tanaman termutasi menunjukkan perubahan fenotip berupa tinggi tanaman yang semakin tinggi. Keadaan ini disebabkan karena pengaruh kolkhisin akan semakin kuat jika konsentrasi yang diberikan semakin tinggi, sehingga besar peluang kolkhisin untuk menghambat pembelahan sel dan akibatnya jumlah sel yang membentuk jaringan tidak bertambah dan ini akan berpengaruh terhadap organ yang dibentuknya. Kolkhisin yang diberikan pada konsentrasi rendah (0.05% dan 0.1%) memungkinkan pengaruhnya cepat hilang sehingga sel akan kembali membelah secara normal dengan substansi jumlah kromosom yang baru.

Berdasarkan hasil penelitian dapat dilihat bahwa tingkat konsentrasi lebih berpengaruh terhadap penambahan jumlah kromosom yang berakibat pada perubahan morfologi tanaman daripada lamanya perendaman. Hal ini dikarenakan adanya kapasitas maksimal tanaman dalam menampung volume larutan yang masuk ke dalamnya, sehingga apabila daya tampung tanaman sudah maksimal dan sudah terpenuhi, maka lama perendaman 3, 6 dan 9 jam pengaruhnya tidak jauh berbeda. Daya tampung anggrek *Dendrobium strebloceras* pada lama

perendaman 3, 6 dan 9 jam memberikan pengaruh yang tidak jauh berbeda, sehingga perlu ditambahkan waktu lama perendaman untuk mendapatkan tanaman poliploid.

Suryo (1995) menyebutkan bahwa pengaruh perlakuan kolkhisin pada tanaman sampai dosis tertentu dapat menyebabkan penambahan ukuran tanaman, namun peningkatan sampai dosis yang melebihi kemampuan sel beradaptasi dengan agen penghambat mitosis sel ini dapat berdampak negatif terhadap pertumbuhan sel, sehingga menyebabkan tinggi tanaman mengalami penurunan. Sebagaimana terlihat pada hasil penelitian Mihu (1989) pada tanaman kubis (*Brassica oleraceae*) menunjukkan bahwa persentase tanaman yang mengalami perubahan fenotip meliputi berkurangnya tinggi tanaman dan menebalnya daun lebih tinggi dengan pemberian kolkhisin pada taraf konsentrasi 0.2% dibanding konsentrasi yang lebih rendah. Hartati (2000) pada tanaman *Hibiscus sp.* menunjukkan penggunaan kolkhisin menyebabkan terjadinya penyimpangan fase pertumbuhan vegetatif dengan menurunnya tinggi tanaman. Honkanen et al. (1992), dalam penelitiannya menggunakan tanaman gerbera yang ternyata penggunaan kolkhisin pada konsentrasi 0.03% dan 0.1% tanaman tumbuh normal, sedangkan pada konsentrasi 0.3% tanaman mengalami pertumbuhan terhambat, pada percobaan lain juga menunjukkan adanya pertumbuhan yang terhambat pada kecambah akibat pemberian kolkhisin pada konsentrasi yang kuat. Pada penelitian Wang et al (1992), pada benih kapas (*Gossypium sp.*) yang menunjukkan adanya penurunan daya hidup kecambah sangat rendah dan kecambah menunjukkan pertumbuhan terhambat.

Secara visual, warna daun tanaman yang mengalami penggandaan kromosom akibat perlakuan kolkhisin mempunyai daun yang berwarna lebih gelap. Hal ini disebabkan kandungan klorofil yang ada di daun tanaman termutasi cenderung tinggi dibandingkan dengan kontrol. Penambahan kandungan klorofil disebabkan oleh pertambahan jumlah kloroplas di dalam klorofil. Kloroplas berasal dari proplastid, yang membelah pada saat embrio berkembang dan berkembang menjadi kloroplas ketika daun dan batang terbentuk sehingga pada daun tanaman yang mengalami penggandaan kromosom terdapat beratus-ratus kloroplas baru. Di dalam kloroplas terdapat bahan lirlgel dan kaya enzim yang

disebut stroma, yang mengandung berbagai enzim yang mengubah CO<sub>2</sub> menjadi karbohidrat khususnya pati, serta terdapat tilakoid yang mengandung pigmen klorofil hijau, yaitu klorofil a dan b yang menyebabkan warna daun lebih hijau (Salisbury dan Ross, 1992). Hasil penelitian ini juga sesuai dengan pernyataan Singait dan Ozias (1992) bahwa jumlah kloroplas dalam sel penjaga tanaman kacang tanah berkorelasi positif dengan level ploidinya.

Pemberian kolkhisin pada tingkat konsentrasi 0.05% - 0.15% dan lama perendaman 3 – 9 jam menyebabkan perubahan morfologi yaitu ketebalan daun. Dari hasil pengamatan diperoleh bahwa tanaman pada konsentrasi yang lebih tinggi dan pada lama perendaman yang lebih lama menyebabkan ketebalan daun semakin besar. Sesuai dengan penelitian Hartati (1999), yang menyatakan bahwa semakin tebal ukuran daun, maka kandungan klorofil pada daun akan semakin besar. Dengan demikian, tanaman yang mengalami penggandaan kromosom, jumlah sel daunnya akan lebih banyak karena lebih tebal, sehingga jumlah klorofil dalam daun juga lebih tinggi. Dengan semakin tingginya jumlah klorofil, maka laju fotosintesis juga semakin tinggi, sehingga tanaman lebih banyak menghasilkan fotosintat.

Menurut Poepodarsono (1988), tanaman poliploid memiliki masa berbunga yang lebih lambat dibandingkan dengan tanaman diploid, selain itu tanaman yang mengalami poliploid ganjil seperti triploid dan pentaploid hampir seluruhnya steril. Penyebab utama sterilitas pada tanaman triploid adalah karena segregasi kromosom selama meiosis tidak teratur sehingga terbentuk bivalen, univalen atau trivalen (Suryo, 1995). Akibatnya gamet-gamet yang dihasilkan sering memiliki genom yang tidak lengkap. Bila gamet-gamet bertemu dalam proses zygote, genom yang tidak lengkap mengakibatkan informasi genetik yang dibawa juga tidak lengkap, sehingga biji yang dihasilkan tidak viabel atau bahkan tidak dapat menghasilkan biji. Untuk dapat menghasilkan gamet dengan genom yang lengkap sangat kecil peluangnya. Tambong (1998) menambahkan bahwa pembelahan sel-sel termutasi lebih lambat dibanding sel pada tanaman normal, sehingga memperpanjang rata-rata umur vegetatif tanaman. Lambatnya pembelahan sel ini disebabkan penambahan jumlah kromosom yang berdampak pada berkurangnya tekanan osmotik dalam sel.

#### 4.2.2 Pengaruh Kolkhisin terhadap Karakteristik Anatomi Tanaman

Pemberian kolkhisin 0.05% - 0.15% dan lama perendaman 3 – 9 jam memberikan pengaruh terhadap karakteristik anatomi yaitu jumlah stomata dan kerapatan stomata. Pemberian kolkhisin pada konsentrasi yang tinggi dan waktu perendaman yang lama menyebabkan jumlah stomata semakin sedikit. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Lu dan Bridgen (1997) pada tanaman *Alstroemeria* sp. tetraploid hasil perlakuan dengan kolkhisin yang mempunyai jumlah stomata yang lebih sedikit dibandingkan dengan tanaman kontrol, akan tetapi mempunyai ukuran yang lebih besar dibandingkan dengan tanaman kontrol. Karena jumlah stomata yang sedikit, maka kerapatan stomata semakin rendah. Ukuran stomata pada tanaman kontrol dan tanaman yang diberi perlakuan dengan kolkhisin tidak berbeda. Hal ini berarti konsentrasi kolkhisin dan lama perendaman tidak berpengaruh terhadap ukuran stomata. Sampai saat ini belum diketahui penyebab tidak berubahnya ukuran stomata setelah diberi perlakuan kolkhisin, kemungkinan karena pada saat pemberian kolkhisin, hanya ukuran inti sel saja yang menjadi besar, akan tetapi ukuran sitoplasma tetap atau tidak menjadi besar, sehingga ukuran stomata juga tidak berubah.

Dari hasil pengamatan yang didapat (tabel 20), menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi kolkhisin dan semakin lama perendaman, maka dinding sel akan terlihat semakin jelas. Berbeda dengan tanaman kontrol, dinding sel belum begitu jelas terlihat. Sampai saat ini belum diketahui penyebab semakin jelasnya dinding sel akibat semakin tinggi konsentrasi kolkhisin dan lama perendaman, kemungkinan karena kolkhisin mengubah substansi sel sehingga dapat memperjelas dinding sel.

#### 4.2.3 Pengaruh Kolkhisin terhadap Karakteristik Genetik

Variasi genetik pada tanaman dapat dilihat dari jumlah kromosom akibat mutasi maupun poliploidisasi. Adanya perubahan jumlah kromosom menyebabkan variasi/keragaman tanaman (Mangoendidjojo, 2003). Dalam penelitian ini didapatkan jumlah kromosom yang berbeda pada konsentrasi kolkhisin dan lama perendaman yang berbeda. Kinerja kolkhisin dalam menghasilkan penggandaan kromosom yaitu dengan mencegah terbentuknya benang – benang plasma dari gelendong inti, karena tidak terbentuk benang – benang plasma maka sel tidak

jadi membelah dan kromosom – kromosom yang memisahkan diri dari sentromernya tetap berserakan dalam sel, sehingga menyebabkan penggandaan kromosom.

Dari hasil pengamatan jumlah kromosom diketahui bahwa jumlah kromosom pada tanaman kontrol sebanyak 38 pasang kromosom, sedangkan jumlah kromosom pada tanaman termutasi sebanyak 40, 42, 44, 46 dan 48 (tabel 15), jika diperhatikan penggandaan kromosom tersebut semakin banyak seiring dengan peningkatan konsentrasi kolkhisin dan lama perendaman. Semakin tinggi konsentrasi kolkhisin maka semakin kuat pula daya kerja kolkhisin dalam mencegah pembentukan benang – benang plasma pada inti sehingga pembelahan mitosis tidak terjadi dan sebagai akibatnya kromosom yang telah terpisah dari sentromernya dan yang akan membentuk sel anakan baru gagal terjadi sehingga kromosom tersebut tetap berada pada sel tersebut. Hal ini sesuai dengan pernyataan Saisingtong (1996) bahwa pemberian kolkhisin pada tiap – tiap jaringan meristematik dengan konsentrasi tinggi menyebabkan penggandaan kromosom meningkat. Hasil penelitian Tuyl *et al* (1990) menunjukkan bahwa pemberian kolkhisin pada konsentrasi rendah (0.001 – 0.01%) pada hybrid hasil persilangan antara *Lilium henrye* x *L.candidum* ternyata kurang efektif dalam proses penggandaan kromosom. Demikian pula Zhu dan Li (1993) berhasil memperoleh tanaman berbiji setelah menggandakan kromosom hasil persilangan *Gossypium orbereum* x *Gossypium bickii* dengan menggunakan larutan kolkhisin 0.2% ditambah 5% methyl Sulfoxide. Hampir semua konsentrasi kolkhisin dapat digunakan untuk menggandakan kromosom, akan tetapi konsentrasi 0.15% - 0.2% pengaruhnya besar.

Kolkhisin dapat mengubah jumlah kromosom dalam sel. Hal ini tampak pada perubahan jumlah kromosom yang amat banyak pada tanaman yang mendapat perlakuan waktu perendaman dengan konsentrasi kolkhisin dibandingkan dengan jumlah kromosom pada tanaman kontrol ( $2n = 38$ ). Pemberian kolkhisin pada tanaman memperlihatkan pengaruhnya pada nukleus yang sedang membelah (Suryo, 1995). Proses mitosis mengalami modifikasi dimana tidak terbentuk benang spindel, sehingga kromosom-kromosom tetap tinggal berserakan dalam sitoplasma. Pada stadium ini kromosom-kromosom

memperlihatkan gambaran seperti tanda silang. Akan tetapi kromosom-kromosom dapat memisahkan diri pada sentromernya dan dimulailah anafase. Selanjutnya terbentuklah dinding nukleus sehingga nukleus restitusi (nukleus perbaikan) mengandung jumlah kromosom lipat dua. Apabila pengaruh dari kolkhisin telah menghambur, sel poliploid yang baru ini dapat membentuk spindle pada kedua kutubnya, dan membentuk nukleus anakan poliploid seperti pada telofase dari mitosis biasanya (Suryo, 1995). Tanaman anggrek normal yang diberi kolkhisin akan tumbuh lebih besar. Berlipat gandanya gen dalam tanaman anggrek akan menyebabkan ekspresi atau penampakan yang muncul juga menjadi lebih banyak, termasuk ukuran dan ketebalan bunga anggrek, sependapat dengan Addink (2002) yang menyatakan kolkhisin dapat digunakan untuk penggandaan jumlah kromosom atau poliploidisasi.

Pada penelitian ini, pemberian kolkhisin pada tingkat konsentrasi 0.05% - 0.15% dan waktu perendaman 3 jam - 9 jam telah menyebabkan penambahan jumlah kromosom, yaitu sebanyak 40 - 48 pasang kromosom, namun tidak ditemui adanya jumlah kromosom yang memiliki kelipatan dua ( $2n = 4x$ ) dibandingkan kontrol ( $2x = 38$ ). Hal ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor, antara lain : pemberian konsentrasi kolkhisin yang terlalu rendah dan waktu perendaman yang kurang lama, sehingga jumlah sel tanaman yang membelah sedikit, serta waktu pemberian kolkhisin yang kurang tepat. Faktor lain yang mengakibatkan belum ditemui adanya jumlah kromosom yang memiliki kelipatan dua adalah jumlah kromosom anggrek yang banyak ( $2x = 38$ ). Poespodarsono (1988) menyatakan bahwa salah satu syarat tanaman dalam penggunaan poliploid adalah mempunyai jumlah kromosom yang rendah, sehingga setelah penggandaan kromosom tidak melampaui optimum.

Hal ini juga dapat disebabkan karena pengaruh kolkhisin pada konsentrasi tersebut lemah, sehingga daya kerja kolkhisin mempengaruhi sel tanaman juga rendah, sehingga hanya sedikit sel-sel yang mengalami penggandaan kromosom . Perendaman tunas dari *Cymbidium coningsbyanum* 'Brockhurst' dalam larutan colchisines dua kali dengan interval 10 hari dilaporkan dapat menghasilkan tetraploid (Pierik, 1987). Teknik serupa juga telah berhasil diaplikasikan pada *Dendrobium* dan juga *Vanda* (Yadav and Bose, 1989). Metode penetasan

berulang-ulang selama satu minggu dengan pemberian tiga kali sehari yang telah dilakukan Hartati (1999) ternyata mengakibatkan perubahan atau mutasi pada tanaman yang lebih besar dibanding dengan perendaman ujung kecambah dengan larutan kolkhisin selama 1½ jam. Hasil penelitian Sun, Cheng dan Liang (1994) menunjukkan bahwa perlakuan kolkhisin pada kecambah *Sorghum versicolor* pada tingkat konsentrasi 0.01% dengan perendaman selama 5 hari berhasil menginduksi tanaman tetraploid sebesar 6,6%. Pada penelitian yang dilakukan Taira *et al.* (1991), ternyata metode perendaman dengan larutan kolkhisin akan efektif bila dilakukan pada tingkat pH yang tepat yaitu antara 3,5 – 7,5 yang dilakukan pada *growth chamber* dengan suhu siang 19°C dan fotoperiode 18 jam. Pada penelitian Taira tersebut, tanaman yang diteliti adalah hibrida hasil persilangan antara *Triticum durum* x *Secale montanum* dengan merendam ujung akar dalam larutan kolkhisin 0,06%. Hasilnya ternyata dapat meningkatkan fertilitas hybrid sebesar 77,7%. Dengan demikian, metode perendaman yang dilakukan pada penelitian ini akan lebih besar pengaruhnya terhadap sel-sel tanaman bila pH larutan kolkhisin disesuaikan.

Jumlah kromosom yang dapat diamati, mungkin saja memang berjumlah 40 – 48 pasang kromosom, tetapi dapat pula lebih atau kurang dari jumlah tersebut. Hal ini disebabkan pada saat pengamatan, posisi kromosom ada yang bertumpukan sehingga menyulitkan dalam penghitungan. Jaskani dkk. (2007) menerangkan bahwa pewarnaan tradisional menggunakan acetocarmin, acetoorcein atau larutan feulgen menampakkan bentuk kromosom yang kurang informatif dilihat dengan mikroskop optik yang umum digunakan. Hal ini disebabkan oleh ukuran kromosom mitotik yang sangat kecil (1.0 – 4.0µm) dan kebanyakan bentuk morfologi kromosomnya serupa. Ukuran kromosom anggrek *Dendrobium strebloceras* ±2 µm<sup>1</sup>. Penghitungan jumlah kromosom dapat juga dilakukan dengan teknik Flow cytometry yaitu teknik untuk menghitung dan meneliti partikel – paartikel mikroskopik, seperti sel – sel dan kromosom dengan menanggukkan dalam aliran cairan dan melewati dengan suatu alat deteksi elektronik (Anonimous, 2010).

Permasalahan lain yang dihadapi dalam pengamatan kromosom jenis anggrek ini ialah sulitnya mencari ujung akar meristem anggrek yang baik dan

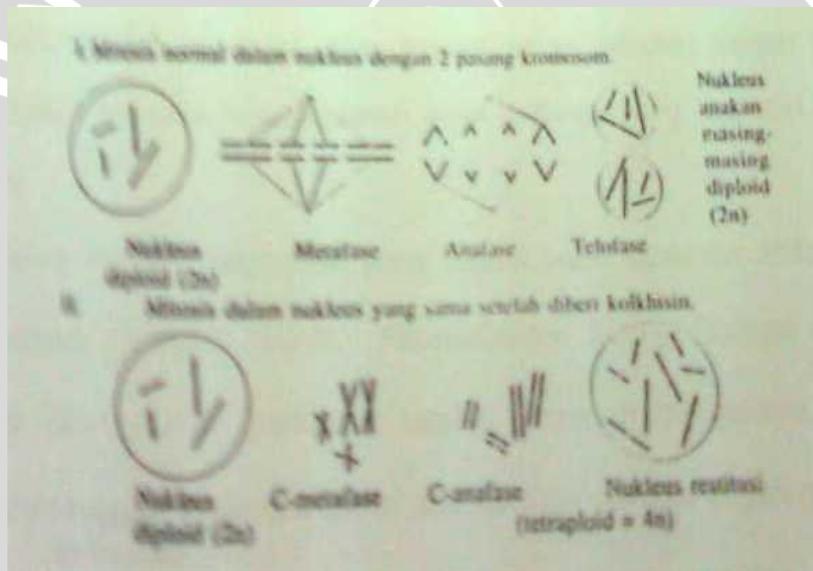
jumlah akar yang terbatas serta kondisi akar *Dendrobium strebloceras* yang memiliki lapisan dinding sel tebal sehingga masih harus mencari metode yang lebih baik terutama untuk proses pewarnaan serta penggunaan jenis pewarna, sehingga pengamatan kromosom dilakukan pada meristem apikal daun. Sebagaimana yang disampaikan Arditti (1992) bahwa bagian akar *Dendrobium strebloceras* yang sudah tua memiliki velamen sebanyak 7 atau 8 lapis, dinding eksodermis arah tangensial bagian luar dan arah radial tebal. Bagian akar *Dendrobium strebloceras* yang masih sangat muda belum memiliki velamen sebanyak 7 atau 8 lapis, sehingga disarankan untuk menggunakan akar yang masih muda.

Bila diasumsikan, pemberian kolkhisin tingkat konsentrasi 0.05% - 0.15% dan waktu perendaman 3 – 9 jam, menyebabkan penambahan jumlah kromosom menjadi 40 – 48 (aneuploid), maka dapat dikatakan bahwa penggandaan kromosom hanya terjadi pada sebagian kromosom atau hanya pada suatu bagian atau segmen dari jaringan meristem. Suryo (1995) menerangkan bahwa aneuploid terjadi karena kromosom-kromosom gagal memisah pada saat mitosis atau meiosis dan hilangnya kromosom pada saat mitosis disebabkan oleh terlambat datangnya kromosom yang ditandai oleh Bergeraknya kromosom pada anafase. Hal ini menyebabkan distribusi kromosom ke kutub-kutub sel yang berlawanan tidak sama.

Selain jumlah kromosom, terdapat perbedaan pada proses pembelahan mitosis antara tanaman kontrol dan tanaman yang telah diberi perlakuan kolkhisin. Pada gambar 3 dapat dilihat bahwa sentromer pada tanaman kontrol akan menuju kutubnya masing-masing, berbeda dengan tanaman yang diberi perlakuan kolkhisin, tetap menggerombol tanpa adanya pemisahan menuju kutubnya masing-masing.

Sifat racun kolkhisin berpengaruh pada saat inti sedang membelah dengan mencegah terbentuknya spindle pada gelendong inti, sehingga pada tahap anafase tidak terjadi pemisahan kromosom dan menyebabkan penggandaan kromosom tanpa pembelahan dinding sel (Crowder, 1997), sebagaimana terlihat pada gambar 4.

Proses mitosis mengalami modifikasi yang disebut C-mitosis. Pada proses ini tidak terbentuk spindle sehingga kromosom tetap tinggal berhamburan dalam sitoplasma yang memberikan gambar yang khas, yaitu seperti tanda silang. Kromosom-kromosom ini dapat memisahkan diri pada sentromernya dan mulai memasuki tahap C-anafase (Gambar 4). Kemudian terbentuk dinding inti sel, sehingga inti sel “restitusi” (inti sel perbaikan) mengandung jumlah kromosom lipat dua. Apabila pengaruh dari kolkhisin telah menyebar, sel poliploidi yang baru dapat membentuk spindle pada kedua kutubnya, sehingga terbentuk sel anakan poliploidi seperti pada tahap telofase dari biasanya. Namun, jika konsentrasi yang kritis dibiarkan terus berlanjut, maka penambahan genom akan mengikuti suatu deret ukur seperti  $4x$ ,  $8x$ ,  $16x$  dan seterusnya (Suryo, 1995)



**Gambar 4. Skema Mitosis Normal Dibandingkan dengan Mitosis dalam Nukleus yang Diperlakukan dengan Kolkhisin (C-Mitosis)**

(Crowder, 1997)

Berbeda dengan Sumarji (2006) yang menyatakan bahwa pengaruh kolkhisin terhadap tanaman tidak selalu mengakibatkan penambahan genom mengikuti suatu deret ukur seperti  $4x$ ,  $8x$ ,  $16x$  dan seterusnya. Kenyataan ini dibuktikan dengan hasil penelitiannya yang menunjukkan perlakuan kolkhisin menyebabkan terjadinya penggandaan kromosom pada semangka 26, 30, 38, 40 dan 44. Disamping itu, kolkhisin juga menyebabkan keragaman fenotip, fisiologi

dan produksi antar individu yang memiliki jumlah kromosom berbeda, tetapi memiliki keseragaman antar individu yang memiliki kromosom yang sama.



## V. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

1. Interaksi antara konsentrasi dan lama perendaman berpengaruh nyata terhadap peubah jumlah daun, jumlah akar, jumlah stomata dan kerapatan stomata, tetapi tidak berpengaruh nyata terhadap peubah berat dan tinggi tanaman.
2. Terdapat perubahan morfologi *Dendrobium strebloceras* meliputi jumlah daun, jumlah akar, berat tanaman, tinggi tanaman dan warna daun, serta perubahan anatomi yang meliputi jumlah stomata dan kerapatan stomata akibat adanya interaksi antara tingkat konsentrasi dan waktu perendaman kolkhisin.
3. Semakin tinggi konsentrasi kolkhisin dan semakin lama waktu perendaman, maka semakin banyak jumlah kromosom yang mengganda.
4. Pemberian kolkhisin sampai dengan tingkat konsentrasi 0.15% dan waktu perendaman 9 jam belum mampu menghasilkan *Dendrobium strebloceras* tetraploid.

### 5.2 Saran

1. Konsentrasi dan lama perendaman anggrek *Dendrobium strebloceras* dalam larutan kolkhisin masih dapat ditingkatkan lagi.
2. Pengamatan sebaiknya dilakukan sampai fase generatif untuk mengetahui pengaruh kolkhisin terhadap kuantitas dan kualitas bunga *Dendrobium strebloceras*. Lama waktu penelitian sampai tanaman anggrek berbunga diperkirakan sekitar  $\pm 2 - 3$  tahun.

## DAFTAR PUSTAKA

- Addink, W. 2002. *Colchicine Used in Plant Breeding Work to Induce Mutations (Polyploidy)*. <http://biotech.icmb.utexas.edu/botany/calch.html>. Diakses pada 16 Januari 2010 pukul 13.00.
- Anonimous. 2006. Poliploidi. Available at: <http://id.wikipedia.org/wiki/poliploidi>. Diakses pada 1 Februari 2010 pukul 14.00.
- Anonimous. 2010. Flowcytometri. Available at: <http://id.wikipedia.org/wiki/Flowcytometri>. Diakses pada 9 Desember 2010 pukul 14.00.
- Arditti. 1992. *Fundamentals of Orchid Biology*. Canada.
- Avery, J. and E. B. Johson. 1947. *Hormone and Horticulture*. Mc Graw-Hill-Boo Co. inc. Mewyork. London.
- Beck, S. L. , R.W Dumlop dan A. Fossey.2003. Stomatal Length and Frequency as a measure of ploidy level in black wattle. *Acacia mearnsii* (de Wild). *Botanical Journal of the Linnean Society* (141) : 177 – 181. London.
- Brewbaker, J.L. 1983. *Genetika Pertanian (Alih Bahasa Imam Santoso)*. Universitas of Hawai.Kanisius Yogyakarta.
- Crowder, L.V. 1997. *Genetika Tumbuhan*. Diterjemahkan oleh Lilik Kusdiarti, penyunting Sutarso. Cetakan ke-5. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. pp. 491
- Darmono. 2003. *Menghasilkan Anggrek Silangan*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Dermen, H. 1945. Cholchisin polyploidy and technique. *The Botanic Review*. New York. v.6, f.599-635
- Eigsty, O.J dan P.Dusti. 1957. *Cholcisine and Agricultural, Medicine, Biology and Chemenistry*. Lowa State Coll. Pres. Ames. Lowa.
- Gao, S.L. , B.J. Chen dan D. N. Zhu. 2002. In Vitro Production and Identification of Autotetraploids of *Scutellaria baicalensis*. *Plant Cell, Tissue ang Organ Culture* (70) : 289 – 293.
- Gottschalk. 1983. *Induced Mutation in Plant Breeding*. Springer. Velag. Berlin
- Gunawan, L.W. 2000. *Budidaya Anggrek*. Penebar Swadaya. Jakarta 88 hal.
- Hartati, RR. S. 2000. *Penggunaan Kolkhisin Dalam Penggandaan Kromosom Hasil Hibridisasi Interspesifik pada Hibiscus sp. Untuk Mengatasi Sterilitas F1*. Tesis. Universitas Brawijaya. Malang. Tidak Dipublikasikan.

- Hendaryono, D.P.S. 2000. Pembibitan Anggrek dalam Botol. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.
- Honkanen, J. , A. Aapola, P. Seppanen, T. Tormala, J. C Wit, H.F. Esendam, L.J.M Stravers dan J.C. De-Wit. 1992. Production of Doubled Haploid Gerbera Clones. Acta Horticulturae 300-346.
- Husni, A., D. Sukmadjaja dan I. Mariska. 1995. Variasi somaklonal tanaman panili dengan mutagen kimia colchisines secara *in vitro*. Prosiding Evaluasi dan Hasil Penelitian Tanaman Industri. Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri. Bogor. p.8-16.
- Jauhariana, A.Y. 1995. Pengaruh Pemberian Kolkisin Terhadap Perubahan Jumlah Kromosom, Struktur Kromosom Daun dan Gula pada *Stevia rebaudiana* Bertoni M. Prosiding Jurnal.
- Jaskani, M.J. , M Omura dan I.A. Khan. 2007. Cytogenetics Citrus : Genetics Breeding and Biotechnology. Iqrar A. Khan (editor). CAB International.USA.p.151 - 165.
- Kalie. 1993. Bertanam semangka. Penerbit Swadaya. Jakarta.
- Kosmiatin dan Mariska. 2005. Kultur Embrio dan Penggandaan Kromosom Hasil Persilangan Kacang Hijau dan Kacang Hitam. Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian Bogor.Prosiding Jurnal.
- Lu, C, and M.P. Bridgen.1997. Chromosome doubling and Fertility study of *Alstroemeria aurea* x *A. caryophyllaea*. Euphytica 94 : 75-81.
- Mangoendidjodjo, W. 2003. Dasar-dasar Pemuliaan Tanaman. Penerbit Kanisius. Jogjakarta.pp. 182.
- Mihu, G. , N. Munteanu dan V. Tirnofte. 1989. Aspect of Some Phenotypic Changes Induced by Colchine in Cabbage. Cercetari Agronomice in Moldova 22(4): 86 – 93.
- Miranda, F. 2008. Koleksi Anggrek *Sophronitis coccinea*. Miranda Orchids.
- Mishra, M. K. 1997. Stomatal Characteristics at Different ploidy levels in *Coffea* L. Annals of Botany (80) 689 – 692.
- Murdaningsih Haeruman K., Warid Ali Qosim, Wahyu Hadayati dan Darliah. 1999. Laporan hasil penelitian Pengaruh Kombinasi Auksin dan Sitokinin terhadap Multiplikasi *in vitro* Satu Kultivar Lili. Lembaga Penelitian Universitas Padjajajan dan Badan Peneltian dan Pengembangan Pertanian

Bagian Proyek Pengkajian Teknologi Pertanian Partisipatif Pusat. Tidak dipublikasikan.

Narsikin W. 2002. *Lama Perendaman dan Konsentrasi Kolkhisin pada Poliploidisasi Bawang Putih*. (Skripsi Fakultas Pertanian Universitas Pembangunan Nasional “Veteran” Yogyakarta). Tidak Dipublikasikan.

Nasir, M. 2001. *Bioteknologi Molekuler. Teknik Rekayasa Genetik Tanaman*. PT. Citra Aditya Bakti, Bandung.

Nurmalinda, Evi Savitri Iriani, Anggraeni Santi dan Titi Haryati. 1999. *Laporan Penelitian Kelayakan financial teknologi budidaya anggrek*. Balai Penelitian Tanaman Hias Cianjur.

Pierik, R. L. M. 1987. *In Vitro Culture of Higher Plants*. Martinus Nijhoff Publishers. Dordrecht.

Poehlman, J.W. and J.S. Quick. 1983. *Crop Breeding In Hungry World*. Madison Wisconsin, USA

Poespodarsono, S. 1988. *Dasar-Dasar Ilmu Pemuliaan Tanaman*. Pusat Antar Universitas. IPB-Bogor

Rawal and M.N. Wood (Eds.). 1990. *Crop Breeding*. The American Society of Agronomy, Inc. and The Crop Science of Society, Inc. Madison Wisconsin, USA

Saisingtong, S. and J.E Schmid. 1996. *Colchicine Mediated Chromosom Doubling During Anther Culture of Watermelon*. *Theoretical and Applied Genetic*. 92(8) : 1017 – 1023.

Salisbury, F.B dan C.W. Ross. 1992. *Plant Physiology*. Edisi ke - 4 Wadsworth Publishing Co.

Sandra. 2003. *Kultur Jaringan Anggrek Skala Rumah Tangga*. Agromedia Pustaka. Tangerang. p.56-59.

Sessler, G.J. 1978. *Orchid and How to Grow Them*. Prentice\_Hall Inc. N.J. pp370.

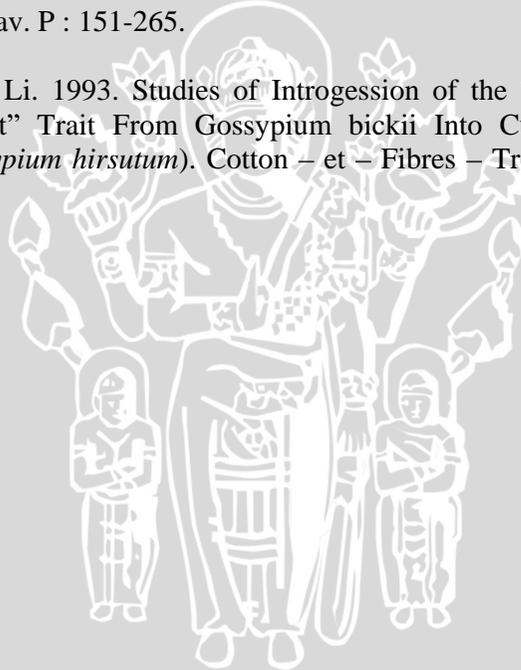
Singsit, C. and A.P. Ozias. 1992. *Rapid estimation of ploidy levels in in-vitro regenerated interspecific *Arachis hybrid* and fertile triploid*. *Euphytica* 93:257-262.

Soeryowinoto, Moesoe. 1987. *Mengenal Anggrek Alam Indonesia*. Penebar Swadaya. Jakarta.

Soetopo, L. 2009. *Pemuliaan Tanaman Anggrek*. Asrori. Malang.

- Stansfield. 1991. Genetika, Edisi Kedua. Erlangga, Jakarta.
- Stock, A.D. 2005. Breeding for tetraploid Red Phalaenopsis. CAB International. USA.
- Sumarji. 1996. Pengaruh Konsentrasi Kolkhisin Terhadap Peningkatan Ploidi pada Tanaman Semangka (*Citrullus vulgaris* Schard) Varietas Green Baby. Proseding Simposium Peripi IV UPN Veteran Surabaya.
- Sun, Y., Cheng, SQ & Liang, G.H. (1994) Induction of autotetraploid plants of *Sorghum versicolor*. *Cytologia* 59 (1), 109 – 114
- Sunadi. 1979. Anggrek dari bibit bunga. PAI (Perhimpunan Anggrek Indonesia. Bandung
- Suryo. 1995. Sitogenetika. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Taira, T., Shao, Z.Z., Hamawaki, H., & Larter, E.N. (1991) The effect of colchicine as a chromosome doubling agent for wheat-rye hybrids as influenced by pH, method of application, and post treatment environment. *Plant Breeding*. 106(4), 329-333.
- Tambong, J.T. , V.T Sapra dan S. Gartun. 1998. In Vitro Introduction of Tetraploid in Colchisine-Treated Watermelon Plantles. *Euphytical*(104): 191-197.
- Tanaka, R dan Kamemoto. 1980. Chromosome in orchids : counting and number. CAB International. USA. 66-68.
- Thao, N.T.P. , K. Ureshino, I. Miyajima, Y. Ozaki dan H. Okubo. 2003. Introduction of Tetraploids in Ornamental Alocasia trough Colchisine and Oryzalin Treatment. *Plant, Cell Tissue and Organ* (72) : 19 – 25.
- Tjitrosoepomo, G. 1989. Taksonomi tumbuhan Spermatophyta. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Tresina. 2008. Tesis. Pengaruh Tingkat Konsentrasi dan Waktu Perendaman Kolkhisin Terhadap Morfologi dan Genetik Anggrek Hitam (*Coelogyne pandurata*). Universitas Brawijaya. Malang.
- Tuyl, J.M. van, B. Meijer and M. P. Dien Van. 1990. The Use of Oryzalin as an Alternative for Colchisine in In-Vitro Chromosome Doubling of Lilium. *Lily Yearbook of the Morth American Lily Soc.* 43: 19-22.
- Urwin, N., J. Horsnell dan T.Moon. 2007. Generation and characterisation of colchisin-induced autotetraploid *Lavandula angustifolia*. *Euphytica* 156(1-2). p. 257-266.

- Wang, Z. N. , Xu, F. H and Xu, S. Z. 1992. The Chromosome Doubling Technique for Diploid Cultivar and Interspecific Hybrids. China – Colton. 4: 15 – 17.
- Widiastoety, D. 2001. Perbaikan genetik dan perbanyakkan bibit secara in vitro dalam mendukung perkembangan anggrek di Indonesia. Jurnal Litbang Pertanian 20 (4).
- Wikipedia. 2006. Morfologi *Dendrobium strebloceras*. Available at: <http://id.wikipedia.org/wiki/dendrobiumstrebloceras>. Diakses pada 1 Februari 2010 pukul 14.00.
- Wimber, D.E. 1967. Artificially induced poliploidy in Cymbidiums. Pages 27-32 in : De GARMO , L.R (ed) Proc. Fifth World Orchid Conference, Long Beach, California, 1966. p 27-32.
- Yadav, L.P. and T.K. Bose. 1989. Orchids. In : Commercial Flowers. Ed. By : Bose and Yadav. P : 151-265.
- Zhu, S. J and B, L. Li. 1993. Studies of Introgression of the “Galdless Seeds-Glanded Plant” Trait From *Gossypium bickii* Into Cultivated Upland Cotton (*Gossypium hirsutum*). Cotton – et – Fibres – Tropicales. 48 (3) : 195 - 200



## Lampiran 1

## Komposisi Bahan Media ½ MS

No.	Jenis	Komponen	Berat (gr/ml)	Volume yang diambil/Lmedia	Keterangan
1.	Macro nutriens	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	9.9 /600	50 ml	Kepekatan 10x
		KNO <sub>3</sub>	11.4 /600		
		KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1.02 /600		
		CaCl <sub>2</sub> . 2H <sub>2</sub> O	2.64 /600		
		MgSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	2.16 /600		
2.	Micro nutriens	Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> . 2H <sub>2</sub> O	0.00625 /50	2 ml	Kepekatan 500x
		H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0.155 /50		
		KI	0.020 /50		
		CoCl <sub>2</sub> . 6H <sub>2</sub> O	0.000625 /50		
		MnSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	0.5575 /50		
		ZnSO <sub>4</sub> . 4H <sub>2</sub> O	0.215 /50		
		CuSO <sub>4</sub> . 5H <sub>2</sub> O	0.000625 /50		
3.	FeEDTA	Na <sub>2</sub> EDTA	0.9325 /50	1 ml	Kepekatan 500x
		FeSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O	0.695 /50		
4.	Vitamin	Myoinocytol	2.5 /50	1 ml	Kepekatan 500x
		Glycine	0.05 /50		
		Niacine	0.0125 /50		
		Piridoxin HCl	0.0125 /50		
		Tiamin HCl	0.0025 /50		

**Lampiran 2**Prosedur pengamatan kromosom dengan metode pewarnaan *Acetoorcein*

# UNIVERSITAS BRAWIJAYA



This document was created with Win2PDF available at <http://www.daneprairie.com>.  
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.



### Lampiran 3. Uji F Terhadap Beberapa Variabel Pengamatan

Tabel 16. Uji F terhadap jumlah daun 7 hst

SK	db	JK	KT	F Hit		F Tabel	
						5%	1%
Konsentrasi	3	13,650	4,550	16,218	**	2,80	4,22
Waktu	2	0,448	0,224	0,799	TN	3,19	5,08
K.T	6	1,567	0,261	0,931	TN	2,30	3,20
Galat	48	13,467	0,280				
Total	59	29,131					

Tabel 17. Uji F terhadap jumlah daun 14 hst

SK	db	JK	KT	F Hit		F Tabel	
						5%	1%
Konsentrasi	3	9,606	3,202	28,817	**	2,80	4,22
Waktu	2	0,048	0,024	0,217	TN	3,19	5,08
K.T	6	0,811	0,135	1,217	TN	2,30	3,20
Galat	48	5,333	0,111				
Total	59	15,798					

Tabel 18. Uji F terhadap jumlah daun 21 hst

SK	db	JK	KT	F Hit		F Tabel	
						5%	1%
Konsentrasi	3	5,501	1,833	26,409	**	2,80	4,22
Waktu	2	0,604	0,301	4,347	*	3,19	5,08
K.T	6	2,448	0,408	5,876	**	2,30	3,20
Galat	48	3,333	0,069				
Total	59	11,887					

Tabel 19. Uji F terhadap jumlah daun 28 hst

SK	db	JK	KT	F Hit		F Tabel	
						5%	1%
Konsentrasi	3	13,650	4,550	16,218	**	2,80	4,22
Waktu	2	0,448	0,224	0,799	TN	3,19	5,08
K.T	6	1,567	0,261	0,931	TN	2,30	3,20
Galat	48	13,467	0,280				
Total	59	29,131					

**Tabel 20. Uji F terhadap jumlah daun 35 hst**

SK	db	JK	KT	F Hit		F Tabel	
						5%	1%
Konsentrasi	3	3,659	1,220	30,636	**	2,80	4,22
Waktu	2	0,403	0,202	5,070	*	3,19	5,08
K.T	6	1,330	0,222	5,566	**	2,30	3,20
Galat	48	1,911	0,040				
Total	59	7,304					

**Tabel 21. Uji F terhadap jumlah akar 7 hst**

SK	db	JK	KT	F Hit		F Tabel	
						5%	1%
Konsentrasi	3	0,012	0,001	0,100	TN	2,80	4,22
Waktu	2	0,026	0,013	0,304	TN	3,19	5,08
K.T	6	0,967	0,161	3,783	**	2,30	3,20
Galat	48	2,044	0,042				
Total	59	3,037					

**Tabel 22. Uji F terhadap jumlah akar 14 hst**

SK	db	JK	KT	F Hit		F Tabel	
						5%	1%
Konsentrasi	3	1,813	0,604	8,058	**	2,80	4,22
Waktu	2	0,548	0,274	3,654	**	3,19	5,08
K.T	6	1,260	0,210	2,798	*	2,30	3,20
Galat	48	3,600	0,075				
Total	59	7,220					

**Tabel 23. Uji F terhadap jumlah akar 21 hst**

SK	db	JK	KT	F Hit		F Tabel	
						5%	1%
Konsentrasi	3	0,154	0,051	0,892	TN	2,80	4,22
Waktu	2	0,904	0,452	7,871	**	3,19	5,08
K.T	6	3,807	0,635	11,054	**	2,30	3,20
Galat	48	2,756	0,057				
Total	59	7,620					

**Tabel 24. Uji F terhadap jumlah akar 28 hst**

SK	db	JK	KT	F Hit		F Tabel	
						5%	1%
Konsentrasi	3	3,363	1,121	14,947	**	2,80	4,22
Waktu	2	0,070	0,035	0,469	**	3,19	5,08
K.T	6	0,181	0,030	0,403	**	2,30	3,20
Galat	48	3,600	0,075				
Total	59	7,215					

**Tabel 25. Uji F terhadap jumlah akar 35 hst**

SK	db	JK	KT	F Hit		F Tabel	
						5%	1%
Konsentrasi	3	5,620	1,873	23,257	**	2,80	4,22
Waktu	2	1,226	0,613	7,609	**	3,19	5,08
K.T	6	2,507	0,418	5,188	**	2,30	3,20
Galat	48	3,867	0,081				
Total	59	13,220					

**Tabel 26. Uji F terhadap berat tanaman**

SK	db	JK	KT	F Hit		F Tabel	
						5%	1%
Konsentrasi	3	0,009	0,003	1,375	TN	2,80	4,22
Waktu	2	0,019	0,009	4,390	**	3,19	5,08
K.T	6	0,016	0,003	1,225	TN	2,30	3,20
Galat	48	0,102	0,002				
Total	59	0,144					

**Tabel 27. Uji F terhadap tinggi tanaman**

SK	db	JK	KT	F Hit		F Tabel	
						5%	1%
Konsentrasi	3	4,775	1,592	4,388	*	2,80	4,22
Waktu	2	0,261	0,131	0,360	TN	3,19	5,08
K.T	6	0,751	0,125	0,345	TN	2,30	3,20
Galat	48	17,412	0,363				
Total	59	23,199					

Tabel 28. Uji F terhadap jumlah stomata

SK	db	JK	KT	F Hit		F Tabel	
						5%	1%
Konsentrasi	3	119,586	39,862	10,402	**	2,80	4,22
Waktu	2	2,121	1,061	0,277	TN	3,19	5,08
K.T	6	145,084	24,181	6,310	**	2,30	3,20
Galat	48	183,952	3,832				
Total	59	450,743					

Tabel 29. Uji F terhadap kerapatan stomata

SK	db	JK	KT	F Hit		F Tabel	
						5%	1%
Konsentrasi	3	21279,70	7093,22	95,82	**	2,80	4,22
Waktu	2	444,05	222,02	2,99	TN	3,19	5,08
K.T	6	4249,78	708,29	9,57	**	2,30	3,20
Galat	48	3553,17	74,02				
Total	59	29526,70					



# UNIVERSITAS BRAWIJAYA



This document was created with Win2PDF available at <http://www.daneprairie.com>.  
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.

