



## **Poliploidi *Phalaenopsis amabilis* L Menggunakan Senyawa Kolkisin pada Eksplan Protocorm Like Bodies (PLB)**

**Elisa Apriliani<sup>1</sup>, Dwi Widyajayantie<sup>1,2</sup>, Ummu F Hidayah<sup>1\*</sup>, Yoshua S Yudha<sup>1</sup>,**

<sup>1</sup>Program Studi Pemuliaan dan Bioteknologi Tanaman, Departemen Agronomi dan Hortikultura,  
Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor

<sup>2</sup>Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN), Indonesia

**Corresponding Author:** [ummufitrothul276@gmail.com](mailto:ummufitrothul276@gmail.com)

Info Artikel	Abstrak
<p><b>Kata Kunci:</b> Anggrek bulan, PLB, In Vitro,</p> <p>Diterima 5 Desember 2023 Disetujui: 20 Desember 2023</p>	<p><i>Phalaenopsis amabilis</i> L merupakan salah satu jenis anggrek yang memiliki keunggulan dalam variasi warna bunga yang beragam dan waktu bunga mekar yang lebih lama. Upaya dalam peningkatan nilai estetika terkait ukuran bunga dapat dilakukan dengan metode induksi poliploidi tanaman anggrek. Induksi poliploidi dapat dilakukan menggunakan senyawa kolkisin dengan cara penggandaan kromosom sel lebih banyak dari kromosom diploid. Penelitian dilakukan untuk mengetahui respon pertumbuhan eksplan <i>protocorm like bodies</i> (plb) <i>Phalaenopsis amabilis</i> L pada induksi ploidisasi menggunakan senyawa kolkisin. Penelitian dilakukan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan faktor konsentrasi kolkisin (0%; 0,02%; dan 0,04%) dan lama waktu perendaman (1 jam dan 24 jam) yang diinokulasi pada eksplan plb anggrek <i>Phalaenopsis amabilis</i> L. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan kolkisin dengan konsentrasi 0,02% dan 0,04% pada plb <i>Phalaenopsis amabilis</i> menunjukkan persentase hidup hingga 80%. Lama perendaman eksplan pada senyawa kolkisin selama 1 dan 24 jam tidak memberikan pengaruh yang signifikan pada persentase hidup dan waktu bertunas, namun cukup berpengaruh pada jumlah tunas. Penggunaan media KC dengan modifikasi meningkatkan kemampuan recovery plb untuk tumbuh membentuk tunas.</p>

### **1. PENDAHULUAN**

Anggrek (*Orchidaceae*) merupakan tanaman yang memiliki variasi jenis yang luas. Terdapat sekitar 25.000 spesies dari Family *Orchidaceae* yang teridentifikasi maupun spesies liar yang belum teridentifikasi. Tanaman anggrek dinilai dari sisi keindahannya sebagai bunga pot ataupun bunga potong. Dapat juga digunakan sebagai hiasan dekorasi dan hadiah. *Phalaenopsis amabilis* L atau biasa dikenal dengan nama anggrek bulan merupakan salah satu jenis anggrek yang diminati di Indonesia. Anggrek bulan memiliki keunggulan karna memiliki warna yang beragam dengan waktu bunga mekar yang lebih lama (Fauziah et al. 2014). Konsumen biasanya lebih menyukai bunga yang berukuran besar dan warna yang beragam. Upaya dalam peningkatan ukuran bunga tanaman anggrek dengan tujuan menambah nilai estetika dan nilai ekonomis, dapat dilakukan dengan metode induksi poliploidi atau penggandaan kromosom. Penggandaan kromosom dilakukan dengan penggunaan senyawa kolkisin. Penambahan senyawa kolkisin pada perbanyak tanaman anggrek bulan akan menyebabkan tanaman mengalami penggandaan kromosom atau ploidisasi dengan jumlah kromosom lebih banyak dibandingkan tanaman

diploidnya. Ploidisasi yang terjadi pada kromosom sel akan terlihat pada morfologi tanaman yang lebih besar, kekar, serta memiliki inti sel dan stomata lebih besar (Suryo 1995).

Perbanyakan *Phalaenopsis* secara *in vitro* umumnya dilakukan dengan cara perkecambahan biji. Benih angrek yang disemai akan membentuk *Protocorm Like Bodies* (plb), kemudian dapat beregenerasi membentuk planlet atau membentuk plb sekunder. Kolkisin merupakan senyawa ekstrak dari biji tanaman *Colchicum autumnale* yang larut dalam air. Senyawa kolkisin bersifat mutagen yang bekerja dengan menginduksi ploidisasi dengan konsentrasi relatif rendah. Pemberian kolkisin dengan konsentrasi 0,02 % pada *Anthurium plowmanii* Croat, menghasilkan 95% tanaman putatif dengan lama perendaman 1 jam (Nurwanti 2010). Selain itu, hasil penelitian Soedjono et al. (1996) menunjukkan bahwa dengan waktu perendaman dan pemberian konsentrasi kolkisin yang lebih tinggi akan memberikan nilai ketegaran *protocorm Dendrobium* yang lebih tinggi.

Optimasi penggunaan senyawa kolkisin terkait dengan konsentrasi dan lama waktu perendaman dalam pengandaan kromosom angrek bulan menggunakan *Protocorm Like Bodies*, menjadi fokus utama agar menghasilkan regenerasi tanaman yang memiliki tingkat ketegaran yang tinggi. Selain itu, jenis media yang menyediakan unsur bagi pertumbuhan plb menjadi hal yang juga perlu diperhatikan. Media kultur yang biasa digunakan dalam pertumbuhan angrek adalah Vacin and Went (VW), Knudson C (KC) dan Murashige dan Skoog (Aziz et al. 2014; Warpur et al. 2021). Media Knudson C memiliki formulasi media dengan kandungan hara makro yang lengkap, dan hara mikro berupa Mn dan Fe (Puspitaningtyas & Handini 2014; Puspitaningtyas & Handini 2011). Penggunaan media KC sering dikombinasikan dengan zat pengatur tumbuh (zpt) dan sumber bahan organik lain untuk meningkatkan pertumbuhan tanaman. Media VW terdiri dari unsur hara makro dan mikro dalam bentuk garam-garam anorganik dengan jumlah yang pas atau sesuai untuk pertumbuhan tanaman angrek secara khusus (Apriliyani & Wahidah 2021). Sedangkan media Murashige dan Skoog (MS), merupakan media yang lebih sering digunakan karena memiliki kandungan garam anorganik dan nitrogen yang lebih besar dibandingkan dengan media lainnya (Gunawan 1992). Adapun tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui respon pertumbuhan eksplan *protocorm like bodies* (plb) dari spesies *Phalaenopsis amabilis* L pada induksi ploidisasi menggunakan senyawa kolkisin.

## 2. METODE PENELITIAN

### **Waktu dan Tempat**

Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari 2022 di Laboratorium Hortikultura, Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian IPB.

### **Bahan dan Alat**

Pada pelaksanaan penelitian menggunakan alat berupa *Laminar Air Flow* (LAF), *shaker*, *petri dish*, pinset dan pisau scalpel, botol kultur, lampu bunsen, serta tisu kering. Adapun bahan yang digunakan adalah eksplan *Protocorm Like Bodies* (plb) angrek *Phalaenopsis amabilis*, media Knudson-C modifikasi, larutan kolkisin, dan alkohol 70%.

### **Prosedur**

Penelitian diawali dengan pensterilan LAF menggunakan alkohol 70%. Eksplan berupa plb angrek disiapkan pada petridish steril sesuai jumlah yang dibutuhkan. Senyawa kolkisin dilarutkan pada konsentrasi 0,02%; 0,04%, dan perlakuan kontrol dengan kolkisin 0%. Selanjutnya, plb angrek dimasukkan ke dalam masing-masing botol (dilakukan secara aseptik di LAF) perlakuan 0% ( $\pm 10$  plb), 0,02% ( $\pm 25$  plb), dan 0,04% ( $\pm 25$  plb). Inokulasi plb menggunakan larutan kolkisin dilakukan dengan metode shaker selama 1 jam dan 24 jam. Setelah 1 jam perendaman, plb dikeringkan menggunakan tisu steril dan selanjutnya ditanam ke dalam media kultur masing-masing 2 botol media KC (5 plb per botol) untuk konsentrasi kolkisin 0%; 2 botol media KC (5 plb per botol) untuk konsentrasi kolkisin 0,02%; dan 2 botol media KC (5 plb per botol) untuk konsentrasi kolkisin 0,04%. Eksplan plb yang tersisa kembali di-shaker sampai 24 jam. Setelah 24 jam, plb yang tersisa ditanam pada media kultur masing-masing 2

botol media KC (5 plb per botol) untuk konsentrasi kolkisin 0%; 2 botol media KC (5 plb per botol) untuk konsentrasi kolkisin 0,02%; dan 2 botol media KC (5 plb per botol) untuk konsentrasi kolkisin 0,04%.

### Parameter Uji

Pengamatan persentase kontaminasi dilakukan setiap minggu, dengan cara menghitung jumlah plb yang terkontaminasi dibagi dengan total jumlah eksplan tiap ulangan dikali 100% pada masing-masing perlakuan. Pengamatan persentase hidup dilakukan setiap minggu dengan cara menghitung jumlah plb yang hidup dibagi dengan total jumlah eksplan tiap ulangan dikali 100% pada masing-masing perlakuan. Pengamatan persentase kematian dilakukan setiap minggu, dengan cara menghitung jumlah plb yang mati atau browning dari tiap botol kultur dibagi dengan total jumlah eksplan tiap ulangan dikali 100% pada masing-masing perlakuan. Pengamatan waktu bertunas dilakukan dengan mengamati waktu munculnya tunas pada tiap eksplan dari masing-masing botol setiap minggu. Dan, pengamatan jumlah tunas dilakukan dengan menghitung jumlah tunas yang tumbuh dari tiap eksplan dari masing-masing botol. Pengamatan dilakukan tiap minggu.

### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pemuliaan tanaman dengan menggunakan mutasi merupakan metode alternatif yang dilakukan untuk menunjang pemuliaan konvensional. Mutasi secara kimiawi yang sering digunakan untuk menghasilkan tanaman poliploid menggunakan kolkisin dalam konsentrasi yang cukup rendah. Mutasi tanaman anggrek secara *in vitro* dilakukan pada jaringan meristematik. Eksplan protocorm merupakan jaringan yang terbentuk dari perkecambahan biji anggrek berbentuk bulat, yang belum memiliki organ berupa daun atau akar.

#### Persentase Kontaminasi

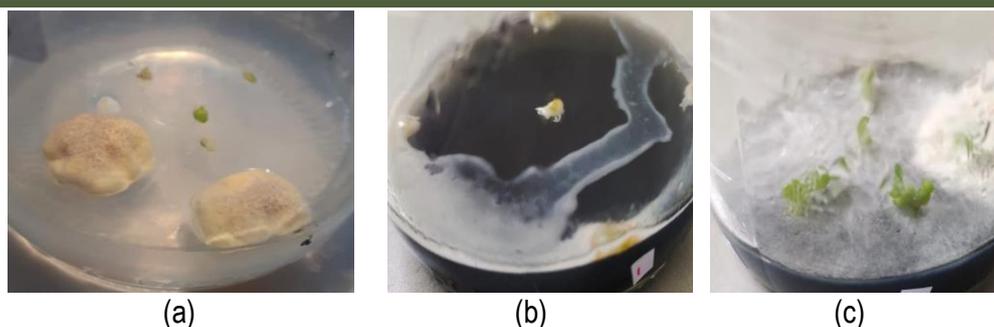
Keberhasilan dalam perbanyak plb anggrek secara *in vitro* bergantung pada syarat dan kondisi yang terpenuhi, yaitu kondisi pengerjaan yang aseptik pada eksplan dan media kultur, kecukupan nutrisi dan bahan organik serta kandungan gula sebagai sumber energi dalam perkecambahan dan pertumbuhan plb. Kontaminasi pada perbanyak tanaman secara *in vitro* biasanya disebabkan oleh cendawan dan bakteri (Gambar 1). Cendawan dapat berupa hifa yang melekat pada bagian eksplan atau pada media kultur. Sumber kontaminasi dapat berasal dari kontaminasi yang masuk ke dalam botol kultur ketika dilakukan perendaman plb dengan kolkisin atau saat penanaman eksplan pada media.

Penggunaan protocorm dalam induksi poliploid menggunakan kolkisin secara *in vitro* cenderung lebih sulit karena rentan kegagalan yang disebabkan oleh kontaminasi ketika perendaman kolkisin ataupun penanaman eksplan. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa peningkatan persentase kontaminasi terjadi pada penggunaan konsentrasi kolkisin yang lebih tinggi. Terlihat pada perlakuan kolkisin 0,04%, persentase kontaminasi meningkat 5-10% setiap minggunya dari total eksplan tiap botol kultur. Suryo (1995) menyatakan bahwa adanya pemberian kolkisin pada konsentrasi tinggi dengan waktu perendaman yang panjang dapat memicu terjadinya kerusakan sel bahkan kematian sel tanaman.

**Tabel 1. Persentase kontaminasi Plb**

Waktu	Konsentrasi Kolkisin	Kontaminasi (%)			
		1 msk	2 msk	3 msk	4 msk
1 jam	0%	0	0	5	7
	0,02 %	0	11	16	17
	0,004 %	5	16	17	18
24 jam	0%	4	10	10	10
	0,02 %	0	5	5	7
	0,04 %	2	10	16	23

Keterangan: Minggu setelah kultur (MSK)



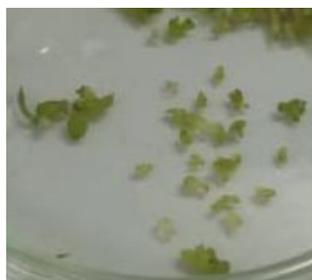
**Gambar 1. a) Kontaminasi eksplan; (b) Kontaminasi oleh bakteri; (c) Kontaminasi oleh hifa jamur**

Faktor teknis yang mempengaruhi kontaminasi eksplan seperti penggunaan alat scalpel dan pinset yang dapat melukai jaringan plb, nantinya akan terlihat dari eksplan yang berubah warna menjadi kecoklatan. Selain itu pelukaan pada jaringan plb akan menyebabkan jaringan menghasilkan senyawa fenolik. Bagian eksplan yang terluka akan menghasilkan enzim polifenol oksidase, yang menyebabkan browning pada eksplan (Cheng & Crisosto, 2005).

Kontaminasi yang muncul pada media kultur dapat disebabkan oleh proses pembuatan media ataupun karena adanya reaksi dari eksplan selama proses perendaman menggunakan kolkisin, ataupun penanaman yang dapat memicu produksi senyawa fenolik. Saltveit (2000) menyatakan bahwa sel dapat mengeluarkan senyawa fenolik yang dipicu oleh adanya cekaman berupa stress akibat luka pada eksplan pada saat penanaman atau suhu lingkungan.

#### **Persentase Eksplan Hidup dan Mati**

Anggrek *Phalaenopsis amabilis* memiliki jumlah kromosom  $2n=2x=38$ . Tanaman poliploid umumnya memiliki sifat yang lebih unggul dibandingkan dengan tanaman diploid. Eksplan yang mati dapat disebabkan oleh ukuran plb yang digunakan tidak seragam atau terlalu kecil (Gambar 2). Eksplan yang digunakan merupakan *protocorm* yang memiliki morfologi dengan warna kekuningan sedikit transparan.

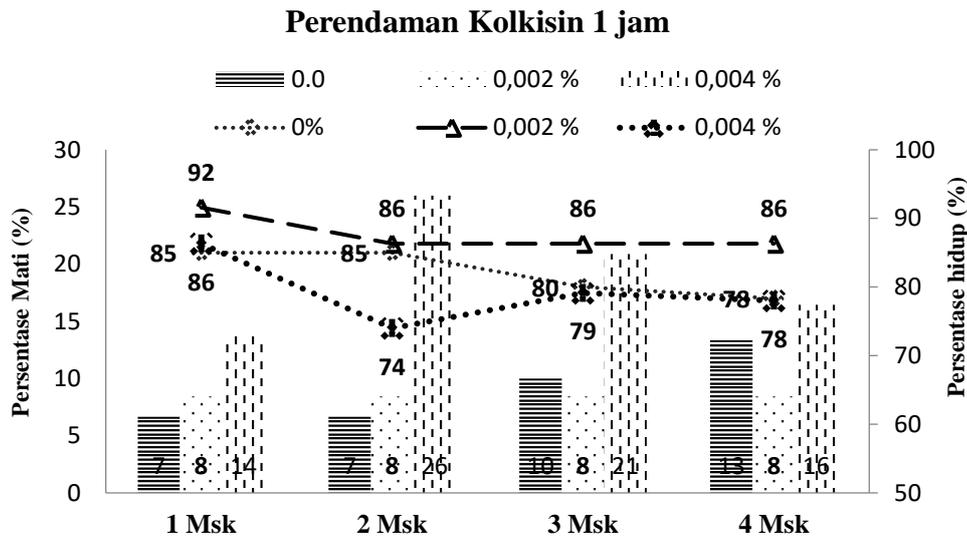


**Gambar 2. Eksplan protocorm like bodies (plb)**

Mutasi ploidisasi menggunakan kolkisin dengan penggandaan kromosom secara *in vitro* dapat menimbulkan efek dari penggunaan kolkisin terhadap fisiologis sel sehingga membutuhkan waktu bagi sel untuk *recovery* untuk tumbuh atau bahkan sel akan mati. Penggunaan kolkisin pada induksi poliploid membutuhkan konsentrasi dan waktu perendaman yang bervariasi pada setiap spesies dan eksplan yang digunakan. Kolkisin akan berpenetrasi ke dalam nukleus dan sitoplasma sel selama perendaman, akan terjadi kontak antar larutan kolkisin dengan jaringan apikal yang mempengaruhi pembelahan sel (Gantait *et al.* 2011).

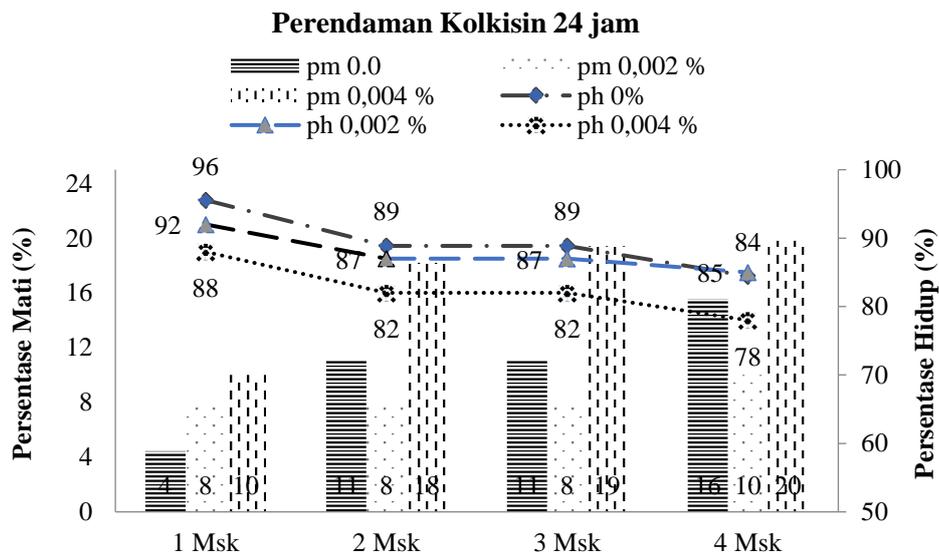
Pengamatan persentase plb yang hidup pada perendaman satu jam menunjukkan penurunan setiap minggunya pada semua konsentrasi kolkisin, terlihat pada (Gambar 3). Kolkisin dengan konsentrasi 0,04% dengan perendaman 1 jam menunjukkan nilai 86% pada minggu pertama dan mengalami penurunan persentase eksplan hidup hingga 15% dan terus mengalami penurunan tiap minggunya. Pada konsentrasi yang sama, dengan waktu perendaman 24 jam menunjukkan nilai

persentase hidup 88% pada minggu pertama dan mengalami penurunan setiap minggunya sekitar 4-6% (Gambar 4).



**Gambar 3. Persentase hidup dan mati plb pada perendaman kolkisin 1 jam**

Keterangan: Grafik batang = Persentase mati; Grafik line = Persentase hidup



**Gambar 4. Persentase hidup dan mati plb pada perendaman kolkisin 24 jam**

Keterangan: Grafik batang = Persentase mati; Grafik line = Persentase hidup



**Gambar 5. (a) Eksplan mati (browning); (b) Eksplan hidup**

Persentase eksplan hidup berbanding lurus dengan persentase eksplan yang mati. Terlihat pada grafik, persentase eksplan mati pada konsentrasi kolkisin 0,04% menunjukkan nilai tertinggi dibandingkan dengan kontrol kolkisin 0% dan 0,02%. Persentase eksplan yang mati pada kolkisin 0,04%

pada perendaman selama 1 jam menunjukkan persentase hidup 11-26% dan mengalami penurunan setiap minggunya. Pada konsentrasi yang sama, dengan waktu perendaman 24 jam menunjukkan persentase 10-20% dimana nilainya paling besar dibandingkan dengan penggunaan kolkisin 0,02% dan 0%. Hal tersebut diduga bahwa konsentrasi yang diuji masih dapat ditolerir dan tidak mematikan sel secara luas. Menurut Aini et al. (2015) penggunaan konsentrasi kolkisin pada induksi ploidi berkisar dari 0,02 - 0,1%. Sedangkan untuk lama perendaman mulai dari 3 jam hingga 14 hari.

Penggunaan arang aktif pada media KC yang dimodifikasi dapat mengurangi adanya senyawa fenolik yang mengganggu pertumbuhan tanaman. Sel yang luka atau mengalami stress akibat adanya cekaman selama terpapar kolkisin akan menghasilkan senyawa fenolik. Widiastuty dan Marwoto (2004) menyatakan bahwa penggunaan arang aktif pada media kultur dapat menyerap senyawa fenol yang dihasilkan jaringan tanaman pada saat sel luka selama proses inisiasi.

Penggunaan kolkisin akan menyebabkan terjadinya perubahan jumlah kromosom dari sel aslinya. Penghambatan pembentukan benang *spindle* oleh senyawa kolkisin menyebabkan kromosom yang mengganda pada proses mitosis di dalam sel tidak terbagi ke arah yang berlawanan hingga tahap telofase, sehingga menyebabkan jumlah kromosom di dalam sel bertambah. Konsentrasi kolkisin yang terlalu tinggi dan waktu perendaman yang terlalu lama, akan memberikan efek negatif berupa sel akan mati. Hal ini disebabkan keadaan kromosom yang mengganda akan memenuhi sel bahkan dapat melampaui kemampuan dari ukuran sel. Perendaman kolkisin yang lama akan menghasilkan pertambahan genom mengikuti deret ukur seperti 4x, 8x, 16x, dan seterusnya (Brewbaker 1983). Toleransi bagi setiap tanaman terhadap kolkisin berbeda-beda tergantung ukuran sel. Menurut Welsh (1991) bahwa adanya ambang batas maksimum untuk tingkat ploidi bagi setiap tanaman. Apabila jumlahnya melebihi ambang batas, maka tanaman menjadi tidak normal, lemah, sel dapat pecah, dan tanaman tidak dapat hidup.

Persentasi eksplan yang hidup dan mati akibat lama perendaman kolkisin selama 1 jam dan 24 jam tidak berbeda signifikan. Hal tersebut disebabkan penggunaan konsentrasi 0%, 0,02% dan 0,04% masih dapat ditolerir oleh plb dalam waktu perendaman 1-24 jam. Semakin tinggi konsentrasi kolkisin yang diberikan dan semakin lama waktu perendaman pada plb *Phalaenopsis amabilis*, menyebabkan adanya penurunan persentase hidup dan meningkatkan persentase eksplan yang mati, namun pada konsentrasi dan waktu yang diujikan tidak bersifat toksik secara keseluruhan. Aini et al. (2015) menyatakan bahwa penggunaan konsentrasi kolkisin 0,1 yang bersifat toksik bagi jaringan plb akan ditunjukkan dengan perubahan warna plb menjadi kecoklatan dan akhirnya mati (Gambar 5).

### Waktu Bertunas

Teknik kultur jaringan bergantung pada jenis media yang mampu menyediakan sumber hara, energi dan bahan organik bagi pertumbuhan tanaman, sehingga media menjadi faktor penting dalam keberhasilan teknik kultur jaringan. Salah satu media kultur yang biasa digunakan dalam pertumbuhan anggrek adalah Knudson C (KC). Media Knudson C memiliki formulasi media dengan kandungan hara makro yang lengkap, dan hara mikro berupa Mn dan Fe. Penggunaan media KC sering dikombinasikan dengan zpt dan sumber bahan organik lain untuk meningkatkan pertumbuhan tanaman. Komponen dari media kultur terdiri dari adanya unsur hara makro, hara mikro, gila, vitamin, asam amino, sumber bahan organik, zpt, agar dan penggunaan arang aktif. Pengamatan menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan waktu munculnya tunas pada plb oleh perbedaan konsentrasi kolkisin dan waktu perendaman kolkisin. Tiap eksplan menunjukkan pertumbuhan tunas pada satu minggu setelah kultur (Tabel 2).

**Tabel 2. Waktu munculnya tunas**

Konsentrasi Kolkisin	Waktu Muncul Tunas (MSK)	
	1 jam	24 jam
0%	1.0	1.0
0,002 %	0.9	0.8
0,004 %	1.0	1.0

Keterangan : Minggu setelah kultur (MSK)

*Protocorm* yang telah memiliki primordia daun yang terbuka sempurna disebut dengan *seedling*. Pertumbuhan tunas plb diawali dengan adanya aktivitas pembelahan sel pada jaringan meristematis. Avery et al. (1947) menyatakan bahwa adanya pengaruh kolkisin bagi pembelahan sel akan lebih efektif pada jaringan yang sedang aktif membelah.



**Gambar 6. Munculnya tunas**

Jumlah kromosom yang bertambah biasanya akan menghambat pertumbuhan tunas dengan pembelahan sel yang lebih lambat dibanding sel normal. Penggunaan konsentrasi kolkisin dan waktu perendaman yang diujikan masih dapat ditolerir oleh sel. Hal tersebut berhubungan dengan adanya dukungan dari ketersediaan nutrisi pada media kultur yang membantu protocorm untuk recovery dan tumbuh setelah terpapar larutan kolkisin.

Media KC dimodifikasi dengan penambahan 0,5 mg.l<sup>-1</sup> NAA sebagai sumber zpt auksin. Hasil penelitian Widiyatmanto et al. (2012) menunjukkan adanya interaksi jenis media KC dengan penambahan NAA 0,5 mg.l<sup>-1</sup> dalam pertumbuhan anggrek *D.cupra* hingga fase planlet. Selain itu pertumbuhan tunas plb *Phalaenopsis amabilis* pada tiap perlakuan didukung oleh pemberian ZPT BA 1 mg.l<sup>-1</sup> sebagai sumber sitokinin yang berpengaruh terhadap induksi tunas atau bakal tunas. BA sering dikombinasikan dengan auksin untuk mendukung pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Sakai (1998) menyatakan bahwa penggunaan 6-benzyladenine (BA) pada *Dendrobium* dapat menginduksi pembentukan tunas. Konsentrasi BA yang digunakan dalam menunjang proliferasi plantlet anggrek berkisar antara 0.45 mg.l<sup>-1</sup> hingga 9.96 mg.l<sup>-1</sup> (Sarathum et al. 2010).

### **Jumlah Tunas**

Jumlah tunas yang terbentuk dari plb yang mengalami proliferasi pada masing-masing perlakuan konsentrasi menunjukkan jumlah tunas yang meningkat setiap minggunya (Tabel 3). Hal tersebut menunjukkan bahwa media KC dengan modifikasi mampu menyokong kebutuhan sumber hara yang dibutuhkan sel untuk tumbuh. Proliferasi dari jaringan plb merupakan proses dari embriogenesis somatik yang dipengaruhi oleh hormon endogen. Hormon sitokinin berupa BA yang ditambahkan pada media KC memberikan pengaruh pada proses proliferasi plb, dimana jenis senyawa BA merupakan golongan sitokinin tipe adenin yang mampu meningkatkan pembelahan sel dan pembesaran sel pada kultur tanaman (Mok et al. 2000).

**Tabel 3. Rata-rata jumlah tunas yang terbentuk**

Waktu/Konsentrasi Kolkisin	Jumlah tunas				Rata-rata	
	1 msk	2 msk	3 msk	4 msk		
1 jam	0%	0.4	0.7	0.7	0.9	0.7
	0,002 %	0.5	0.7	0.8	1.0	0.8
	0,004 %	0.5	0.7	1.0	0.8	0.7
24 jam	0%	0.3	0.5	0.6	0.9	0.6
	0,002 %	0.3	0.6	0.7	0.7	0.6
	0,004 %	0.3	0.6	0.8	0.9	0.7

Keterangan : Minggu setelah kultur (MSK)

Penggunaan kolkisin konsentrasi 0,02% dengan waktu perendaman 1 jam menunjukkan rata-rata jumlah tunas dari seluruh eksplan yang tumbuh adalah 8 tunas. Sedangkan pada konsentrasi yang sama dengan perendaman 24 jam menunjukkan jumlah tunas 6 tunas dari eksplan yang diamati. Jumlah tunas pada perendaman 24 jam lebih rendah dibanding pada perendaman 1 jam dengan konsentrasi yang sama, dimana masing-masing 6 pada kolkisin 0%, 6 pada 0,02% dan 7 pada 0,04%. Pembelahan sel yang cenderung lambat pada plb dipengaruhi oleh adanya penggandaan kromosom di dalam sel yang menghalangi penyusunan rangka sel dan merusak tata letak protein pada membran sel sehingga molekul-molekul pada sitoplasma tidak dapat terdistribusi dengan baik berdampak pada pertumbuhan sel yang lambat (Wolfe 1983).

Media KC yang dimodifikasi, ditambahkan berupa Calcium Pantothenate (CaP) yang merupakan suatu senyawa nitrogen organik yang mengandung kalsium. Penambahan unsur CaP sebagai sumber kalsium bagi media KC yang mempengaruhi pertumbuhan tunas. Hasil penelitian Widiyatmanto et al. (2012) menyebutkan total persentase pertumbuhan biji dengan media KC dengan kandungan kalsium, lebih tinggi dibandingkan dengan media MS dan VW. Penggunaan media KC dengan modifikasi zpt yang ditambahkan bertujuan untuk meningkatkan arah pertumbuhan tanaman ke arah yang diinginkan. Kombinasi antara auksin dan sitokinin menjadi penunjang dalam proses proliferasi plb *P.amabilis*.

#### 4. KESIMPULAN DAN SARAN

Penggunaan kolkisin dengan konsentrasi 0%, 0,02% dan 0,04% pada plb *Phalaenopsis amabilis* menunjukkan persentase hidup 80% yang menunjukkan konsentrasi kolkisin masih dapat di tolerir oleh sel protocorm. Sedangkan untuk waktu perendaman kolkisin selama 1 jam dan 24 jam tidak memberikan pengaruh yang signifikan pada persentase hidup dan mati serta waktu bertunas, namun cukup berpengaruh pada jumlah tunas dimana masing-masing 6 pada kolkisin 0%, 6 pada 0,02% dan 7 pada 0,04%. Penggunaan media KC dengan modifikasi meningkatkan kemampuan recovery plb untuk tumbuh membentuk tunas.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Aini, H., Mansyurdin., Suwirman. (2015). Induksi plb anggrek *Vanda sumatrana* Schltr. liar pada media MS dengan penambahan BAP dan NAA serta ploidisasi dengan kolkisin. *Jurnal Biologi Universitas Andalas*, 4(4): 208-215.
- Avery, Jr., George, S., Elizabeth, B.J. (1947). *Hormones and horticulture*. Mc Graw-Hill Book Co. Inc. New York and London.
- Brewbaker, J.L. (1983). *Genetika pertanian*. Imam S. Penerbit Lembaga Genetika Modern. Jakarta.
- Cheng, G.W., Crisosto, C.G. (2005). Browning potential, phenolic composition and polyphenoloxidase activity of buffer extracts of peach and nectarine skin tissue. *J. Amer. Soc. Horts. Sci.*, 120(5): 835-838.
- Fauziah, N. (2014). *Karakterisasi morfologi anggrek Phalaenopsis spp. spesies asli Indonesia*. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Gantait, S., Mandal, N., S. Bhattacharyya, S., Das, P.K. (2011). Induction and identification of tetraploids using in vitro colchicine treatment of *Gerbera jamesonii* Bolus cv. Sciella. *Plant Cell Tiss. Organ Cult.*, 106:485-493.
- Mok, M.C., Martin, R.C., Mok, D.W.S. (2000). Cytokinins: Biosynthesis metabolism and perception. *Vitro Cell Dev. Biol. Plant*, 36: 102-107.
- Puspitaningtyas, D.M., Handini, E. (2011). Uji daya simpan biji anggrek *Dendrobium stratiotes* Rchb.f. In: Widyatmoko, D., D.M. Puspitaningtyas, R. Hendrian, Irawati, I. A. Fijridiyanto, J.R. Witono, R.A.

- 
- Risna, S.R. Ariati, S. Rahayu, T. Ng. Praptosuwiryo (eds.). Prosiding Seminar Nasional Konservasi Tumbuhan Tropika: Kondisi Terkini dan Tantangan ke Depan. 60–65.
- Puspitaningtyas, D.M., Handini, E. (2014). Penyimpanan biji anggrek *Coelogyne* spp. untuk konservasi Ex Situ. *Buletin Kebun Raya*, 17(2):101–111.
- Sakai, W.S. (1998). Use of a Benzyladenine Drench to force multiple shoot growth from rhizomes of *Dendrobium* Jac-Hawaii 'Pearl'. *Journal of Hawaiian Pacific Agriculture*, 9: 37-40.
- Saltveit, M.E. (2000). Wound induced changes in phenolic metabolism and tissue browning are altered by heat shock. *Postharvest Biology and Technology*, 21: 61-59.
- Sarathum, S., Hegele, M., Tantivivat, S., Nanakorn, M. (2010). Effect of concentration and duration of colchicine treatment on polyploidy in *Dendrobium scabrilingue* L. *European Journal of Horticultural Science*, 75 (3): 123-127.
- Soedjono, S., Suskandari, K. (1996). Pengaruh waktu perendaman dan konsentrasi kolkhisin terhadap pertumbuhan protokorm anggrek dendrobium jakarta. *Jurnal Hortikultura*, 6: 242-248.
- Suryo. (1995). *Sitogenetika*. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Welsh, J.R. (1991). Dasar-dasar genetika untuk pemuliaan tanaman. Johanis P. Moegea. Penerbit Erlangga. Jakarta. 224 hlm. Terjemahan dari: *The Principil Genetics and Plant Breeding*.
- Widiastoety, D., Marwoto, B. (2004). Pengaruh berbagai arang dalam media kultur in vitro terhadap pertumbuhan planlet *Oncidium*. *J.Hortikultura*, 14(1):1-5.
- Widiyatmanto, P., Nurhidayati, T., Nurfadilah. (2012). Pengaruh jenis media dan konsentrasi NAA (Naphthalene Acetic Acid) terhadap pertumbuhan dan perkembangan biji *Dendrobium capra* J.J Smith secara in vitro. *Jurnal Sains dan Seni ITS*, 1(1): 1-11.
- Wolfe, SL. (1983). *Introduction to cell biology*. California (US): Wadsworth Publishing Company.