

Morfologi dan Pertumbuhan Planlet Hasil Induksi Poliploid melalui Perlakuan Kolkisin pada Kuncup Bunga Anggrek Bulan (*Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume)

Morphology and Growth of Plantlets Resulted from Polyploidy Induction by Colchicine Treatment on Flower Buds of Moth Orchid (*Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume)

Tubagus Kiki Kawakibi Azmi¹, Dewi Sukma^{2*}, Sandra Arifin Aziz², dan Muhamad Syukur²

¹Program Studi Pemuliaan dan Bioteknologi Tanaman, Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor

²Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor (Bogor Agricultural University), Jl. Meranti, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680, Indonesia

Diterima 11 Agustus 2015/Disetujui 24 Desember 2015

ABSTRACT

*Induction of polyploid gametes is one of useful plant polyploidization methods. Some of its benefits are to obtain triploid and tetraploid progenies at the same time by cross and self pollination. Previous research showed that some morphological characters which could be the indications of polyploidy plantlets before the analysis of chromosome number. Colchicine treatment on flower bud of diploid *Phalaenopsis amabilis* was conducted to determine the effect of colchicine on flower bud development, plantlets morphology and growth, and potential of polyploidy induction based on plantlets morphology. Colchicine concentrations in the experiment were 0, 50, 500, 1,000, and 2,000 mg L⁻¹, with three days duration of treatments with aluminium foil wraps on flower buds. The results showed that high colchicine concentrations (2,000 mg L⁻¹) inhibited flowers blooming of treated flower buds. Based on morphological characters, plantlets were classified into normal and putative polyploid plantlets. Putative polyploid plantlets from colchicine with the concentration of 50, 500, and 1,000 mg L⁻¹ were 71.2, 86.4, and 100.0% respectively.*

Keywords: colchicine concentration, morphological characters, normal plantlets, putative polyploidy, reproductive organ

ABSTRAK

*Pembentukan gamet poliploid pada organ generatif merupakan salah satu metode poliploidisasi yang memiliki banyak manfaat, antara lain untuk menghasilkan progeni-progeni triploid dan tetraploid dalam waktu bersamaan, melalui penyerbukan sendiri dan silang. Penelitian terdahulu menunjukkan bahwa beberapa karakter morfologi dapat menjadi indikator untuk planlet poliploid sebelum dilakukan analisis jumlah kromosom. Penelitian aplikasi kolkisin pada kuncup bunga *Phalaenopsis amabilis* bertujuan untuk mempelajari pengaruh kolkisin terhadap perkembangan kuncup bunga, morfologi dan pertumbuhan planlet yang dihasilkan dan potensi keberhasilan induksi poliploid berdasarkan karakter morfologi planlet. Konsentrasi kolkisin dalam percobaan adalah 0, 50, 500, 1,000, dan 2,000 mg L⁻¹, diaplikasikan melalui penyungkupan tunas bunga dengan kapas berkolkisin dan dibalut aluminium foil dengan durasi perlakuan selama tiga hari. Hasil percobaan menunjukkan bahwa konsentrasi kolkisin yang tinggi (2,000 mg L⁻¹) menyebabkan bunga gagal mekar. Berdasarkan karakter morfologi planlet kontrol dan putatif poliploid, persentase planlet diduga poliploid dari perlakuan kolkisin 50, 500 dan 1,000 mg L⁻¹ berturut-turut adalah 71.2, 86.4, dan 100.0%.*

Kata kunci: karakter morfologi, konsentrasi kolkisin, organ reproduktif, planlet normal, putatif poliploid

PENDAHULUAN

Keberadaan poliploid memiliki manfaat yang besar terutama dalam perbaikan tanaman, termasuk anggrek. Pemulia anggrek sering memanfaatkan poliploid untuk memperoleh anggrek yang memiliki karakter bunga dengan variasi baru yang diinginkan, terutama untuk karakter bunga

berukuran besar. Usaha dalam memperoleh anggrek poliploid telah banyak dilakukan, di antaranya oleh Nakasone (1960), Chaicharoen dan Saejew (1981), Griesbach (1981), Chen *et al.* (2009), Sarathum *et al.* (2010), Miguel dan Leonhardt (2011), Kerdsuwan dan Te-chato (2012), dan Atichart (2013).

Phalaenopsis adalah salah satu jenis anggrek yang menjadi komoditas penting dari tanaman hias. *Phalaenopsis amabilis* dengan warna bunga putih merupakan spesies anggrek dari Indonesia yang berpotensi untuk dikembangkan

* Penulis untuk korespondensi. e-mail: dsukma70@yahoo.com

sebagai spesies komersial dengan karakter bunga yang lebih baik melalui poliploidisasi. Metode poliploidisasi pada anggrek umumnya dilakukan melalui perlakuan menggunakan agen anti-mitosis yang ditargetkan pada sel-sel somatik dari jaringan meristemik, seperti *protocorm* (struktur berbentuk globular dalam proses perkecambahan embrio anggrek) (Sarathum *et al.*, 2010; Miguel dan Leonhardt, 2011; Kerdsuwan; Te-chato, 2012; Rahayu *et al.*, 2015a) dan planlet (tanaman kecil dalam kultur *in vitro* yang sudah memiliki akar, batang dan daun) (Vichiato *et al.*, 2007 dan Rahayu *et al.*, 2014) ataupun tanaman muda (bibit) (Rahayu *et al.*, 2015b). Masalah umum yang dihadapi dari induksi poliploid pada jaringan meristem vegetatif adalah perubahan poliploid yang terjadi hanya pada satu atau beberapa sel sehingga tanaman yang dihasilkan biasanya memiliki konstitusi jaringan dengan sel-sel yang masih beragam jumlah kromosomnya, atau campuran antara sel asal diploid dengan sel poliploid (*mixoploid*). Kondisi tersebut memungkinkan terjadinya perubahan yang mengarah pada diploid (*diploitic selection*), yaitu kompetisi antara sel-sel diploid dan poliploid dimana sel diploid kembali mendominasi dan sel-sel poliploid tidak tumbuh maksimal sehingga tidak dihasilkan tanaman poliploid (Eigsti dan Dustin, 1957).

Alternatif metode yang dapat digunakan dalam poliploidisasi *P. amabilis* adalah melalui pembentukan gamet poliploid. Penggabungan gamet poliploid jantan dan betina akan menghasilkan individu tanaman poliploid yang solid, tanpa ada peluang terjadinya *diploitic selection*. Polen poliploid dapat terbentuk secara alami sebagaimana dilaporkan Teoh (1984) dimana polen poliploid pada anggrek diploid dapat terbentuk secara alami dengan persentase yang sangat kecil, pada *Spathoglottis plicata* dan *Calanthe rubens*, yaitu masing-masing secara berurutan sebesar 0.63 dan 5.01%. Metode aplikasi kolkisin pada *spike* bunga muda *Vanda* Miss Joaquin untuk mendapatkan gamet poliploid pernah dilaporkan Nakasone (1960) namun tidak menghasilkan tanaman poliploid. Sementara itu, induksi gamet poliploid pada anggrek *Phalaenopsis amabilis* belum pernah dilaporkan. Gamet poliploid juga berpotensi untuk menghasilkan progeni triploid melalui fertilisasi dengan gamet haploid dari tanaman diploid.

Embrio yang terbentuk dari hasil penyerbukan sendiri maupun silang pada bunga hasil perlakuan kolkisin setelah ditumbuhkan menjadi planlet dapat dikonfirmasi tingkat ploidinya dengan analisis kromosom. Rahayu (2015a) menemukan adanya perbedaan nyata karakter planlet diploid dengan poliploid seperti karakter pertumbuhan dan ukuran stomata. Karakter-karakter seperti panjang dan lebar organ basal *protocorm* (OBP), panjang dan lebar daun, panjang dan diameter akar kemungkinan dapat digunakan untuk skrining awal planlet putatif poliploid. Penelitian ini dilakukan untuk mempelajari pengaruh perlakuan kolkisin pada kuncup bunga dari *P. amabilis* dan potensinya dalam menghasilkan planlet putatif poliploid berdasarkan karakter morfologi.

BAHAN DAN METODE

Perlakuan Kolkisin

Penelitian ini dilakukan di tempat penangkar anggrek di kawasan Puncak, Kabupaten Bogor, dan di Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian IPB pada bulan Februari 2013 sampai dengan Juli 2014. Bahan tanaman yang digunakan adalah *P. amabilis* yang sedang berbunga pada fase kuncup bunga asal Cianjur Selatan, Jawa Barat. Kuncup bunga dengan diameter sekitar 2 cm yang berwarna hijau muda dibalut dengan kapas dan diberikan perlakuan kolkisin menggunakan kuas kecil. Konsentrasi larutan kolkisin yang digunakan adalah 0 (kontrol), 50, 500, 1,000, dan 2,000 mg L⁻¹. Kuncup bunga yang telah diberi perlakuan kolkisin disungkup menggunakan aluminium foil selama tiga hari. Penelitian disusun berdasarkan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan perlakuan kolkisin. Perlakuan kolkisin dilakukan pada 1-2 kuncup bunga pertanaman dengan empat ulangan, sehingga terdapat 20 tanaman sebagai satuan percobaan.

Penyerbukan Buatan dan Panen Buah Anggrek

Kuncup bunga dari perlakuan kolkisin yang berkembang dan telah mekar sempurna kemudian diserbuk sendiri atau silang secara buatan agar diperoleh buah anggrek. Penyerbukan silang dilakukan pada sebagian bunga dari perlakuan kolkisin 500 dan 1,000 mg L⁻¹, dengan menggunakan polen dari bunga lain yang tidak diberikan perlakuan kolkisin. Semua buah anggrek yang dihasilkan, dipanen sekitar 24 minggu setelah penyerbukan (MSP) dengan dipisahkan antara buah hasil penyerbukan silang dan sendiri.

Penyemaian Biji, Subkultur Planlet pada Media Pendewasaan, dan Skrining Planlet Diduga Poliploid

Biji dari setiap buah anggrek disemai secara *in vitro* pada media Knudson C sampai diperoleh planlet umur 20 minggu setelah semai (MSS). Jumlah *protocorm* yang dihasilkan dari setiap buah dikelompokkan menjadi tiga kategori, yaitu banyak (*protocorm*>250), sedang (250>*protocorm*>50), dan sedikit (*protocorm*<50). *Protocorm* yang sudah berkembang menjadi planlet disubkultur pada media pendewasaan, yaitu media Hyponex 2 mg L⁻¹. Sebanyak 125 planlet dipilih secara acak dari setiap perlakuan kolkisin, kecuali pada 1,000 mg L⁻¹ penyerbukan sendiri hanya diperoleh 50 planlet. Penelitian disusun secara RAL faktor tunggal dengan lima ulangan, setiap ulangan terdiri dari lima botol kultur, sedangkan pada perlakuan kolkisin 1,000 mg L⁻¹ dengan penyerbukan sendiri terdiri dari dua botol kultur, sehingga terdapat 135 satuan percobaan. Setiap botol terdiri dari lima planlet sehingga terdapat 675 planlet sebagai satuan amatan. Skrining planlet

diduga mutan poliploid dilakukan secara visual dengan membandingkan planlet dari perlakuan kolkisin dengan kontrol berdasarkan morfologi pada umur 8 minggu setelah subkultur (MSSk).

Analisis Data

Analisis sidik ragam dilakukan dengan program SAS 9.1.3 portable dan uji lanjut Duncan untuk rata-rata jumlah daun, akar, dan *protocorm like bodies* (plbs). Analisis karakter-karakter tipe planlet diduga poliploid dan tipe planlet normal dari setiap perlakuan kolkisin seperti: panjang dan lebar organ basal *protocorm* (OBP) serta daun, dan panjang dan diameter akar dilakukan dengan kontras ortogonal.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Perkembangan Kuncup Bunga dan Perkecambahan Biji secara In Vitro

Perlakuan kolkisin menunda pemekaran kuncup bunga 1-2 minggu dibanding kuncup bunga kontrol. Kuncup bunga pada tanaman kontrol mekar pada 4 minggu setelah perlakuan, sedangkan kuncup bunga hasil perlakuan kolkisin mekar pada 4-6 minggu setelah perlakuan kolkisin. Beberapa kuncup bunga dari setiap perlakuan kolkisin kering dan rontok. Konsentrasi kolkisin berpengaruh nyata terhadap persentase kuncup bunga yang hidup sampai mekar. Semakin tinggi konsentrasi kolkisin semakin rendah persentase kuncup bunga yang hidup sampai mekar. Pada konsentrasi kolkisin 2,000 mg L⁻¹ semua kuncup bunga kering dan rontok (Gambar 1).

Representasi kuncup bunga sebelum perlakuan, buah yang dihasilkan dan planlet dari perlakuan kolkisin pada kuncup bunga terlihat pada Gambar 2. Perlakuan kolkisin 2,000 mg L⁻¹ sangat toksik terhadap kuncup bunga. Perlakuan tersebut tidak menghasilkan satupun bunga mekar dan semua kuncup bunga rontok pada 1-2 minggu setelah perlakuan kolkisin. Hasil di atas sesuai dengan yang dilaporkan Nakasone (1960), dimana perlakuan kolkisin pada *spike* bunga muda dari *Vanda* Miss Joaquin dengan konsentrasi 1,000 sampai 20,000 mg L⁻¹ juga menyebabkan kuncup bunga gagal mekar kemudian rontok. Demikian juga Wu *et al.* (2007) menemukan bahwa perlakuan kolkisin pada tunas bunga muda dari *Lilium* varietas Con. Amore. (non anggrek) dengan konsentrasi 2,000 mg L⁻¹ menyebabkan bunga rontok hingga 81.3%.

Semua bunga mekar dari setiap perlakuan kolkisin dan kontrol dapat berkembang dengan baik dan menghasilkan buah setelah diserbuk secara buatan, baik dengan penyerbukan sendiri ataupun silang dengan tanaman diploid. Bunga hasil perlakuan kolkisin diharapkan mampu menghasilkan gamet poliploid, sehingga penyerbukan sendiri berpeluang menghasilkan turunan tetraploid. Sebaliknya persilangan dengan bunga tanpa perlakuan kolkisin atau bunga dari tanaman diploid berpeluang menghasilkan turunan triploid. Penyerbukan silang dengan bunga yang tidak diberi perlakuan kolkisin dilakukan pada bunga mekar dari

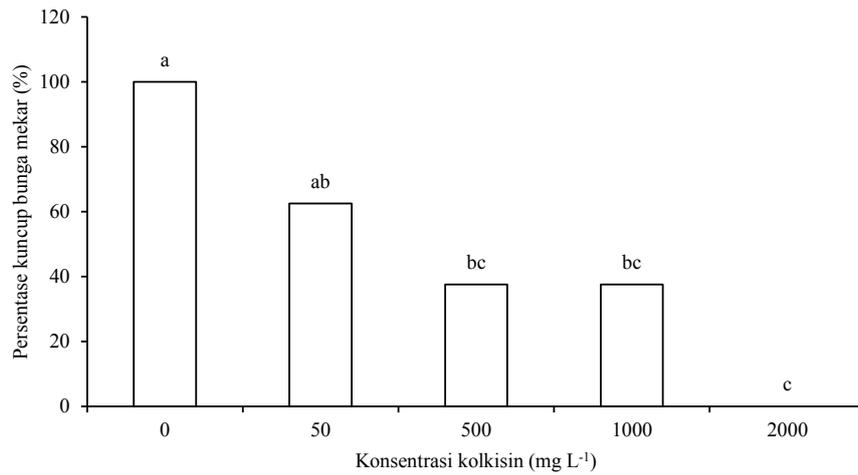
kuncup bunga yang diberi perlakuan kolkisin 500 dan 1,000 mg L⁻¹, masing-masing sebanyak satu bunga. Persentase penyerbukan yang menghasilkan buah sampai panen pada kontrol sebesar 100%, pada perlakuan kolkisin 50 mg L⁻¹ sebesar 50%, pada perlakuan kolkisin 500 dan 1,000 mg L⁻¹ sebesar 37.5% dan pada perlakuan kolkisin 2,000 mg L⁻¹ tidak dihasilkan buah (Tabel 1). Sebenarnya semua bunga yang hidup sampai mekar berkembang menjadi buah (*fruit set* 100%).

Semua buah yang dihasilkan juga mampu menghasilkan biji yang dapat berkecambah menjadi *protocorm* dalam kultur *in vitro*. Secara umum biji mulai berkembang menjadi *protocorm* dengan bentuk bulat dan berwarna hijau pada 4-6 MSS. Menurut Lesar *et al.* (2012), biji beberapa *Phalaenopsis* hibrida mulai berkecambah secara *in vitro* pada 2 MSS, diindikasikan dari embrio yang mulai membengkak (*protocorm*) dengan pengamatan menggunakan mikroskop stereo. Jumlah *protocorm* per buah yang dihasilkan menunjukkan adanya perbedaan kemampuan buah yang terbentuk dari kuncup bunga yang diberi perlakuan kolkisin dengan konsentrasi yang berbeda, dalam menghasilkan jumlah biji viabel. Hampir semua buah yang diperoleh dari kuncup bunga yang diberi perlakuan kolkisin menghasilkan kisaran jumlah *protocorm* per buah pada kategori banyak (>250 *protocorm*), hanya perlakuan kolkisin 1,000 mg L⁻¹ yang diserbuk sendiri saja yang berada pada kategori sedang (50-250 *protocorm*). Hasil ini menunjukkan kemungkinan terhambatnya pembentukan gamet karena perlakuan kolkisin, hambatan dalam pembuahan, perkembangan embrio maupun perkecambahan biji. Nakasone (1960) menyatakan bahwa perlakuan kolkisin 1,000-10,000 mg L⁻¹ pada biji *Dendrobium* dan *Vanda* selama lebih dari empat hari menyebabkan gangguan pada perkecambahannya. Hasil yang sama juga dilaporkan pada tanaman non anggrek oleh Liu *et al.* (2007) yaitu pada benih *Platanus acerifolia*.

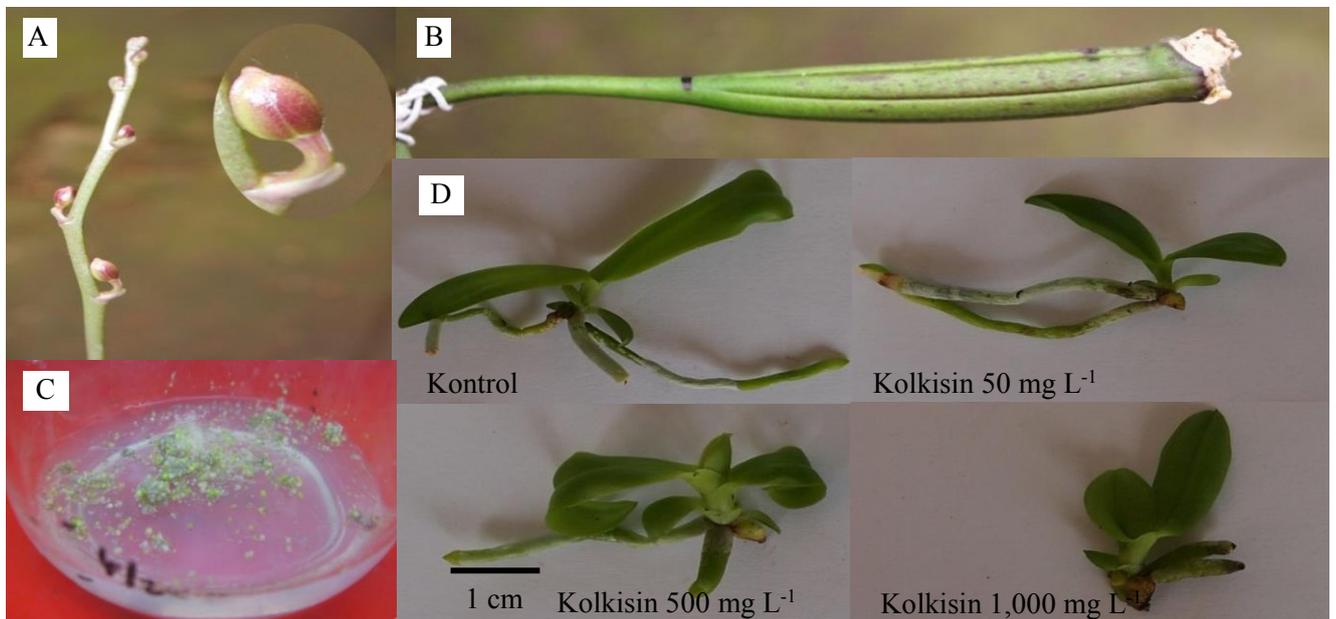
Pertumbuhan dan Perkembangan Planlet

Struktur kecambah anggrek (*protocorm*) akan berkembang menjadi planlet. Pertumbuhan planlet menunjukkan perbedaan yang nyata antar konsentrasi kolkisin terhadap kontrol, dilihat dari rata-rata jumlah daun dan akar. Selain itu, perbedaan yang nyata pada rata-rata jumlah daun dan akar juga terlihat antara planlet yang diperoleh dari penyerbukan sendiri dan silang pada konsentrasi kolkisin yang sama (Tabel 2).

Rata-rata jumlah daun terbanyak diperoleh pada planlet dari kontrol, namun jumlah akar terbanyak terdapat pada planlet dari perlakuan kolkisin 1,000 mg L⁻¹ dari buah hasil penyerbukan sendiri. Planlet dari perlakuan kolkisin 1,000 mg L⁻¹ secara visual terlihat lebih pendek dan gemuk, dan banyak akar yang muncul dari bagian organ basal *protocorm* (OBP). *Protocorm* sekunder (*protocorm like bodies* (plbs)) terbentuk dari bagian OBP planlet pada semua perlakuan kolkisin dan juga kontrol. Buah hasil penyerbukan sendiri pada perlakuan kolkisin 1,000 mg L⁻¹ menghasilkan persentase *protocorm* yang membentuk plbs dan jumlah plbs yang nyata lebih tinggi dibanding perlakuan lainnya sampai di akhir pengamatan (Tabel 3).



Gambar 1. Persentase kuncup bunga yang hidup sampai bunga mekar berdasarkan konsentrasi kolkisin. Huruf berbeda menunjukkan perbedaan secara nyata antar perlakuan kolkisin berdasarkan uji Duncan pada taraf 5%



Gambar 2. Representasi spike dan kuncup bunga sebelum perlakuan (A), buah anggrek (B) *protocorm* hasil perkecambahan biji anggrek (C) dan planlet kontrol dan asal perlakuan kolkisin pada kuncup bunga

Tabel 1. Hasil perlakuan kolkisin pada kuncup bunga anggrek *Phalaenopsis amabilis*

Kolkisin (mg L ⁻¹)	Jumlah kuncup bunga diberi perlakuan	Jumlah buah panen ^(y)	Jumlah buah menghasilkan <i>protocorm</i> ^(y)	Kisaran jumlah <i>protocorm</i> perbuah
0 (Kontrol)	7	7/7 (100.00)	7 (100.0)	Banyak (<i>protocorm</i> >250)
50	6	3/6 (50.00)	3 (50.0)	Banyak (<i>protocorm</i> >250)
500 ^(x)	8	3/8 (37.50)	3 (37.5)	Banyak (<i>protocorm</i> >250)
1,000 ^(x)	8	3/8 (37.50)	3 (37.5)	Sedang (250> <i>protocorm</i> >50)
2,000	7	0/7 (0.00)	0 (0.0)	Tidak ada

Keterangan: Pengamatan pembentukan *protocorm* dilakukan pada 8 minggu setelah semai (MSS); ^(x) = terdapat satu buah dihasilkan dari penyerbukan silang dengan kuncup bunga kontrol; ^(y) = angka dalam kurung menunjukkan data persen (%)

Tabel 2. Rata-rata jumlah daun dan akar dari planlet hasil perlakuan kolkisin pada kuncup bunga dan kontrol

Perlakuan (mg L ⁻¹)	2 MST		4 MST		6 MST		8 MST	
	Daun	Akar	Daun	Akar	Daun	Akar	Daun	Akar
0 (Kontrol)	2.7a	1.7b	2.9a	1.9b	3.4a	2.3b	3.8a	2.7a
50	1.1c	1.6b	2.3d	1.8bc	2.8cd	2.1bc	3.3bc	2.4b
500	2.1c	1.3c	2.2d	1.6c	2.6d	1.9c	3.2c	2.4b
1,000	1.4d	2.2a	1.6e	2.3a	1.9e	2.6a	2.2d	2.8a
500 ^(x)	2.3b	1.3c	2.5c	1.7c	2.9bc	2.0c	3.2c	2.4b
1,000 ^(x)	2.3b	1.3c	2.7b	1.6c	3.0b	1.9c	3.4b	2.2b

Keterangan: Huruf berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata berdasarkan uji Duncan taraf $\alpha = 5\%$. Jumlah sampel 125, kecuali perlakuan 1,000 mg L⁻¹ terdapat 50 planlet; ^(x) = Penyerbukan silang dengan kuncup bunga tanpa perlakuan kolkisin

Tabel 3. Persentase *protocorm* yang membentuk *plbs* dan rata-rata jumlah *plbs* yang terbentuk dari planlet hasil perlakuan kolkisin pada kuncup bunga

Kolkisin (mg L ⁻¹)	2 MST		4 MST		6 MST		8 MST	
	Persentase	Rata-rata	Persentase	Rata-rata	Persentase	Rata-rata	Persentase	Rata-rata
0 (Kontrol)	23.20b	0.58b	32.00b	0.91b	33.60b	1.01b	33.60bc	1.07b
50	4.80c	0.06b	12.80cd	0.20b	24.00b	0.58b	41.60b	1.12b
500	1.60c	0.02b	2.40d	0.02b	4.00c	0.05b	6.40d	0.09b
1,000	54.00a	2.08a	60.00a	2.64a	62.00a	3.62a	64.00a	4.60a
500 ^(x)	8.80bc	0.19b	12.80cd	0.28b	20.00b	0.49b	24.00c	0.64b
1,000 ^(x)	8.00bc	0.18b	19.20bc	0.49b	29.60b	0.77b	36.00bc	1.06b

Keterangan: Huruf berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata berdasarkan uji Duncan taraf $\alpha = 5\%$. Jumlah sampel 125, kecuali perlakuan 1,000 mg L⁻¹ terdapat 50 planlet. ^(x) = Penyerbukan silang dengan kuncup bunga tanpa perlakuan kolkisin

Skrining Planlet Berdasarkan Morfologi dan Persentase Planlet Diduga Poliploid

Skrining terhadap planlet dari perlakuan kolkisin menghasilkan dua tipe planlet, yaitu tipe planlet normal (N) dan tipe planlet diduga poliploid (DP). Tipe planlet N memiliki karakteristik morfologi yang mirip dengan planlet kontrol, sedangkan tipe planlet DP berbeda dengan planlet kontrol. Hasil skrining terhadap planlet dari perlakuan kolkisin 50, 500, dan 1,000 mg L⁻¹ dari bunga yang diserbuk sendiri, menghasilkan tipe planlet DP berturut-turut sebanyak 71.2%, 86.4%, dan 100.0%. Persentase tipe planlet DP dari perlakuan kolkisin 500 dan 1,000 mg L⁻¹ dari bunga hasil penyerbukan silang masing-masing sebesar adalah 81.6 dan 76.0%. Rahayu (2015a) melaporkan hasil induksi poliploid pada *protocorm* *P. amabilis* dan *P. amboinensis* menghasilkan tanaman poliploid sekitar 15%. Induksi poliploidi dengan kolkisin pada *protocorm* angrek yang dilakukan oleh Chaicharoen dan Saejew (1981) dengan kolkisin 500 mg L⁻¹ dan Griesbach (1981) dengan kolkisin 50 mg L⁻¹ menghasilkan sekitar 50.0% mutan tetraploid. Sementara Sarathum *et al.* (2010) dengan kolkisin 750 mg L⁻¹ dan Kerdsuwan dan Te-chato (2012) dengan kolkisin

2,000 mg L⁻¹ pada *protocorm* menghasilkan persentase mutan tetraploid angrek masing-masing sebesar 43.0 dan 60.0%. Wu *et al.* (2007) melakukan induksi poliploidi pada *Lilium* dimana perlakuan kolkisin 1,000 mg L⁻¹ pada bunga lalu diserbuk silang menghasilkan progeni mutan triploid sebesar 18.0%. Pada *Platycodon grandiflorus* dengan kolkisin 500 mg L⁻¹ dihasilkan 50.0% poliploid (Wu *et al.*, 2011) dan pada *Physalis ixocarpa* dengan kolkisin 1,200 mg L⁻¹ dihasilkan 67.0% poliploid (Torres *et al.*, 2011). Hasil induksi poliploidi yang sangat rendah dilaporkan oleh Simioni dan do Valle (2009) melalui penggunaan konsentrasi kolkisin 100 mg L⁻¹ pada tanaman *Brachiaria*, yaitu sebesar 3.9% tetraploid.

Berdasarkan uji kontras, terdapat perbedaan yang nyata pada karakter-karakter seperti OBP, daun, dan akar, antara planlet kontrol dan planlet yang diperoleh dari gabungan semua perlakuan kolkisin, kecuali pada diameter akar (Tabel 4). Perbedaan antar karakter-karakter tersebut juga ditemukan antara tipe planlet DP dengan tipe planlet N gabungan semua perlakuan kolkisin, kecuali untuk lebar daun dan panjang akar. Analisis terhadap gabungan semua perlakuan kolkisin menunjukkan bahwa tipe planlet DP memiliki panjang dan lebar OBP yang lebih besar

masing-masing 1.6 dan 1.8 kali dibandingkan planlet kontrol. Panjang dan lebar OBP tipe planlet DP pada setiap perlakuan kolkisin memiliki nilai yang lebih besar sekitar 1.2 kali dari masing-masing tipe planlet N dalam perlakuan tersebut, kecuali pada perlakuan kolkisin 1,000 mg L⁻¹ yang diserbuk sendiri (tidak terdapat tipe planlet N). Panjang dan lebar OBP tipe planlet DP pada perlakuan kolkisin 1,000 mg L⁻¹ yang diserbuk sendiri adalah masing-masing 1.7 dan 2.2 kali dari planlet kontrol.

Perubahan karakter terutama ukuran tanaman akibat perlakuan kolkisin dibandingkan kontrol telah dilaporkan pada beberapa tanaman seperti daun cenderung lebih lebar dan akar lebih pendek pada varian *Sesamum indicum* (Mensah *et al.*, 2007), kotiledon dan hipokotil lebih tebal

serta pendek pada *Capsicum annum* (Kulkarni dan Borse, 2010), ukuran daun lebih besar pada *Fragaria* (Chambers *et al.*, 2013), *Mentha mozaffarianii* (Ghani *et al.* 2014), dan jeruk Siam Simadu (*Citrus nobilis* Lour) (Yulianti *et al.*, 2014) dan rimpang yang lebih besar pada jahe (Hua *et al.*, 2011), stomata *P. amabilis* yang lebih besar (Rahayu, 2015a), serta daun dan akar yang lebih besar pada planlet *Rhynchosytilis gigantea*. Hasil uji kontras (Tabel 4) menunjukkan bahwa tipe planlet DP memiliki organ basal *protocorm* (OBP) yang lebih besar, akar lebih pendek namun diameter akar lebih besar dibandingkan kontrol, mengindikasikan adanya peningkatan diameter sel, yang diduga akibat peningkatan ploidi sel.

Tabel 4. Perbandingan beberapa karakter antara tipe planlet normal (N), tipe planlet diduga poliploidi (DP), dan kontrol

	Organ basal <i>protocorm</i> (OBP)		Daun		Akar	
	Panjang (mm)	Lebar (mm)	Panjang (cm)	Lebar (cm)	Panjang (cm)	Diameter (mm)
Kontrol	2.50	1.69	3.10	0.85	4.13	1.59
Semua perlakuan	3.57	2.69	2.18	0.70	3.07	1.67
Uji kontras	*	*	*	*	*	tn
Kontrol	2.50	1.69	3.10	0.85	4.13	1.59
N (semua perlakuan)	3.09	2.27	2.30	0.69	3.15	1.41
Uji kontras	*	*	*	*	*	tn
Kontrol	2.50	1.69	3.10	0.85	4.13	1.59
DP (semua perlakuan)	3.96	3.04	2.09	0.71	3.02	1.88
Uji kontras	*	*	*	*	*	*
N (semua perlakuan)	3.09	2.27	2.30	0.69	3.15	1.41
DP (semua perlakuan)	3.96	3.04	2.09	0.71	3.02	1.88
Uji kontras	*	*	*	tn	tn	*
N (50 mg L ⁻¹)	3.23	2.36	2.36	0.66	3.55	1.53
DP (50 mg L ⁻¹)	4.13	2.89	1.91	0.69	3.54	1.92
Uji kontras	*	*	*	tn	tn	*
N (500 mg L ⁻¹)	3.05	2.20	1.75	0.67	2.49	1.62
DP (500 mg L ⁻¹)	3.83	2.99	1.88	0.72	2.47	2.02
Uji kontras	*	*	tn	tn	tn	*
Kontrol	2.50	1.69	3.10	0.85	4.13	1.59
DP (1,000 mg L ⁻¹)	4.41	3.78	2.24	0.83	3.05	1.99
Uji kontras	*	*	*	tn	*	*
N (500 mg L ^{-1(x)})	3.26	2.46	2.19	0.73	3.07	1.32
DP (500 mg L ^{-1(x)})	3.99	3.00	2.06	0.70	3.10	1.95
Uji kontras	*	*	tn	tn	tn	*
N (1,000 mg L ^{-1(x)})	2.84	2.06	2.89	0.69	3.47	1.16
DP (1,000 mg L ^{-1(x)})	3.42	2.52	2.39	0.60	2.91	1.52
Uji kontras	*	*	*	tn	tn	*

Keterangan: tn = Tidak berbeda nyata pada taraf $\alpha = 5\%$; * = Berbeda nyata pada taraf 5 % berdasarkan uji kontras.; ^(x) = Penyerbukan silang dengan kuncup bunga tanpa perlakuan kolkisin. Pengamatan dilakukan pada lima ulangan dengan lima sampel perulangan

KESIMPULAN

Perlakuan konsentrasi kolkisin yang tinggi (2,000 mg L⁻¹) pada kuncup bunga menyebabkan kuncup bunga gagal mekar. Berdasarkan karakter morfologi, perlakuan kolkisin 50, 500 dan 1,000 mg L⁻¹ pada kuncup bunga *Phalaenopsis amabilis* mampu menghasilkan planlet yang diduga sebagai mutan poliploid berturut-turut sebesar 71.2%, 86.4%, dan 100.0%, namun untuk memastikan tingkat ploidi yang akurat diperlukan analisis jumlah kromosom.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dibiayai oleh Hibah Penelitian Desentralisasi, Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi, Kementerian Ristek dan Pendidikan Tinggi Republik Indonesia tahun 2012-2014.

DAFTAR PUSTAKA

- Atichart, P. 2013. Polyploid induction by colchicine treatments and plant regeneration of *Dendrobium chrysotoxum*. Thai J. Agric. Science 46:59-63.
- Chaicharoen, S., K. Saejew. 1981. Autopolyploidy in *Dendrobium phalaenopsis*. J. Sci. Soc. 7:25-32.
- Chambers, A.H., H. Pollard, K.M. Fol. 2013. Limitations of morphological ploidy estimation methods in *Fragaria*. J. Berry Research 3:135-149.
- Chen, W.H., C.Y. Tang, Y.L. Kao. 2009. Ploidy doubling by in vitro culture of excised protocorms or protocorm-like bodies in *Phalaenopsis* species. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 98:229-238.
- Eigsti, O.J., P. Dustin. 1957. Colchicine in agriculture, medicine, biology and chemistry. Ames, Iowa: Iowa State Coli. Press.
- Ghani, A., S.H. Neamati, M. Azizi, M.J. Saharkhiz, M. Farsi. 2014. Artificial autotetraploidy induction possibility of two Iranian endemic Mint (*Mentha mozaffarianii*) ecotypes. Not. Sci. Biol. 6:185-191.
- Griesbach, R.J. 1981. Colchicine-induced polyploidy in *Phalaenopsis* orchid. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 1:103-107.
- Hua, W.K., M.J. Hua, H.H. Ping, G.S. Lin. 2011. Generation of autotetraploid plant of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) and its quality evaluation. Pharmacogn. Mag. 7:200-206.
- Kerdsuwan, N., S. Te-chato. 2012. Effects of colchicine on survival rate, morphological, physiological and cytological characters of chang daeng orchid (*Rhynchosstylis gigantea* var. *rubrum* Sagarik) in vitro. J. Agric. Tech. 8:1451-1460.
- Kulkarni, M., T. Borse. 2010. Induced polyploidy with gigas expression for root traits in *Capsicum annuum* (L.). Plant Breed. 129:461-464.
- Lesar, H., N. Čeranič, D. Kastelec, Z. Luthar. 2012. Asymbiotic seed germination of *Phalaenopsis* Blume orchids after hand pollination. Acta Agric. Slovenica 99:1-5.
- Liu, L., Z. Li, M. Bao. 2007. Colchicine-induced chromosome doubling in *Platanus acerifolia* and its effect on plant morphology. Euphytica 157:145-154.
- Mensah, J.K., B.O. Obadoni, P.A. Akomeah, B. Ikhajiagbe, J. Ajibolu. 2007. The effects of sodium azide and colchicine treatments on morphological and yield traits of sesame seed (*Sesamum indicum* L.). African J. Biotech. 6:534-538.
- Miguel, T.P., K.W. Leonhardt. 2011. In vitro polyploid induction of orchids using oryzalin. Sci. Hort. 130:314-319.
- Nakasone, H.Y. 1960. Artificial induction of polyploidy in orchids by the use of colchicines. Dissertation. University of Hawaii. Hawaii.
- Rahayu, E.M.D., D. Sukma, M. Syukur, Irawati. 2015a. Induksi poliploidi *Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume dan *Phalaenopsis amboinensis* J. J. Smith dengan kolkisin dalam kultur in vitro. J. Agron. Indonesia 43:219-226.
- Rahayu, E.M.D., D. Sukma, S.A. Aziz, M. Syukur. 2015b. Induksi poliploidi menggunakan kolkisin secara in vivo pada bibit anggrek bulan (*Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume). Bul. Kebun Raya 18:42-48.
- Rahayu, E.M.D. 2014. Induksi poliploid *Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume dan *Phalaenopsis amboinensis* J.J. Smith menggunakan kolkisin secara in vitro dan in vivo. Tesis. Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor.
- Sarathum, S., M. Hegele, S. Tantivivat, M. Nanakorn. 2010. Effect of concentration and duration of colchicine treatment on polyploidy induction in *Dendrobium scabrilingue* L. Europ. J. Hort. Sci. 75(3):123-127.
- Simioni, C., C. B. do Valle. 2009. Chromosome duplication in *Brachiaria* (A. Rich.) Stapf fallows intraspecific crosses. Crop Breed. Applied Biotech. 9:328-334.
- Teoh, S.B. 1984. Polyploid spore formation in diploid orchid species. Genetica 63:53-59.

- Torres, V.R., F.R. Godina, R.F. Pournavab, A.B. Mendoza, G.H. Guzmán, M.H.R. Valdés. 2011. Development of tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.) autotetraploids and their chromosome and phenotypic characterization. *Breed. Sci.* 61:288-293.
- Vichiato, M.R.M., M. Vichiato, M. Pasqual, D.M. Castro, L.F. Dutra. 2007. Indução e identificação de tetraplóides em *Dendrobium nobile* Lindl. (*Orchidaceae*). *Rev. Ciênc. Agron. Fortaleza* 38:385-390.
- Wu, H., S. Zheng, Y. He, G. Yan, Y. Bi, Y. Zhu. 2007. Diploid female gametes induced by colchicines in oriental lilies. *Sci. Hort.* 114:50-53.
- Wu, Y., F. Yang, X. Zao, W. Yang. 2011. Identification of tetraploid mutants of *Platycodon grandiflorus* by colchicine induction. *Caryologia* 64(3):343-349.
- Yulianti, F., A. Purwito, A. Husni, D. Dinarty. 2014. Induksi tetraploid tunas pucuk jeruk Siam Simadu (*Citrus nobilis* Lour) menggunakan kolkisin secara *in vitro*. *J. Agron. Indonesia* 42:144-150.