

Poliploidisasi Anggrek *Vanda lobbokensis* J. J. Sm. menggunakan Kolkisin Secara *In Vivo*

In Vivo Poliploidization of *Vanda lobbokensis* J. J. Sm. Orchid Using Colchicine

Mei Masruroh^{*)} dan Lita Soetopo

Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Brawijaya University
 Jln. Veteran, Malang 65145, Jawa Timur, Indonesia

^{*)}Email: mei.masruroh@gmail.com

ABSTRAK

Vanda lobbokensis J. J. Sm. merupakan salah satu spesies anggrek asli Indonesia dengan motif bunga yang menarik dan memiliki potensi untuk dikembangkan. Mengingat *Vanda* merupakan salah satu komoditas ekspor Indonesia. Oleh karena itu, perlu dilakukan upaya untuk mengembangkan potensi anggrek *Vanda* salah satunya dengan menggunakan mutagen kimia yaitu kolkisin. Induksi kolkisin pada anggrek dengan konsentrasi tertentu dapat menghasilkan individu poliploid yang memiliki ukuran bunga yang lebih besar, bentuk bunga yang lebih bulat, dan warna bunga yang lebih pekat. Untuk itu, penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan konsentrasi yang efektif untuk menghasilkan anggrek *Vanda lobbokensis* J. J. Sm. poliploid secara *in vivo*. Penelitian dilaksanakan di CV Soerjanto Orchid, laboratorium Bioteknologi, laboratorium Pemuliaan Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya pada Bulan Januari-Juli 2018. Penelitian ini menggunakan perlakuan konsentrasi kolkisin sebanyak lima perlakuan, yaitu 0 ppm (kontrol), 1500 ppm, 3000 ppm, 4500 ppm, dan 6000 ppm. Hasil penelitian menunjukkan, induksi kolkisin pada konsentrasi 4500 dapat menghasilkan individu poliploid berdasarkan pengamatan kromosom serta didukung hasil pengamatan stomata dan morfologi.

Kata Kunci: Kolkisin, Konsentrasi, Poliploid, *Vanda lobbokensis*

ABSTRACT

Vanda lobbokensis J. J. Sm is a species of orchid native to Indonesia with florals that are interesting and has the potential to be developed. Given the *Vanda* is one of export commodities Indonesia. Therefore, efforts need to be made to develop the potential of the orchid *Vanda* one chemical mutagens using colchicine. Induction colchicine at certain concentrations with orchids can produce individual polyploids that has flower size is bigger, more rounded flower forms, flower colors and more concentrated. To that end, this research aims to get an effective concentration to produce orchids *Vanda lobbokensis* J. J. Sm. polyploids *in vivo*. The research was carried out in the laboratory, CV Soerjanto Orchid, biotechnology laboratory, plant breeding laboratory, Faculty of Agriculture-University of Brawijaya in January-July 2018. This study uses treatment colchicine treatment of five concentrations, i.e. 0 (control), ppm 1500 ppm, 3000 ppm, 4500 ppm and 6000 ppm. The results showed, colchicine induction on the concentration of 4500 can produce polyploid individual based on observation of chromosomes and support by observations of the stomata and morphology.

Keywords: Colchicine, Concentration, Poliploid, *Vanda lobbokensis*,

PENDAHULUAN

Anggrek merupakan tanaman dari keluarga monokotil terbesar dengan estimasi populasi mencapai 25.000 spesies di dunia (Hsiao *et al.*, 2008). Indonesia merupakan negara dengan jenis anggrek yang melimpah. Terdapat kurang lebih 5000 spesies tersebar di hutan-hutan seluruh Indonesia dari Sumatera hingga Papua (Suryani, 2015). Tanaman anggrek selain sebagai tanaman hias juga banyak diproduksi sebagai bunga potong. Bahkan Indonesia menjadi pengekspor anggrek potong di beberapa negara di Asia. Berdasarkan Badan Pusat Statistik (2016) produksi anggrek sebagai bunga potong pada tahun 2016 mengalami penurunan dari 21.514.789 tangkai pada tahun 2015 menjadi 19.978.078 tangkai. Namun, ekspor anggrek pada tahun 2016 mengalami kenaikan sebesar 0,23%, dari 35,94 ton pada tahun 2015 menjadi 44,12 ton di tahun 2016. Salah satu spesies anggrek asli Indonesia dengan bunga yang menarik adalah anggrek *Vanda lobbokensis* J. J. Sm.

Anggrek *Vanda lobbokensis* J. J. Sm. memiliki potensi untuk dikembangkan, mengingat masih belum banyak penelitian tentang anggrek *Vanda* terutama di Indonesia. Salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk mengembangkan potensi anggrek *Vanda* adalah dengan menggunakan mutagen kimia yaitu kolkisin. Kolkisin dapat menyebabkan penggandaan jumlah kromosom dan menghasilkan individu poliploid. Kolkisin juga digunakan pada banyak spesies seperti basil (*Ocimum basilicum* L.) (Omidbaigi *et al.*, 2010a), *Dendrobium scabrilingue* L. (Saranthum *et al.*, 2010), *Vanda Hybrid* (*Vanda limbata* Blume x *Vanda tricolor* Lindl. Var. *suavis*) (Tuwo dan Indrianto, 2011), *Curcuma Hybrid* (*Curcuma sparganifolia* x *Curcuma parviflora*) (Ketmaro *et al.*, 2012). Secara morfologi, poliploidi pada anggrek dapat menghasilkan ukuran bunga yang lebih besar, bentuk bunga yang lebih bulat, dan warna bunga yang lebih pekat (Miguel dan Leonhardt, 2011).

Pada penelitian Kerdsuwan dan Te-chato (2012) menunjukkan bahwa

pemberian kolkisin pada PLBs anggrek Chang Daeng (*Rhynchostylis gigantea* var. *rubrum* Sagarik) pada konsentrasi 0.2% selama 72 jam memiliki presentase tertinggi terhadap terbentuknya anggrek Chang Daeng tetraploid yaitu sebesar 60% dari 5 planlet. Namun, konsentrasi kolkisin yang efektif untuk induksi poliploidi anggrek *Vanda lobbokensis* J. J. Sm. belum diketahui. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui konsentrasi kolkisin yang efektif dalam induksi poliploidi anggrek *Vanda lobbokensis* J. J. Sm. perlu dilakukan.

BAHAN DAN METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di CV Soerjanto Orchid, laboratorium Bioteknologi, laboratorium Pemuliaan Tanaman Fakultas Pertanian-Universitas Brawijaya pada Bulan Januari-Juli 2018.

Bahan dan Alat Penelitian

Bahan yang digunakan meliputi bibit anggrek *Vanda lobbokensis* J. J. Sm. yang berumur \pm 3 bulan setelah aklimatisasi, kolkisin, asam asetat, aquades, aceto orcein, HCL 1 N, cat kuku bening, pupuk daun NPK (20:20:20). Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah adalah *Pantone Color Chart*, tray, penggaris, bambu, botol, injeksi spluit 1 mL, kaca peparat, *coverglass*, *waterbath*, silet, dan mikroskop Olympus.

Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan perlakuan konsentrasi kolkisin sebanyak lima perlakuan, antara lain:

- P1 : 0 ppm (kontrol)
- P2 : Konsentrasi kolkisin 1500 ppm
- P3 : Konsentrasi kolkisin 3000 ppm
- P4 : Konsentrasi kolkisin 4500 ppm
- P5 : Konsentrasi kolkisin 6000 ppm

Pengamatan dilakukan setelah 12 minggu setelah perlakuan meliputi parameter morfologi (umur muncul akar baru, jumlah akar, panjang akar, umur muncul daun baru, jumlah daun, panjang daun, lebar daun, tebal daun, warna daun, panjang tanaman) jumlah stomata,

kerapatan stomata, panjang stomata, lebar stomata, dan jumlah kromosom. Data pada pengamatan morfologi, stomata, dan kromosom dianalisis menggunakan T-Test (two tails) pada taraf 5%. Dimana data masing-masing konsentrasi pada semua parameter dibandingkan dengan data perlakuan 0 ppm atau kontrol.

Pengamatan Stomata

Tahap pengamatan stomata dilakukan dengan menggunakan daun baru yang muncul setelah perlakuan dan telah membuka sempurna. Pengamatan stomata dilakukan dengan metode Ketmaro *et al.* (2012). Permukaan bawah daun diolesi dengan cat kuku transparan dan dibiarkan mengering. Setelah itu, selotip ditempelkan pada bagian permukaan daun yang telah diolesi cat kuku, kemudian selotip ditarik dengan perlahan dan diletakkan di atas kaca objek dan preparat diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran objektif (40x). Pengamatan stomata dilakukan pada tiga bidang pandang (berdasarkan bagian preparat yang berbeda, ujung-tengah-ujung), kemudian satu stomata dipilih secara acak untuk diukur panjang dan lebarnya pada setiap bidang pandang. Foto hasil pengamatan stomata di mikroskop kemudian dianalisis menggunakan aplikasi ImageJ.

Pengamatan Kromosom

Analisis kromosom dilakukan dengan menggunakan metode Syukur *et al.*, (2013) modifikasi. Ujung akar aktif bibit *Vanda lumbokensis* J. J. Sm. dipotong sepanjang 0,5-1 cm, dan dimasukkan ke dalam tube yang sudah berisi larutan hidroksiquinolin dan direndam selama 24 jam untuk difiksasi pada suhu 4°C. Setelah 24 jam, akar dimasukkan ke dalam aquades dan direndam selama 5 menit, kemudian akar dipindahkan ke larutan asam asetat dan direndam selama 15 menit. Selanjutnya, akar dipindah ke dalam tube yang berisi campuran asam asetat dan HCL 1 N dengan perbandingan 3: 1 dan dimasukkan ke dalam *waterbath* selama 10 menit, sebelum pemakaian *waterbath* dipanaskan selama 2 jam terlebih dahulu hingga suhu 60°C. Angkat dan letakkan potongan akar pada

gelas arloji, lalu tetesi potongan akar dengan aceto orcein sebanyak 3-5 tetes dan diamkan selama 20 menit. Pindahkan potongan akar ke preparat, lalu potong ujung akar setipis mungkin dan tetesi dengan aceto orcein sebanyak 1-2 tetes, kemudian tutup dengan *coverglass*. Setelah itu, preparat dilewatkan di atas api bunsen sebanyak 3 kali. Kemudian, preparat diketuk-ketuk dengan menggunakan ujung pensil lalu disquashing atau ditekan secara halus searah jarum jam dengan menggunakan ibu jari. Kemudian, setiap sisi *coverglass* diolesi dengan cat kuku dan preparat siap diamati dengan Mikroskop Olympus dengan perbesaran 40x. Foto hasil pengamatan kromosom di mikroskop kemudian dianalisis menggunakan aplikasi ImageJ untuk dihitung jumlah kromosomnya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Identifikasi poliploidi penting dilakukan untuk mengetahui pengaruh aplikasi kolkisin terhadap tingkat ploidi tanaman. Identifikasi poliploidi dapat dilakukan dengan beberapa metode. Menurut Omezzine *et al.* (2012) poliploidi dapat diamati melalui parameter morfologi, sitologi, kimia dan fisiologi. Pengamatan morfologi berperan memberikan informasi tentang pengaruh perlakuan terhadap fenotipe tanaman yang dapat ditampilkan melalui bentuk, ukuran, dan warna, sehingga tanaman terduga poliploidi dapat dibedakan dengan tanaman diploidnya. Namun, pengamatan ini sulit dilakukan apabila tanaman yang diamati memiliki pertumbuhan yang lambat, sehingga dibutuhkan waktu yang lama untuk melihat pengaruh dari segi morfologi. Oleh karena itu, penting dilakukan pengamatan stomata dan kromosom untuk mendukung pengamatan tingkat ploidi.

Pengamatan Morfologi

Morfologi tanaman dapat digunakan untuk menganalisa tingkat ploidi suatu tanaman berdasarkan ukuran, bentuk, warna bagian-bagian tanaman yang dibandingkan dengan tanaman diploid. Pada penelitian ini pengamatan morfologi

tanaman penting adanya untuk mengetahui pengaruh atau respon tanaman terhadap pemberian perlakuan yang ditampilkan secara fenotipe. Berdasarkan hasil T-Test pada **Tabel 1** menunjukkan bahwa konsentrasi 1500 ppm berpengaruh nyata terhadap kontrol pada parameter jumlah daun, lebar daun dan tebal daun. Sedangkan, konsentrasi 4500 ppm berpengaruh nyata pada parameter umur muncul akar baru, jumlah akar, lebar daun, dan tebal daun serta konsentrasi 6000 ppm yang berpengaruh nyata pada parameter panjang akar. Sementara itu, warna daun pada semua konsentrasi didominasi oleh warna Cactus. Hal tersebut menunjukkan, bahwa induksi kolkisin hanya sebagian kecil berpengaruh nyata pada konsentrasi dan parameter tertentu saja. Hal ini dapat disebabkan karena tanaman anggrek merupakan jenis tanaman tahunan dengan pertumbuhan yang lambat terutama pada pertumbuhan daun, sehingga respon terhadap pemberian bahan kimia tidak selalu dimunculkan secara fenotipe.

Hal ini sesuai dengan Widiastoety (2007) yang menyatakan bahwa anggrek merupakan tanaman yang lambat pertumbuhannya, sehingga dibutuhkan waktu yang relatif lama untuk mengamati pertumbuhannya. Selain itu, muncul tidaknya pengaruh kolkisin secara morfologi dapat dipengaruhi oleh banyaknya sel yang terpengaruh, dimana sel-sel tersebut tidak membelah dalam waktu yang sama. Artinya, tanaman, maka sel-sel pada bagian

tersebut tidak semuanya berinteraksi dengan kolkisin, melainkan hanya sel yang sedang aktif membelah, sehingga dalam satu jaringan atau individu terdapat sel normal dan sel mutan (sel yang terpengaruh kolkisin). Selain itu, banyaknya sel mutan yang terbentuk akan mempengaruhi munculnya sifat sel mutan. Jika jumlah sel normal lebih dominan dibandingkan sel mutan, maka pengaruh kolkisin pada sel-sel tersebut tidak muncul secara morfologi. Hal ini seperti pada tanaman mixoploid. Hal ini didukung oleh Omidbaigi *et al.* (2010b) menyatakan bahwa tanaman mixoploid merupakan tanaman yang memiliki dua tingkat ploidi (diploid dan tetraploid) di dalam jaringan yang sama, artinya penggandaan kromosom tidak terjadi pada semua sel dari jaringan yang diberi perlakuan. Syukur *et al.* (2013) yang menyatakan bahwa mutasibak spontan maupun buatan biasanya berbahaya dan sel-sel yang membawa sifat mutasi yang baru akan cenderung hilang dalam persaingan dengan sel-sel normalnya.

Pengamatan Stomata

Tingkat ploidi dapat diamati dengan membandingkan jumlah, ukuran, dan kerapatan stomata tanaman terduga poliploid dengan tanaman diploid. Karakteristik stomata juga digunakan sebagai parameter untuk membedakan tingkat ploidi pada beberapa tanaman termasuk Iranian Endemic Mint *M. mozaffarianii* (Ghani *et al.*, 2014). Berdasarkan hasil T-Test pada **Tabel 2**.

Tabel 1. Hasil T-Test dan Rerata Parameter Morfologi pada beberapa konsentrasi kolkisin terhadap kontrol

Parameter	Perlakuan (ppm)									
	0		1500		3000		4500		6000	
	\bar{X}	\bar{X}	T hit.	\bar{X}	T hit.	\bar{X}	T hit.	\bar{X}	T hit.	
Umur Muncul Akar Baru	20.75	20.2	0.11 tn	17.45	0.56 tn	8.3	2.78 *	20.6	0.02 tn	
Jumlah Akar	1	0.95	0.29 tn	0.75	1.56 tn	0.5	3.25 *	0.75	1.31 tn	
Panjang Akar	2.42	1.64	1.71 tn	1.47	1.94 tn	1.54	1.76 tn	1.11	2.95 *	
Umur Muncul Daun Baru	19.3	29.9	-1.72 tn	21.35	-0.35 tn	28.6	-1.69 tn	25.35	0.93 tn	
Jumlah Daun	0.75	1.2	-2.65 *	0.9	-0.86 tn	1	-1.75 tn	0.8	-0.33 tn	
Panjang Daun	1.16	1.6	-1.53 tn	1.07	0.31 tn	1.38	-0.77 tn	1.7	-1 tn	
Lebar Daun	0.41	0.61	-2.64 *	0.45	-0.5 tn	0.61	-2.61*	0.5	0.95 tn	
Tebal Daun	0.09	0.13	-2.58 *	0.1	-0.63 tn	0.12	-2.32*	0.1	-0.3 tn	
Panjang Tanaman	3.71	4	-0.73 tn	3.55	0.5 tn	4,315	-1.56 tn	3.91	-0.46 tn	

Keterangan: * = Nyata pada taraf 5%, tn = Tidak nyata pada taraf 5%,

\bar{X} = Rata-rata; T hit. = T hitung.

Tabel 2. Nilai T-Test dan Rerata Parameter Stomata pada beberapa konsentrasi kolkisin terhadap kontrol

Parameter	Perlakuan (ppm)									
	0			1500		3000		4500		6000
	\bar{X}	\bar{X}	T hit.	\bar{X}	T hit.	\bar{X}	\bar{X}	T hit.	\bar{X}	
Jumlah Stomata	5.93	3.73	6.08*	3.33	7*	3.4	4.93*	3.93	2.93*	
Kerapatan Stomata	30.23	19.02	6.08*	16.99	7*	17.32	4.93*	20.04	2.93*	
Panjang Stomata	63.94	67.34	-1.11 tn	67.83	-0.79 tn	68.79	-1.53 tn	65.54	-0.48 tn	
Lebar Stomata	54.99	58.46	-0.75 tn	60.39	-1.28 tn	60.16	-1.46 tn	60.31	-1.11 tn	

Keterangan: * = Nyata pada taraf 5%, tn = Tidak nyata pada taraf 5%,

\bar{X} = Rata-rata; T hit. = T hitung.

menunjukkan bahwa parameter jumlah stomata dan kerapatan stomata berbeda nyata terhadap kontrol pada semua konsentrasi kolkisin. Dimana rerata jumlah dan kerapatan stomata tertinggi terdapat pada kontrol (5,93 dan 30,23 mm⁻²), sedangkan jumlah dan kerapatan stomata terendah terdapat pada konsentrasi 3000 ppm (3,33 dan 16,99 mm⁻²) yang diikuti konsentrasi 4500 ppm (3,4 dan 17,32 mm⁻²). Sementara itu, pada parameter panjang stomata dan lebar stomata tidak berbeda nyata terhadap kontrol pada semua konsentrasi.

Hal ini menunjukkan bahwa semakin banyak jumlah stomata, maka semakin tinggi kerapatan stomatanya. dan semakin sedikit jumlah stomata, maka semakin rendah kerapatan stomatanya. Hal ini sesuai dengan Gantait *et al.* (2011) yang menyatakan bahwa induksi ploidi mengarah ke kerapatan stomata yang lebih rendah, kemungkinan karena stomata dan sel epidermis lebih besar. Penelitian Noori *et al.* (2017) juga menunjukkan bahwa kerapatan stomata pada tanaman *Trachyspermum ammi* L. tetraploid lebih rendah dibandingkan diploidnya. Namun, pada parameter panjang dan lebar stomata menunjukkan pengaruh yang tidak berbeda nyata, sehingga stomata perlakuan masih tergolong diploid. Hal ini didukung oleh Russel (2004) menyatakan bahwa stomata perlakuan dengan panjang > 1,25 x panjang stomata kontrol diidentifikasi sebagai poliploidi. Sehingga berdasarkan hal tersebut, panjang stomata perlakuan belum termasuk poliploid meskipun panjang stomatanya lebih besar dari kontrol. Hal ini dikarenakan, ukuran stomata perlakuan

4500 ppm < 1,25 x panjang stomata kontrol (kurang dari 79,89 μ m). Penelitian Miguel dan Leonhard (2011) pada beberapa jenis anggrek juga menunjukkan hal yang sama, bahwa panjang stomata pada PLBs anggrek *Cymbidium*, *Dendrobium*, *Epidendrum*, *Odontioda*, dan *Phalaenopsis* > 1,25 x panjang stomata diploid atau kontrol).

Pengamatan Kromosom

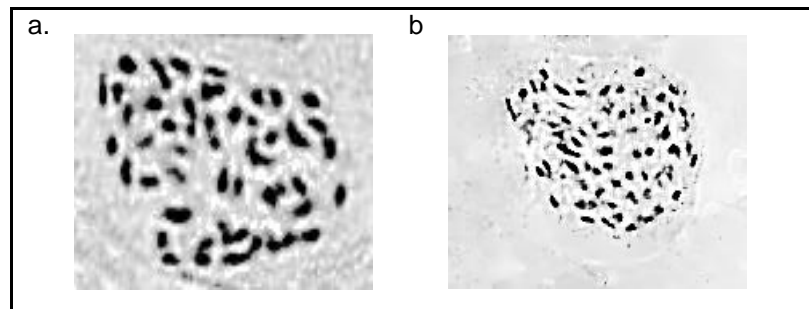
Selain pengamatan secara morfologi dan stomata, pengamatan ploidi suatu tanaman juga dapat dilakukan melalui pengamatan kromosom. Hal ini dikarenakan ploidi suatu tanaman berkaitan dengan jumlah kromosom yang ada pada sel tanaman. Oleh karena itu, pengamatan ploidi berguna untuk memberikan informasi mengenai jumlah kromosom pada setiap perlakuan. Berdasarkan T-Test pada **Tabel 3** menunjukkan hasil yang berbeda nyata pada parameter jumlah kromosom di konsentrasi 3000 ppm, 4500 ppm, dan 6000 ppm. Selain itu, pada konsentrasi 4500 ppm juga terdapat tanaman yang diduga tetraploid berdasarkan pengamatan kromosom dengan jumlah 76 kromosom atau dengan presentase sebesar 5% dari total 20 tanaman.

Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan 4500 ppm lebih optimal untuk menghasilkan tanaman poliploid dibandingkan perlakuan lainnya. Hal ini didukung oleh penelitian Omidbaigi *et al.* (2010a) yang menunjukkan bahwa autetetraploid pada tanaman basil (*Ocimum basilicum*) dihasilkan oleh

Tabel 3. Nilai T-Test dan Rerata Jumlah Kromosom pada beberapa konsentrasi kolkisin terhadap kontrol

Parameter	Perlakuan (ppm)								
	0		1500		3000		4500		6000
	\bar{X}	\bar{X}	T hit.	\bar{X}	T hit.	\bar{X}	\bar{X}	T hit.	\bar{X}
JumlahKromosom	38	40.2	-1.62 tn	45.4	-2.87*	58.6	-2.97*	43.4	-3.03*

Keterangan: * = Nyata pada taraf 5%, tn = Tidak nyata pada taraf 5%,
 \bar{X} = Rata-rata; T hit. = T hitung.

**Gambar 1.** Kromosom anggrek *Vanda lumbokensis* J. J. Sm.

Keterangan : a) Kromosom tanaman kontrol/diploid; b) Kromosom tanaman tetraploid

perlakuan pemberian kolkisin di titik tumbuh dengan konsentrasi 0,5%, dan paling efektif untuk menghasilkan autotetraploid.

Selain itu, konsentrasi kolkisin 0,5% pada durasi 4 dan 8 jam memberikan hasil terbaik, dimana 39% dan 43% eksplan menghasilkan tanaman tetraploid (Aina *et al.*, 2012). Dibandingkan dengan perlakuan lain, maka perlakuan 4500 ppm diduga dapat menghasilkan tanaman poliploid dan paling mendekati dengan konsentrasi yang optimal seperti pada penelitian lainnya, yaitu 0,5% atau 5000 ppm. Namun, berdasarkan data pengamatan yang ada. Hasil pengamatan stomata bertolak belakang dengan hasil pengamatan jumlah kromosom. Dimana diketahui bahwa panjang stomata perlakuan 4500 ppm belum termasuk poliploid karena kurang dari 1,25 x panjang stomata kontrol. Tetapi berdasarkan perhitungan kromosom, pada perlakuan 4500 terdapat tanaman yang memiliki jumlah kromosom 76 atau disebut tetraploid seperti yang ditunjukkan pada **Gambar 1**. Sehingga, diduga tanaman

tersebut tergolong mixoploid, dimana dalam satu jaringan atau tanaman terdapat dua tingkat ploidi yang berbeda, yaitu diploid dan tetraploid.

Hal ini sesuai dengan Omidbaigi *et al.* (2010b) yang menyatakan bahwa tanaman mixoploid merupakan tanaman yang memiliki dua tingkat ploidi (diploid dan tetraploid) di dalam jaringan yang sama. Selain itu, penelitian Omezzine *et al.* (2012) juga menunjukkan bahwa rata-rata panjang stomata diploid pada tanaman *Trigonella foenum-graecum* L. yaitu 13,20 μm , sedangkan rata-rata panjang stomata mixoploid yaitu 14,83 μm . Artinya, ukuran stomata mixoploid lebih besar dibandingkan diploid, namun belum termasuk poliploid karena kurang dari 1,25 x panjang stomata diploid. Sehingga, diduga sel dengan kromosom diploid lebih dominan dibandingkan sel dengan kromosom tetraploid, sehingga dari ukuran stomata maupun morfologi tidak menunjukkan indikasi poliploid, namun dari segi jumlah

kromosom, perlakuan 4500 ppm memiliki sel dengan kromosom tetraploid.

KESIMPULAN

Induksi kolkisin dengan konsentrasi 4500 ppm dapat menghasilkan anggrek *Vanda lombokensis* J. J. Sm. poliploid didukung hasil pengamatan stomata dan kromosom.

DAFTAR PUSTAKA

- Aina, O., K. Quesenberry, and M. Gallo. 2012.** *In vitro* Induction of Tetraploids in *Arachis paraguariensis*. *Plant Cell Tissue Organ Culture*. 111(2): 231–238.
- Badan Pusat Statistik. 2016.** Statistik Tanaman Hias Indonesia. Badan Pusat Statistik Indonesia.
- Gantait, S., N. Mandal, S. Bhattacharyya, and P. K. Das. 2011.** Induction and Identification of Tetraploids using *In Vitro* Colchicine Treatment of *Gerbera jamesonii* Bolus cv. Sciella. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 106 (2016): 485–493.
- Ghani, A., S.H. Neamati, M. Azizi, M. J. Saharkhiz, and M. Farsi. 2014.** Artificial Autotetraploidi Induction Possibility of Two Iranian Endemic Mint (*Mentha mozaffarianii*) ecotypes. *Notulae Scientia Biologicae*. 6 (2):185–191.
- Hsiao, Y.Y., M.F Jeng, W. C. Tsai, Y. C Chuang, C. Y. Li, C.S. Kuoh, W. H. Chen and H. H. Chen. 2008.** A novel Homodimeric Geranyl Diphosphate Synthase from the Orchid *Phalaenopsis bellina* lacking a DD (X)₂–4D Motif. *The Plant Journal*. 55 (5) :719–733.
- Kerdsuwan, N., and S. Te-chato. 2012.** Effects of Colchicine on Survival Rate, Morphological, Physiological and Cytological Characters of Chang Daeng Orchid (*Rhynchostylis gigantea* var. *rubrum* Sagarik) *In Vitro*. *Journal of Agricultural Technology*. 8 (4): 1451-1460
- Ketmaro, S., T. Taychasinpitak, A. Mongkolchaiyaphruek and S. Wongchaochant. 2012.** Effect of Colchicine on Increasing Pollen Viability in a Curcuma Hybrid (*Curcuma sparganifolia* × *C. parviflora*). *Kasetsart Journal. (National. Science.)* 46 (3) : 363 – 370.
- Miguel, T.P., and K.W. Leonhardt. 2011.** *In Vitro* Poliploid Induction of Orchids using Oryzalin. *Scientia Horticulturae*.130 (1): 314–319.
- Noori, S. A. S., M. Norouzi, G. Karimzadeh, K. Shirkoool, and M. Niazi. 2017.** Effect of Colchicine-Induced Poliploidy on Morphological Characteristics and Essential Oil Composition of Ajowan (*Trachyspermum ammi* L.). *Plant Cell Tissue Organ Culture*. 130 (3): 543–551.
- Omezzine, F., A. Ladhari, F. Nefzi, R. Harrath, M. Aouni, and R. Haoula. 2012.** Induction and Flow Cytometry Identification of Mixoploidi through Colchicine Treatment of *Trigonella foenum-graecum* L. *African Journal of Biotechnology*. 11 (98) : 16434-16442.
- Omidbaigi, R., M. Mirzaee, M.E. Hassani, and M.S. Moghadam. 2010a.** Induction and Identification of Poliploidi in Basil (*Ocimum basilicum* L.) Medicinal Plant by Colchicine Treatment. *International Journal of Plant Production*. 4 (2): 87–98.
- Omidbaigi, R., S. Yavari, M. E. Hassani, and S. Yavari. 2010b.** Induction of Autotetraploidi in Dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L.) by Colchicine Treatments. *Journal of Fruit Ornamental Plant Research*. 18 (1): 23-35.
- Russel, G.2004.** Stomatal Guard Cell Measurements using Leaf Prints. *Certified Senior Advisors Journal*. 4 (12) : 137-139.
- Saranthum, S., M. Hegele, S. Tantivivat, and M. Nanakorn. 2010.** Effect of Concentration and Duration of Colchicine Treatment on Poliploidi Induction in *Dendrobium scabrilingue* L. *European Journal of Horticultural Science*. 75 (3): 123-127.

- Suryani, R. 2015.** Outlook Anggrek. Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian Sekretariat Jenderal Kementerian Pertanian 2015 (PUSLITHORTI).
- Syukur, M., S. Sastrosumarjo, Y. Wahyu, S. I. Aisyah, S. Sujiprihati, dan R. Yuniarti. 2013.** Sitogenetika Tanaman (Edisi Kedua). IPB Pres. Bogor.
- Tuwo, M., and A. Indrianto. 2016.** Improvement of Orchid *Vanda* Hybrid (*Vanda limbata* Blume X *Vanda tricolor* Lindl. var. *suavis*) by Colchicines Treatment *In Vitro*. *Canadian Center of Science and Education*. 10 (11): 83-89.
- Widiastoety, D. 2007.** Pengaruh KNO₃ dan (NH₄)₂SO₄ terhadap Pertumbuhan Bibit Anggrek *Vanda*. *Jurnal Hortikultura*. 18(3): 307-311.