

Induksi PLB Anggrek *Vanda sumatrana* Schltr. Liar Pada Media MS dengan Penambahan BAP dan NAA serta Ploidisasi dengan Kolkisin

PLB Induction of Wild *Vanda sumatrana* Schltr. on MS Media Supplement with BAP and NAA and Ploidisation by Colchicine Treatment

Hanifah Aini^{1*)}, Mansyurdin¹⁾, dan Suwirmen²⁾

¹⁾Laboratorium Riset Genetika dan Biologi Sel, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas, Kampus UNAND Limau Manis, Padang, 25163

²⁾Laboratorium Riset Fisiologi Tumbuhan dan Kultur Jaringan, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas, Kampus UNAND Limau Manis, Padang, 25163

^{*)}Koresponden : hanief.aini@gmail.com

Abstract

The study about PLB induction of wild *Vanda sumatrana* Schltr. on MS media supplement with BAP and NAA and ploidisation by colchicine treatment was conducted from December 2014 until November 2015 at the Laboratory of Genetics and Cell Biology and Laboratory of Plant Physiology and Tissue Culture, Biology department, Faculty of Mathematic and Natural Science, Andalas University, Padang. The study aimed to 1) knowing the best concentration of *6-Benzyl amino purin* (BAP) and *α-Naphtalene acetic acid* (NAA) for *Protocorm Like Bodies* (PLB) induction from shoot tip of *V. sumatrana*, 2) knowing the PLB response of *V. sumatrana* to concentrations and soak period of colchicine and 3) find the effective concentrations and soak period of colchicine to induce tetraploid on PLB of *V. sumatrana*. Shoot tips from in-vitro cultured of *V. sumatrana* were subcultured on Murashige and Skoog (MS) medium supplement with 3 mg/l BAP + 0,5 mg/l NAA, 3 mg/l BAP and 1,5 mg/l BAP. PLB of diploid *V. sumatrana* from the best treatment were soaked in 0.05% and 0.1% colchicine for 24 and 48 hours respectively in MS liquid medium, as control were set PLB without colchicine treatment. The results showed that MS medium supplemented with 1.5 mg/l BAP was the best formula to induce PLB. The highest percentage of survival rate of PLB and percentage of survived PLB regenerated shoot was obtained from 0.05% colchicine with 24 hours soak period treatment. The effective treatment to induce tetraploid on PLB of *V. sumatrana* Schltr. was obtained from 0.05% colchicine solution for 24 hours soak period.

Keywords: chromosome, colchicine, PLB, polyploidy, *Vanda sumatrana*

Pendahuluan

Vanda sumatrana Schltr. merupakan salah satu dari 20 jenis anggrek *Vanda* yang terdapat di Indonesia (Purwanto dan Endang, 2009) dan termasuk endemik Pulau Sumatera (Comber, 2001). Jenis ini memiliki potensi untuk dijadikan sebagai tanaman hias karena bentuk dan warnanya yang menarik, namun ukuran bunganya relatif kecil jika dibandingkan dengan jenis *Vanda* budidaya lain yang sudah umum dikomersialkan.

Untuk domestifikasi anggrek ini, perlu dilakukan perbanyakan secara *in vitro*. Perbanyakan secara *in vitro* pada anggrek dapat dimulai dengan induksi pembentukan *Protocorm Like Bodies* (PLB) dengan pemberian zat pengatur tumbuh seperti Auksin, Sitokinin serta kombinasi antara keduanya pada media perlakuan. Zat pengatur tumbuh yang umum digunakan adalah *6-benzyl amino purine* (BAP), *N⁶-benzyladenine* (BA), *Thidiazuron* (TDZ), *Kinetin* (KN) dan *Zeatin* dari kelompok Sitokinin serta *Indole-3-aceticacid* (IAA), *Indole-3-butyric*

acid (IBA), 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) dan α -naphthalene acetic acid (NAA) dari kelompok Auksin (Colli dan Kerbauy, 1993; Park *et al.*, 2002; Park, Murthy dan Paek, 2003; Sheelavanthmath *et al.*, 2005). Dari sekian banyak zat pengatur tumbuh yang digunakan, BAP diketahui lebih efektif untuk pembentukan PLB (Colli dan Kerbauy, 1993) serta kombinasinya dengan NAA (Sheelavanthmath *et al.*, 2005), dengan konsentrasi yang berbeda-beda pada setiap tanaman anggrek yaitu berkisar antara 0,0005 mg/l hingga 8,0 mg/l.

Selain memperbanyak secara *in vitro*, upaya lain yang tak kalah pentingnya adalah dengan meningkatkan ukuran bunga. Menurut Charanasri (1984) *cit.* Nurmalinda *et al.* (2011), konsumen lebih menyukai bunga yang berukuran besar untuk kelompok anggrek *Vanda*. Upaya peningkatan ukuran bunga pada anggrek dapat dilakukan melalui induksi poliploid (penggandaan kromosom). Atichart dan Bunnag (2007), melaporkan induksi poliploid pada tanaman anggrek dapat memperbesar ukuran bunganya dibandingkan dengan tanaman diploid. Selanjutnya menurut Singh (2003), pada umumnya tanaman autotetraploid menghasilkan fenotip *gigas* yaitu lebih besar dari diploidnya. Upaya ini telah dilakukan pada anggrek jenis *Cattleya intermedia* (Silva *et al.*, 2000), *Dendrobium scabrilingue* L., (Sarathum *et al.*, 2010), dan *Dendrobium strebloceras* (Luvina, 2011).

Induksi poliploid pada sel-sel tanaman lebih banyak menggunakan kolkisin karena mudah larut dalam air (Suryo, 1995). Misalnya pada anggrek *C. intermedia* (Silva *et al.*, 2000), *Dendrobium secundum* (Atichart dan Bunnag, 2007) dan *D. scabrilingue* L. (Sarathum *et al.*, 2010). Konsentrasi kolkisin untuk induksi poliploid bervariasi pada setiap tanaman dan setiap organ yang diperlakukan, umumnya berkisar dari 0,02% sampai 0,1%. Lama waktu perlakuan kolkisin juga bervariasi yaitu dari 3 jam sampai 14 hari tergantung dengan cara perlakuan. Misalnya pada PLB anggrek *C. intermedia* efektif

menghasilkan tetraploid dengan konsentrasi 0,05-0,1% selama 4 hari (Silva *et al.*, 2000), 0,05% kolkisin selama satu hari pada PLB anggrek *D. secundum* (Bl.) Lindl. (Atichart dan Bunnag, 2007), 0,075% kolkisin selama 14 hari pada PLB anggrek *D. scabrilingue* L. (Sarathum *et al.*, 2010), dan 0,02% kolkisin dengan lama perendaman 6 jam pada akar *Dendrobium hybrida* (Sulistianingsih, *et al.*, 2004).

Dalam upaya memperbanyak tanaman secara *in vitro* dan mendapatkan tanaman poliploid dilakukan penelitian ini yang bertujuan untuk; 1) mengetahui konsentrasi BAP dan NAA terbaik untuk pembentukan PLB dari ujung tunas *V. sumatrana* Schltr., 2) mengetahui respon PLB anggrek *V. sumatrana* Schltr. terhadap konsentrasi dan lama perendaman dengan kolkisin dan 3) mengetahui konsentrasi dan lama perendaman PLB dengan kolkisin yang efektif menginduksi tetraploid pada anggrek *V. sumatrana* Schltr.

Metoda Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan metoda eksperimen yang dimulai dengan induksi pembentukan PLB anggrek *V. sumatrana* secara *in vitro*, media perlakuan terdiri atas MS + 3 mg/l BAP + 0,5 mg/l NAA, MS + 3 mg/l BAP dan MS + 1,5 mg/l BAP. Induksi poliploid dilakukan dengan merendam PLB pada media MS + 1 mg/L BAP tanpa agar (media cair), yang mengandung larutan kolkisin dengan konsentrasi 0,05% dan 0,1% yang sudah di sterilkan menggunakan srynge filter berdiameter 0,20 μ m. PLB diinkubasi pada suhu 25⁰ C dengan pengocokan 80 rpm, lama perendaman 24 jam dan 48 jam untuk masing-masing perlakuan (modifikasi Atichart dan Bunnag, 2007), dan inisiasi tunas PLB pada media MS + 1 mg/L BAP + 0,5 mg/L IBA (modifikasi dari Kabir *et al.*, 2013). Sebagai kontrol digunakan PLB anggrek yang tidak diberi perlakuan kolkisin. Sampel yang diinduksi dengan kolkisin berjumlah 25 PLB dengan masing-masing perlakuan ada lima ulangan. Pengamatan sitologi terhadap jumlah kromosom dilakukan dengan pembuatan

preparat ujung akar menggunakan metoda squash (Singh, 2003).

Parameter pengamatan meliputi persentase pembentukan PLB dan lama waktu pembentukan PLB, tingkat kelulusan hidup (persentase kelulusan hidup PLB dan persentase PLB hidup yang membentuk tunas), tingkat ploidi (jumlah kromosom), ukuran sel (panjang sel, lebar sel dan diameter inti sel) pada ujung akar planlet, serta beberapa ukuran planlet (tinggi planlet, diameter batang, jumlah daun dan jumlah tunas) pada planlet anggrek *V. sumatrana* yang berumur 14 minggu setelah subkultur pada media inisiasi tunas.

Untuk persentase pembentukan PLB, tingkat kelulusan hidup dan tingkat ploidi dianalisa secara deskriptif, sementara ukuran sel dan ukuran planlet dianalisis dengan uji-t pada $p=5\%$.

Hasil dan Pembahasan

Persentase pembentukan PLB

Persentase terbentuknya PLB tertinggi empat minggu setelah inkubasi diperoleh dari media MS + 1,5 mg/l BAP dengan persentase PLB yang terbentuk yaitu 87,5 % (Tabel 1).

Tabel 1. Persentase pembentukan PLB pada Media MS dengan penambahan BAP dan NAA yang berbeda empat minggu setelah inkubasi

Perlakuan	Jumlah Tunas yang Diperlakukan	Pembentukan PLB (%)
MS + 3 mg/l BAP + 0,5 mg/l NAA	8	0
MS + 3 mg/l BAP	8	0
MS + 1,5 mg/l BAP	8	87,5

Pemberian BAP dalam konsentrasi rendah efektif menginduksi pembentukan PLB (Gambar 1) dibandingkan dengan pemberian dalam konsentrasi tinggi serta penggabungan dengan NAA. Hal ini disebabkan karena BAP memiliki peranan yang sangat besar dalam pembelahan sel serta bekerja optimum pada konsentrasi yang rendah, sehingga dapat memacu pembelahan sel dengan cepat pada eksplan yang diperlakukan. Colli dan Kerbauy (1993) melaporkan bahwa pemberian

Sitokinin (BAP) mempercepat serta meningkatkan pembentukan PLB pada anggrek *Catasetum* namun tidak berefek pada pembentukan kalus, perlakuan terbaik diperoleh pada BAP dengan konsentrasi 2 mg/l setelah 30 hari inkubasi dengan pencahayaan yaitu sebesar 4.18 PLB per eksplan dari eksplan ujung akar. Sementara pemberian Auksin exogen (IAA, IBA dan 2,4 D) menurunkan pembentukan PLB pada anggrek tersebut namun meningkatkan pembentukan kalus.



Gambar 1. PLB (bagian yang dilingkari) yang terbentuk pada media MS + 1,5 mg/l BAP

Sheelavanthmath *et al.* (2005) melaporkan bahwa konsentrasi 0,001 mg/l BA efektif menginduksi PLB pada anggrek *Aerides crispum* dari eksplan protocorm dan daun, PLB yang terbentuk 49.1 PLB per eksplan, dengan waktu pembentukan 5 – 6 minggu. Perlakuan tersebut merupakan perlakuan optimum dibandingkan dengan penggunaan Sitokinin lain seperti TDZ dan Kinetin serta kombinasinya dengan Auksin. Sementara Park, Murthy dan Paek (2003) melaporkan bahwa medium MS yang ditambahkan dengan 0,0023 mg/l TDZ menghasilkan persentase pembentukan PLB tertinggi (47,2%) dari eksplan ujung akar dengan pembentukan

dua hingga enam PLB per eksplan pada anggrek *Doritaenopsis*.

Tingkat kelulusan hidup

Persentase kelulusan hidup PLB anggrek *V. sumatrana* tertinggi setelah diperlakukan dengan kolkisin yaitu pada perlakuan 0,05% kolkisin dengan lama perendaman 24 jam (Tabel 2). Atichart dan Bunnag (2007) melaporkan bahwa persentase kelulusan hidup tertinggi mencapai 78% pada PLB anggrek *D. secundum* yang diperlakukan dengan 0,05% kolkisin selama 24 jam.

Tabel 2. Persentase kelulusan hidup PLB dan persentase PLB membentuk tunas pada anggrek *Vanda sumatrana* Schltr. yang diperlakukan dengan kolkisin 14 minggu setelah subkultur pada media inisiasi tunas

Perlakuan	Jumlah PLB	Kelulusan Hidup PLB (%)	PLB yang Membentuk Tunas (%)
Kontrol	5	100	100
0,05% kolkisin selama 24 jam	5	40	100
0,05% kolkisin selama 48 jam	5	0	0
0,1% kolkisin selama 24 jam	5	20	0
0,1% kolkisin selama 48 jam	5	0	0

Semakin tinggi konsentrasi kolkisin dan semakin lama waktu perendaman dengan kolkisin terhadap PLB anggrek *V. sumatrana* menyebabkan persentase kelulusan hidupnya semakin rendah (Tabel 2). Atichart dan Bunnag (2007) melaporkan bahwa pemberian kolkisin pada konsentrasi 0,1% selama 24 jam menyebabkan kematian PLB anggrek *D. secundum* hingga 25%, 35% pada konsentrasi 0,15%, dan 60% pada konsentrasi 0,2%. Sun *et al.* (2009) melaporkan bahwa perlakuan kolkisin 0,4% menurunkan tingkat kelulusan hidup eksplan daun tanaman pear (*Pyrus communis* L.) hingga 11% pada perlakuan selama 24 jam, 19% pada perlakuan selama 48 jam dan 37% pada perlakuan selama 72 jam.

Konsentrasi kolkisin 0,1% berefek sangat toksik terhadap PLB anggrek *V. sumatrana*. Adanya PLB yang mengalami keracunan ditandai dengan perubahan warna PLB menjadi kecoklatan dan akhirnya mati. Hal serupa juga dilaporkan

oleh Sarathum *et al.* (2010) bahwa pemberian kolkisin pada konsentrasi 0,1% memberikan efek toksik yang sangat nyata pada PLB anggrek *D. scabrilingue* L., konsentrasi tersebut menimbulkan kematian PLB yang diperlakukan hingga lebih dari 60%. Pemberian kolkisin pada konsentrasi yang tinggi dan waktu perendaman yang lama memberikan efek letal terhadap PLB anggrek *Dendrobium scabrilingue* dengan ciri terjadinya perubahan warna PLB dari hijau menjadi kuning atau kecoklatan.

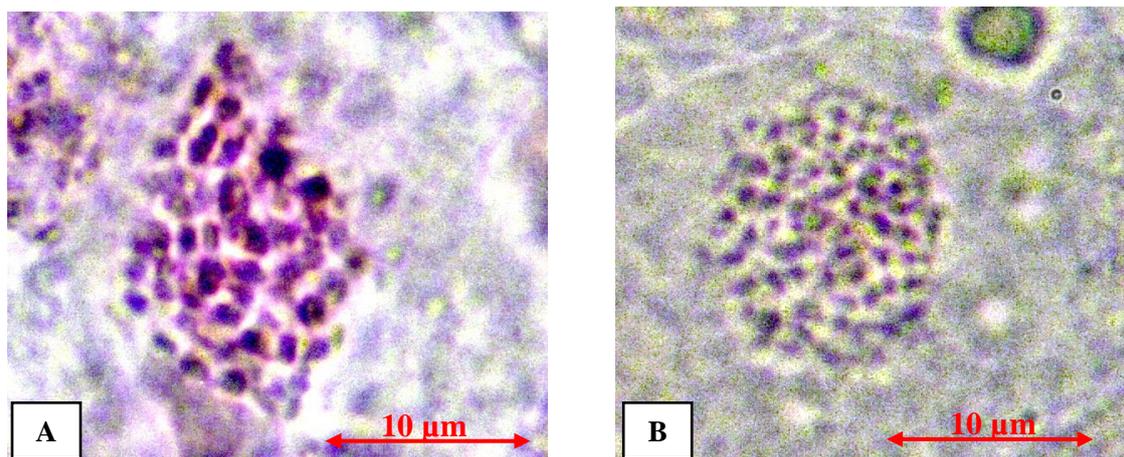
Persentase PLB anggrek *V. sumatrana* yang hidup dan membentuk tunas 14 minggu setelah subkultur pada media inisiasi tunas tertinggi diperoleh dari perlakuan kontrol dan 0,05% kolkisin dengan lama perendaman 24 jam yaitu 100%. Pada perlakuan 0,1% kolkisin dengan lama perendaman 24 jam, PLB yang hidup tidak mampu beregenerasi membentuk tunas (Tabel 2). Hasil yang didapatkan menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi kolkisin dengan lama

perlakuan yang sama menyebabkan persentase PLB membentuk tunas semakin rendah. Hal ini diduga karena konsentrasi kolkisin yang terlalu tinggi menyebabkan pertumbuhan tanaman terganggu sehingga tanaman tidak mampu beregenerasi dan berkembang ke tahap selanjutnya. Pada PLB anggrek *Dendrobium Serdang Beauty* yang beregenerasi membentuk tunas, 16 minggu setelah kultur dalam media dengan penambahan kolkisin yaitu, 88% pada konsentrasi kolkisin 0,0005%, 85% pada 0,001%, 80% pada 0,0015%, 40% pada 0,002%, dan 45% pada 0,0025% (Khosravi *et al.*, 2009). Chaicharoen *et al.* (1995) melaporkan bahwa peningkatan konsentrasi kolkisin dan waktu perendaman semakin lama menyebabkan persentase kalus *Morus alba* var. S54 yang berkembang membentuk tunas semakin menurun. Konsentrasi 0,025% kolkisin selama 3 hari kalus yang membentuk tunas sebanyak 44.20%, konsentrasi yang sama selama 5 dan 7 hari turun menjadi 32.70% dan 32.00%. Demikian juga pada konsentrasi 0,05% selama 3 hari adalah 42.760%, konsentrasi yang sama selama 5 dan 7 hari turun menjadi 35.40% dan 32.50%. Menurut Suryo (1995), perlakuan dengan kolkisin pada konsentrasi terlalu tinggi atau waktu perlakuan terlalu lama akan

menimbulkan dampak negatif pada tanaman, diantaranya kerusakan sel dan bahkan kematian tanaman.

Tingkat ploidi

Hasil pengamatan mikroskopis terhadap jumlah kromosom sel ujung akar planlet anggrek *V. sumatrana* pada perlakuan kontrol (Gambar 2. A) menunjukkan bahwa dari lima sel yang diamati jumlah kromosom yang dihitung pada masing-masing sel yaitu 38 dengan demikian dapat dikatakan bahwa jumlah kromosom tanaman diploid ($2n$) adalah 38. Kamemoto *et al.* (1964) melaporkan bahwa beberapa spesies dari genus *Vanda* pada anggrek spesies memiliki jumlah kromosom diploid ($2n$) sebanyak 38, diantaranya *Vanda corulea* Griff., *V. corulescens* Griff., *V. denisoniana* Bens. & Rchb. f. (green to yellow), *V. lautica* Guill., *V. teres* Ldl., *V. (Vanda) parishii* (Veitch & Rchb. f.) Schltr.. Spesies lain dari genus *Vanda* yang dilaporkan oleh Utami dan Hartati (2012), yaitu *V. tricolor* juga memiliki jumlah kromosom $2n = 38$. Sedangkan pada *V. denisoniana* Bens. & Rchb. f. (brown) 10 tanaman jumlah kromosomnya $2n = 76$ dan empat tanaman $2n = 38$ (Kamemoto *et al.*, 1964).



Gambar 2. Kromosom pada sel ujung akar planlet anggrek *V. sumatrana* Schltr.; A) Kontrol, B) Hasil perlakuan 0,05% kolkisin selama 24 jam.

Perlakuan 0,05% kolkisin selama 24 jam mampu menghasilkan tanaman anggrek *V. sumatrana* tetraploid (Gambar 2. B). Jika dibandingkan dengan perlakuan lain maka perlakuan tersebut merupakan perlakuan

yang efektif menginduksi tetraploid pada PLB anggrek *V. sumatrana* secara *in vitro*. Atichart dan Bunnag (2007) melaporkan bahwa 0,05% kolkisin dengan perendaman selama 24 jam merupakan perlakuan terbaik

untuk menghasilkan tanaman tetraploid pada anggrek *D. secundum*. Silva *et al.* (2000) juga melaporkan bahwa konsentrasi 0,05% dan 0,1% kolkisin selama 4 hari merupakan perlakuan yang efektif menginduksi poliploid pada anggrek *C. intermedia*. Sarathum *et al.* (2010) melaporkan bahwa kolkisin 0,075% dengan perlakuan 14 hari merupakan perlakuan terbaik untuk menghasilkan tanaman tetraploid pada anggrek *Dendrobium scabrilingue*.

Ukuran sel dan ukuran planlet

Ukuran panjang sel, lebar sel dan diameter inti sel yang diamati pada sel ujung akar tanaman hasil perlakuan 0,05% kolkisin selama 24 jam meningkat dibandingkan dengan tanaman kontrol dan berbeda nyata

berdasarkan uji-t taraf kepercayaan 5% (Tabel 3). Hasil tersebut merupakan indikasi terjadinya peningkatan ploidi pada tanaman. Hal serupa juga dilaporkan oleh Daryono (1998), pada tanaman melon kultivar *Sky Rocket* yang diberi perlakuan kolkisin dapat memperbesar luas permukaan sel ujung akar hingga 1,7 sampai 3,4 kali ukuran sel kontrol, yang diperoleh pada konsentrasi 0,1%; 0,5% dan 1% dengan lama perendaman 6 jam, pada konsentrasi 0,05%; 0,1%; 0,5% dan 1% dengan lama perendaman 12 jam. Setyowati *et al.* (2013) melaporkan bahwa konsentrasi 0,0001% kolkisin selama tiga hari nyata meningkatkan panjang, lebar dan diameter inti sel ujung akar bawang wakegi kultivar lembah palu dibandingkan dengan tanaman kontrol.

Tabel 3. Ukuran sel ujung akar planlet anggrek *Vanda sumatrana* Schltr. kontrol dan hasil perlakuan 0,05% kolkisin selama 24 jam

Ukuran	Kontrol	0,05% kolkisin selama 24 jam
Panjang Sel (μm) \pm sd	20,5 \pm 5,7 ^b	35,8 \pm 6,8 ^a
Lebar Sel (μm) \pm sd	15,1 \pm 4,8 ^b	26,1 \pm 4,3 ^a
Diameter Inti Sel (μm) \pm sd	9,3 \pm 3,8 ^b	16,0 \pm 4,9 ^a

Keterangan: Angka pada baris yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji-t pada p=5%

Planlet *V. sumatrana* hasil perlakuan kolkisin 0,05% selama 24 jam memiliki jumlah daun lebih banyak dibandingkan tanaman kontrol dan berbeda nyata berdasarkan uji-t pada taraf kepercayaan

5% (Tabel 4). Meningkatnya jumlah daun pada perlakuan tersebut merupakan indikasi morfologi terjadinya peningkatan ploidi pada tanaman dan memperkuat hasil pengamatan sitologi.

Tabel 4. Ukuran planlet anggrek *Vanda sumatrana* Schltr. kontrol dan hasil perlakuan 0,05% kolkisin selama 24 jam 14 minggu setelah subkultur pada media inisiasi tunas

Ukuran	Kontrol	0,05% kolkisin selama 24 jam
Tinggi Planlet (cm) \pm sd	0,87 \pm 0,11 ^a	1,12 \pm 0,16 ^a
Diameter Batang (cm) \pm sd	0,21 \pm 0,03 ^a	0,18 \pm 0,04 ^a
Jumlah Daun \pm sd	2,2 \pm 0,45 ^b	5,0 \pm 0 ^a
Jumlah Tunas \pm sd	1,4 \pm 0,55 ^a	4,5 \pm 3,54 ^a

Keterangan: Angka pada baris yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji-t pada p=5%

Ukuran tinggi tanaman, diameter batang dan jumlah tunas antara tanaman kontrol dengan hasil perlakuan 0,05% kolkisin dengan lama perendaman 24 jam tidak berbeda nyata berdasarkan uji-t pada taraf kepercayaan 5%. Hasil yang didapatkan ini menunjukkan bahwa peningkatan jumlah kromosom pada tanaman hasil perlakuan dengan kolkisin

belum mampu meningkatkan ukuran tinggi tanaman, diameter batang, serta jumlah tunas tanaman anggrek *V. sumatrana* secara nyata dibandingkan dengan tanaman kontrol. Hal ini diduga karena waktu pengamatan yang relatif pendek, selain itu juga diduga karena peningkatan jumlah kromosom didalam inti sel memperlama fase interfase sehingga proses pembelahan

sel juga berlangsung lambat. Sulistianingsih *et al.* (2004) melaporkan bahwa tanaman anggrek *Dendrobium* Hibrida yang diperlakukan dengan kolkisin memperlihatkan pengaruh nyata pada peningkatan diameter batang, ukuran bunga, ketebalan *sepal*, ketebalan *labellum* dan jumlah kromosom kecuali ketebalan petal. Pada anggrek *Dendrobium scabrilingue* yang dilaporkan oleh Sarathum *et al.* (2010) diketahui bahwa tanaman tetraploid hasil perlakuan kolkisin memperlihatkan ukuran planlet menjadi lebih lebar, 2-3 kali lebih tebal, diameter batang serta akar lebih meningkat dibanding tanaman kontrol setelah kultivasi selama delapan bulan.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian induksi *Protocorm Like Bodies* (PLB) dan ploidisasi pada anggrek *Vanda sumatrana* Schltr. liar dengan kolkisin secara *in vitro* didapatkan kesimpulan sebagai berikut :

1. Perlakuan terbaik untuk menginduksi pembentukan PLB pada anggrek *Vanda sumatrana* Schltr. adalah media MS + 1,5 mg/l BAP dengan PLB yang terbentuk 87.5%, empat minggu setelah subkultur.
2. Persentase kelulusan hidup PLB dan persentase PLB hidup yang membentuk tunas tertinggi diperoleh dari perlakuan 0,05% kolkisin selama 24 jam. Untuk perlakuan kolkisin dengan konsentrasi 0,05% selama 48 jam dan 0,1% selama 48 jam semua PLB yang diperlakukan mengalami kematian.
3. Konsentrasi kolkisin 0,05% dengan perendaman PLB selama 24 jam efektif untuk menginduksi PLB anggrek *V. sumatrana* menjadi tanaman tetraploid.

Ucapan Terimakasih

Terimakasih penulis ucapkan kepada Team Manajemen Dikti yang telah memberi dana awal dalam penelitian ini melalui Program Kreativitas Mahasiswa Penelitian (PKM-P), kepada kepala Lab. Riset Genetika dan Biologi Sel serta Kepala Lab. Riset Fisiologi Tumbuhan dan Kultur Jaringan

Jurusan Biologi Universitas Andalas atas fasilitas yang diberikan selama penelitian. Kepada Dr. Tesri Maideliza, Prof. Dr. Syamsuardi, Dr. Dewi Imelda Roesma, Dr. Tjong Hon Tjong, M. Idris, M.Si atas bantuan dan saran-saran selama penelitian ini berlangsung.

Daftar Pustaka

- Atichart, P dan S. Bunnag. 2007. Polyploid induction in *Dendrobium secundum* (Bl.)Lindl. by *in vitro* techniques. *Thai Journal of Agricultural Science.*, 40(1-2): 91-95.
- Chaicharoen, S., A. Satrabhandhu dan M. Khuatrachue. 1995. *In vitro* induction of poliploidy in white mulberry (*Morus alba* var. s54) by colchicine treatment. *J. Sci. Soc. Thailand.* 21: 229-242.
- Chulalaksananukul, W dan W. Chimnoi. 1999. Polyploid Induction in *Centella asiatica* (L.) Urban by Colchicine Treatment. *J. Sci. Res. Chula. Univ.* 24 (2): 55-65.
- Colli, S dan G. B. Kerbauy. 1993. Direct root tip conversion of *Catasetum* into protocorm-like bodies. Effects of auxin and cytokinin. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture.* 33: 39-44.
- Comber, J. B. 2001. *Orchids of Sumatra.* The Royal Botanic Gardens. Kew.
- Daryono, B. S. 1998. Pengaruh kolkisin terhadap pembentukan sel-sel melon tetraploid. *Buletin Agro Industri*, (5): 2 – 11.
- Kabir, M. F., M. S. Rahman., A. Jamal., M. Rahman dan M. Khalekuzzaman. 2013. Multiple shoot regeneration in *Dendrobium fimbriatum* Hook An ornamental orchid. *The Journal of Animal & Plant Sciences*, 23(4): 1140-1145
- Kamemoto, H., R. Sagarik dan S. Kasemsap. 1964. Chromosome numbers of sarcanthine orchid spesies

- of Thailand. *Nat. Hist. Bull. Siam Soc.* 20: 235-241.
- Khosravi, A. R., M. A. Kadir., S. B. Kadzemin., F. Q. Zaman dan A. E. De Silva. 2009. RAPD analysis of colchicine induced variation of the *Dendrobium Serdang beauty*. *African Journal of Biotechnology*, 8(8): 1455-1465.
- Luvina W.S, R. 2011. *Induksi poliploidi pada anggrek Dendrobium strebloceras dengan kolkhisin*. Universitas Brawijaya. Malang (Abstr).
- Nurmalinda., S. Kartikaningrum., N. Q. Hayati dan D. Widyastoety. 2011. Preferensi konsumen terhadap anggrek *Phlaenopsis*, *Vanda* dan *Dendrobium*. *J. Hort.* 21(4): 372-384
- Park, S. Y., E. C. Yeung., D. Chakrabarty dan K. Y. Paek. 2002. An efficient direct induction of protocorm-like bodies from leaf subepidermal cells of *Doritaenopsis* hybrid using thin-section culture. *Plant Cell Rep.* 21: 46-51.
- Park, S. Y., H. N. Murthy dan K. Y. Paek. 2003. Protocorm-like body induction and subsequent plant regeneration from root tip cultures of *Doritaenopsis*. *Plant Science.* 164: 919-923.
- Purwanto, A. W dan S. Endang. 2009. *Pesona kecantikan anggrek vanda*. Kasinus. Yogyakarta
- Sarathum, S., M. Hegele., S. Tantiviwat dan 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.
- Setyowati, M., E. Sulistyarningsih dan A. Purwanto. 2013. Induksi poliploidi pada kultur meristem batang bawang wakegi (*Allium x wakegi* Araki). *Ilmu Petanian.* 16(1); 58-76.
- Sheelavanthmath, S. S., H. N. Murthy., B. P. Hema., E. J. Hahn dan K. Y. Paek. 2005. High frequency of protocorm like bodies (PLBs) induction and plant regeneration from protocorm and leaf sections of *Aerides crispum*. *Scientia Horticulturae.* 106: 395-401.
- Silva, P. A. K. X. d. M. e., S. C. Jacques dan M. H. B. Zanettini. 2000. Induction and identification of polyploids in *Cattleya intermedia* LINDL. (Orchidaceae) by in vitro techniques. *Ciencia Rural, Santa Maria*, 30(1): 105-111.
- Singh, R. J. 2003. *Plant cytogenetics*. Second Edition. CRC PRESS, Boca Raton, London, New York, Washington, D.C.
- Sulistianingsih, R., Z.A. Suyanto dan E. N. Anggia. 2004. Peningkatan kualitas anggrek *Dendrobium hibrida* dengan pemberian kolkhisin. *Ilmu Pertanian*, 11(1): 13-21.
- Sun, Q., H. Sun., L. Li dan R. L. Bell. 2009. *In vitro* colchicine-induced polyploid plantlet production and regeneration from leaf explants of the diploid pear (*Pyrus communis* L.) cultivar, 'Fertility'. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, 84(5): 548–552.
- Suryo. 1995. *Sitogenetika*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Utami, D. S dan S. Hartati. 2012. Perbaikan genetik anggrek melalui persilangan intergenerik dan perbanyakkan secara *in vitro* dalam mendukung perkembangan anggrek di Indonesia. *Agrineca.* 12(2).