

Pengaruh Kolkisin Metode Semprot dan Tetes terhadap Respon Fenotipik dan Profil Kromosom *Phalaenopsis pulcherrima*

Effect of Spray and Drop Colchicine Treatment on Phenotypic Responses and Chromosome Profiles of *Phalaenopsis pulcherrima*

Nuri Lailatul Istiqomah*, Tintrim Rahayu, Gatra Ervi Jayanti

Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Malang

Jl. M.T. Haryono No. 193, Kota Malang, 65144, Indonesia

*Email: nurilailatulistiqomah@gmail.com

Diterima 12 April 2023 / Disetujui 19 Juni 2023

ABSTRAK

Kolkisin merupakan mutagen untuk memengaruhi karakter *Phalaenopsis pulcherrima* tipe bunga kecil, diharapkan bunga yang lebih besar saat fase generatif. Tujuan penelitian adalah mengamati pengaruh terbaik melalui metode dan konsentrasi kolkisin yang berbeda terhadap *Phalaenopsis pulcherrima* pada fase vegetatif. Penelitian dilakukan di Laboratorium Orchidology dan Nursery, Universitas Islam Malang. Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimen. Rancangan penelitian berupa rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan tiga ulangan dan terdiri dari perlakuan tetes, semprot, dan kombinasi (tetes dan semprot). Konsentrasi kolkisin 0,5%, 1%, 1,5% dan 2%. Hasil uji multivariate dan uji univariat menunjukkan metode dan konsentrasi kolkisin yang berbeda berpengaruh pada respon fenotipik *Phalaenopsis pulcherrima* (diameter batang, diameter akar, luas daun, ketebalan daun serta berat basah tanaman). Pada uji lanjut Games-Howell 5% perlakuan tetes dengan konsentrasi 1% merupakan perlakuan kolkisin terbaik berdasarkan indikator diameter batang, luas daun serta berat tanaman dan perlakuan tetes dengan konsentrasi kolkisin 0,5% untuk indikator ketebalan daun. Perlakuan terbaik adalah tetes dan kombinasi (tetes dan semprot) dengan konsentrasi 2% terhadap diameter akar *Phalaenopsis pulcherrima*.

Kata kunci: Mutagen, fase vegetatif, polipoidi.

ABSTRACT

Colchicine is a mutagen to the affect character of *Phalaenopsis pulcherrima*'s small flower can be bigger flowers for the generative phase. The research was to observe the best effect of different methods and concentrations of colchicine on *Phalaenopsis pulcherrima* in the vegetative phase. The research was conducted in the Orchidology and Nursery Laboratory, Universitas Islam Malang. The experimental method is a method of this research. Research Design with completely randomized design (CRD) in three replications of drip, spray, and combination (drops and sprays) with concentrations of 0.5%, 1%, 1.5% and 2% of colchicine's treatment. The multivariate and univariate test showed different methods and concentrations of colchicine effected on phenotypic response of *Phalaenopsis pulcherrima* (stem diameter, root diameter, leaf area, leaf thickness, and plant weight). In Games-Howell test 5%, drip treatment and 1% concentration was the best colchicine treatment in indicators of stem diameter, leaf area, plant weight and 0.5% concentration in leaf thickness. Drops and combinations treatment (concentration of 2%) is best treatment of root diameter. The best treatments are drops and combinations (drops and sprays) with a concentration of 2% on the root diameter of *Phalaenopsis pulcherrima*.

Keywords: Mutagen, vegetative phase, polyploidy

PENDAHULUAN

Anggrek (familia Orchidacea) merupakan tanaman hias epifit, memiliki lebih dari 28.000 spesies di seluruh dunia (Rahayu, et al., 2022). Familia orchidaceae tumbuh di lingkungan semi lembab terutama di hutan hujan tropis. Indonesia memiliki cukup banyak hutan hujan tropis tersebar kira-kira 5000 spesies anggrek dan 20 spesies diantaranya adalah *Phalaenopsis sp.* (Rahayu, 2015; Clarissa & Martin, 2019). Anggrek cukup diminati karena memiliki daya tarik tinggi. Anggrek memiliki variasi warna bunga dan bentuk bunga yang beragam dan terlihat menarik bentuk bunganya (Albab, et al., 2021). Anggrek *Phalaenopsis sp.* memiliki ciri unik yakni bunga berbentuk *moth* (semacam ngengat) dan panjang mekar bunga lebih lama daripada tipe anggrek lainnya begitu pula kelangkaannya. Pada sektor bisnis, kebutuhan anggrek akan pasar tanaman hias semakin meningkat, oleh karena itu bisnis anggrek selalu stabil. Hal ini juga menjadi peluang diperlukannya peningkatan varietas anggrek untuk memenuhi kebutuhan pasar (Damayanti, 2011; Gunawan, 2005).

Umumnya tanaman tingkat tinggi seperti anggrek mempunyai kromosom diploid, sedangkan jika tanaman mengalami perubahan pada satu set lengkap kromosomnya akibat mutasi maka tanaman mengalami polipoidi. Polipoidi dapat terjadi akibat induksi mutagen, salah satunya kolkisin. Polipoidi berarti suatu sel mempunyai satu atau lebih set kromosom melebihi jumlah set normalnya. Polipoidi terjadi akibat pembelahan sel terhambat pada tahap metafase dan kromosom pada sel mengalami duplikasi atau lipatan. Anggrek *Phalaenopsis* mempunyai jumlah kromosom $2n=38$, jika terjadi polipoidi maka kromosom akan berlipat dan bertambah (Saraswati, et al., 2016; Kadi, 2007). Anggrek yang diinduksi kolkisin akan mengalami mutasi dan mengalami pembesaran pada fenotip organ yang dituju (Hosnia, 2017; Cabahug, et al., 2022).

Penelitian ini dilakukan induksi mutagen kolkisin terhadap anggrek tipe bunga kecil (*Phalaenopsis pulcherrima*) pada masa vegetatif. Pemberian kolkisin menyebabkan bunga lebih besar daripada tanaman induk pada masa generatif

yang akan datang. Penelitian ini berbeda dengan percobaan sebelumnya yang banyak dilakukan pada biji anggrek dan pada anggrek tipe bunga sedang seperti *Phalaenopsis amabilis*, sehingga dapat bermanfaat bagi komoditas anggrek di Indonesia pada masa yang akan datang, khususnya dapat meningkatkan varietas anggrek *Phalaenopsis pulcherrima*.

METODE PENELITIAN

Persiapan Tanaman dan Larutan Kolkisin

Penelitian dilakukan di Laboratorium Orchidologi dan *Nursery*, Universitas Islam Malang. Tahap pertama, dilakukan pemilihan dan penanaman anggrek *Phalaenopsis pulcherrima* pada media tanam. Pemilihan anggrek dipilih berdasarkan kesamaan spesies, jumlah daun, umur dan tinggi tanaman. Setiap individu *Phalaenopsis pulcherrima* diletakkan pada *soft pot* yang berisi media tanam mos, Anggrek yang telah ditanam, ditempatkan pada *tray* (keranjang peletakkan pot) anggrek. Tahap kedua dilakukan pengenceran kolkisin (Biotech Agro, Indonesia) dalam setiap konsentrasi kolkisin dihitung dengan rumus:

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

Keterangan:

V_1 = Volume awal

N_1 = Konsentrasi larutan awal

V_2 = Volume yang diinginkan

N_2 = Konsentrasi larutan yang diinginkan.

Induksi Kolkisin

Pemberian kolkisin dilakukan dengan konsentrasi dan metode yang berbeda. Konsentrasi kolkisin yang digunakan termasuk dalam kisaran yang rendah karena dosis tinggi menyebabkan malformasi yang berlebihan. Konsentrasi kolkisin 0,5%, 1%, 1,5% dan 2% dengan metode tetes, semprot serta kombinasi (semprot dan tetes) dengan tiga ulangan. Induksi kolkisin dilakukan dua kali dalam seminggu. Indikator penelitian meliputi, diameter batang, diameter akar, luas daun, ketebalan daun, berat basah tanaman, jumlah tunas dan jumlah akar baru. Pengukuran menggunakan kertas millimeter blog, timbangan

analitik Portable Balance Ohaus SP-602, jangka sorong sketmat digital 6 carbon (Tekiro, Jepang).

Pemeliharaan anggrek bulan pada umumnya tetap dilakukan dengan penyiraman setiap hari, pemberian pupuk NPK growmore setiap minggu sebagai nutrisi anggrek agar tanaman tidak mengalami stress dan organ mengkerut jika diinduksi mutagen (telah dibuktikan pada uji pendahuluan), kemudian penyemprotan fungisida 2 g L^{-1} setiap minggu untuk pencegahan penyakit yang disebabkan oleh cendawan.

Pembuatan Preparat

Tahap terakhir, dilakukan pembuatan preparat sel akar. Preparat yang digunakan adalah ujung akar *Phalaenopsis pulcherrima* karena ujung akar merupakan bagian yang paling aktif membelah (Rahayu, 2016). Ujung akar yang digunakan merupakan bagian dari tanaman yang telah diinduksi kolkisin selama tiga bulan. Akar diiris setipis mungkin menggunakan silet dengan kondisi membujur dan diletakkan di gelas benda. Setelah preparat siap kemudian digunakan satu tetes pewarna *oceto-orcein* 2% (Himedia, Jepang) dan ditutup menggunakan kaca penutup. Pengamatan menggunakan mikroskop (Olympus seri CX21FSI, Jepang).

Rancangan penelitian yang dilakukan adalah rancangan acak lengkap (RAL). Digunakan uji eksperimen dalam penelitian, yakni dilakukan uji pendahuluan sebelum melaksanakan penelitian. Uji pendahuluan dilakukan untuk menentukan pemeliharaan anggrek yang tepat jika diinduksi mutagen sehingga memungkinkan tidak ada faktor lain yang memengaruhi penelitian. Analisis data dilakukan dengan bantuan SPSS 32x64 bit.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Respon Fenotipik Tanaman *Phalaenopsis pulcherrima*

Induksi kolkisin berpengaruh pada fenotipik tanaman karena terjadi proses polipoidasi dalam sel. Sel yang membesar akan memengaruhi organ tanaman sehingga organ tanaman menjadi lebih besar. Hasil uji multivariat, pemberian metode dan

konsentrasi yang berbeda berpengaruh pada indikator penelitian (respon fenotipik) tanaman anggrek *Phalaenopsis pulcherrima* secara simultan. Berdasarkan uji univariat, perbedaan metode pemberian kolkisin dan konsentrasi kolkisin berpengaruh pada indikator diameter batang, diameter akar, luas daun, ketebalan daun, berat tanaman tetapi tidak berpengaruh pada jumlah akar dan jumlah tunas.

Diameter Batang

Hasil Penelitian didapatkan pengaruh perbedaan metode dan konsentrasi kolkisin pada indikator batang *Phalaenopsis pulcherrima* melalui uji univariat. Uji Games-Hawell untuk melihat berbeda nyata antar perlakuan yang signifikan, disajikan pada Gambar 1. Metode tetes dengan konsentrasi kolkisin 1% adalah perlakuan paling unggul dalam meningkatkan laju pertumbuhan (Gambar 1) dibandingkan perlakuan lainnya, berdasarkan nilai rata-rata. Metode tetes lebih unggul dibandingkan semprot yang diduga cenderung lebih sensitif terhadap penguapan. Berdasarkan penelitian sebelumnya (Sari et al., 2017), organ tanaman yang diamati ditutup menggunakan plastik setelah ditetesi kolkisin untuk meminimalisir penguapan.

Penggunaan metode pada titik tumbuh dan kesesuaian konsentrasi akan mencegah pembentukan serabut-serabut gelondong dan pemisahan kromosom tanpa pembentukan dinding sel sehingga kromosom pada sel secara aktif mengganda. Polipoidi meningkatkan ukuran sel sehingga ukuran pada berkas pengangkut *floem* dan *xilem* juga membesar. Diameter batang mengalami peningkatan sehingga pengangkutan hasil fotosintesis, unsur hara dan air meningkat.

Diameter Akar

Hasil Penelitian didapatkan pengaruh perbedaan metode dan konsentrasi kolkisin pada indikator akar *Phalaenopsis pulcherrima* melalui uji univariat. Uji Games-Hawell untuk melihat berbeda nyata antar perlakuan yang signifikan (Gambar 1). Metode kombinasi tetes dan semprot dengan konsentrasi 2% dan metode tetes dengan

konsentrasi 2% (Gambar 1) merupakan perlakuan terbaik pada indikator diameter akar. Perlakuan tersebut tidak berbeda nyata dengan metode tetes dengan konsentrasi kolkisin 2% pada indikator akar. Hal ini menunjukkan metode tetes dan kombinasi semprot dan tetes lebih unggul daripada metode semprot, serta konsentrasi yang lebih tinggi memberi efek yang lebih tinggi pada indikator diameter akar *Phalaenopsis pulcherrima*. Sama halnya dengan indikator diameter batang, pada indikator diameter akar terjadi polipoidi menyebabkan hilangnya mikrotubulus sehingga pembentukan sel multinukleat lebih sering daripada terhentinya mitosis pada metafase, pembentukan dinding primer dan sekunder terganggu, serta berkas pengangkut *floem* dan *xylem* pada akar lebih aktif membesar daripada batang.

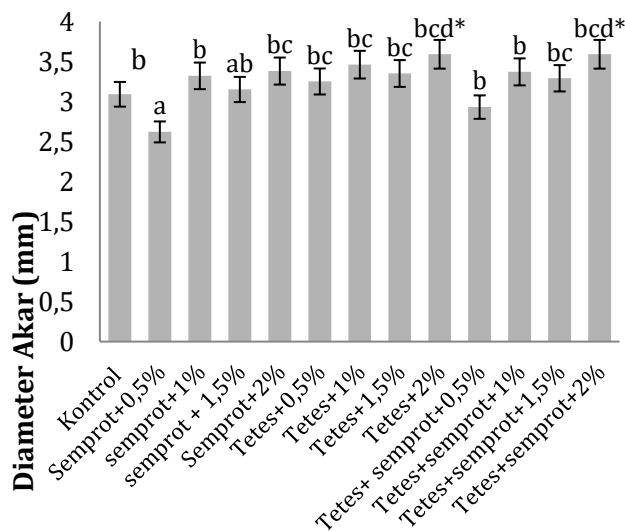
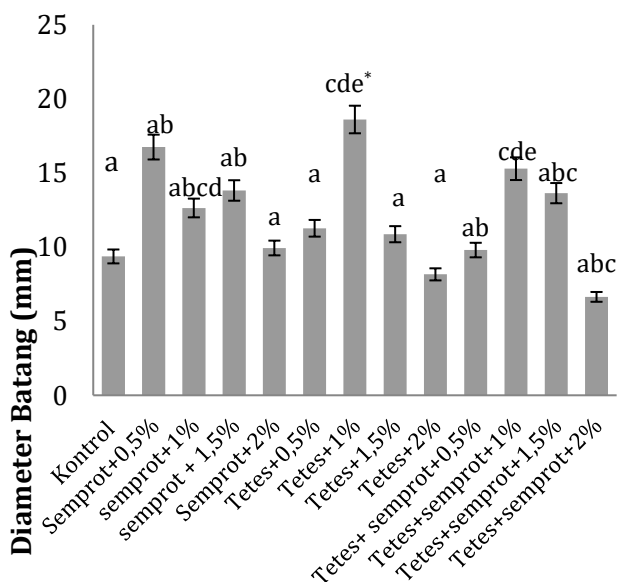
Luas Daun

Uji Gomes-Howell 5% pada Gambar 1 didapatkan perlakuan metode tetes dengan konsentrasi 1% berbeda nyata dengan perlakuan lainnya serta merupakan perlakuan dengan nilai

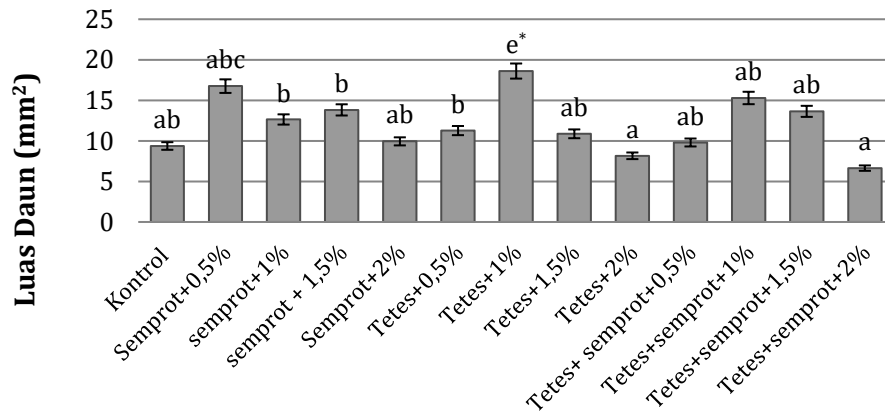
rata rata tertinggi daripada perlakuan lainnya. Sedangkan perlakuan metode tetes dan semprot dengan konsentrasi 2% merupakan nilai rata rata terendah dan mengalami penurunan. Konsentrasi yang lebih tinggi memungkinkan sel mengalami kerusakan akibat tingginya konsentrasi sehingga berpengaruh negatif pada luas daun.

Induksi kolkisin pada tanaman menyebabkan pembentukan benang benang spindel atau benang mikrotubulus terhambat dengan cara mengikat *beta-tubulin* selama siklus sel. Kolkisin menghambat pembentukan *bouquet* (klaster telomer) pada fase profase pada meiosis. Hal tersebut dapat berlaku untuk pembelahan sel secara mitosis (Arumyngtias, 2019).

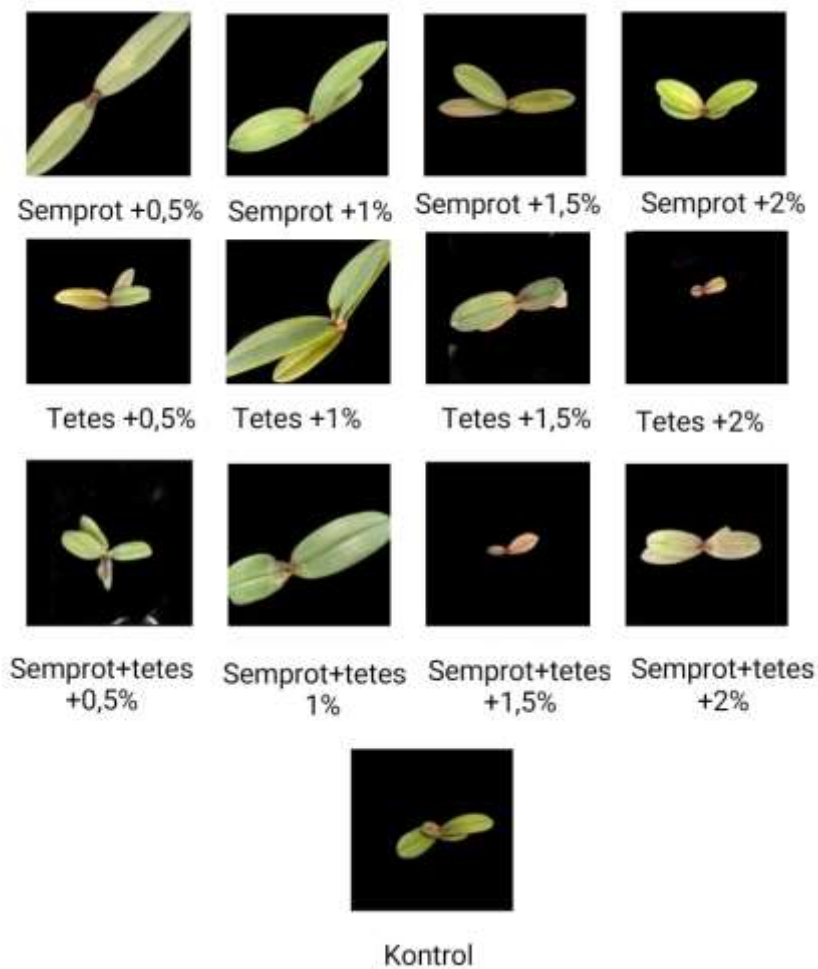
Umumnya luas daun meningkat karena bertambah banyaknya jumlah sel daun tetapi bisa juga karena polipoidi (Rochmat, et al., 2016; Baker, et al., 2017). Jika diinduksi kolkisin sel daun akan bertambah lebar dan luas sehingga fenotip daun akan bertambah luas. Gambar 2 menunjukkan fenotip daun yang diberi kolkisin dengan konsentrasi yang sesuai (konsentrasi 1%) pada metode tetes maka daun terlihat lebih luas dari pada perlakuan lainnya.



Pengaruh Kolkisin Metode Semprot dan Tetes terhadap Respon Fenotipik dan Profil Kromosom *Phalaenopsis pulcherrima*



Gambar 1. Rata-rata diameter batang, diaeter akar dan luas daun tanaman anggrek pada metode dan konsentrasi kolkisin berbeda pada 56 HSP (Hari Setelah Perlakuan). Huruf yang sama antar perlakuan menunjukkan tidak berbeda nyata. Perlakuan terbaik ditandai dengan simbol bintang.



Gambar 2. Fenotip daun *Phalaenopsis pulcherrima* setelah diinduksi kolkisin

Ketebalan Daun

Gambar 3 pada indikator ketebalan daun, metode tetes dengan konsentrasi 0,5% menunjukkan perlakuan dengan pengaruh tertinggi berdasarkan nilai rata-rata. Uji Games-Howell 5% pada metode tetes dengan konsentrasi 0,5% tidak berbeda nyata dengan metode tetes pada konsentrasi 1%

Konsentrasi kolkisin yang lebih rendah (konsentrasi kolkisin 0,5% dan 1%) lebih unggul karena memungkinkan efektifitas pembesaran pada ketebalan daun (akibat mutasi) lebih tinggi, maka dampak polipoidi pada daun cenderung lebih rendah dibandingkan dengan akar tanaman. Kolkisin yang diberikan pada setiap individu tanaman tidak memengaruhi semua sel tanaman tetapi kadang hanya sebagian sel saja (Mahyuni, et al., 2015). Sama halnya dengan indikator luasa daun, pada ketebalan daun konsentrasi yang lebih tinggi memungkinkan sel mengalami kerusakan sehingga berdampak negatif pada penambahan ketebalan daun anggrek. Hal ini disebutkan pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Pradana dan Hartatik (2017) pada tanaman Terung (*Solanum melongena* L.).

Polipoidi pada organ tanaman ataupun tiap sel berbeda tergantung sensitivitas tiap organ dan sel tersebut. karena respon yang berbeda antara daun dan akar terhadap mutasi. Lain halnya indikator luas daun, ketebalan daun lebih khusus pada kutikula dan jaringan palisade yang secara garis besar berpengaruh pada tebal daun. Jaringan palisade merupakan jaringan seperti tiang pada daun (Humoen, et al., 2020). Polipoidi menyebabkan seluruh sel mengalami pembesaran, karena sel membesar maka jaringan palisade yang mendominasi daun juga akan membesar. Daun menjadi lebih tebal akibat polipoidi jika diberi konsentrasi kolkisin yang sesuai (Wang, et al., 2019; Rochmat, et al., 2016).

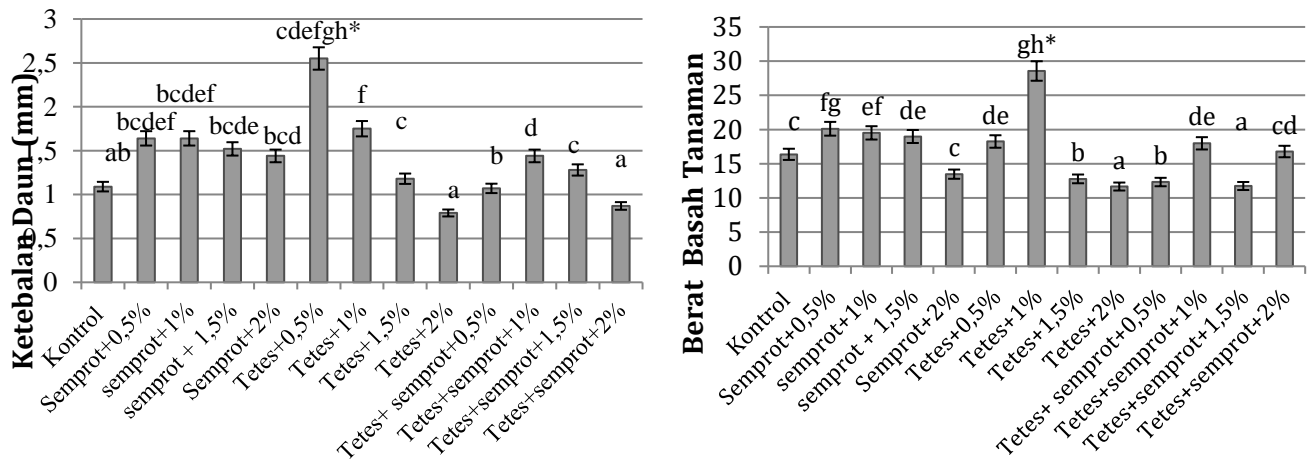
Jumlah Akar dan Jumlah Tunas

Pada jumlah tunas data statistik menunjukkan tidak berpengaruh nyata. Hasil tersebut tidak menunjukkan adanya hubungan antara metode dan konsentrasi larutan kolkisin terhadap indikator jumlah tunas. namun pada penelitian sebelumnya oleh Mahyuni (2015) pemberian kolkisin yang dilakukan pada tanaman binahong melalui metode tetes dengan konsentrasi 0,025%, 0,05%, 0,075% dan 0,1% membuktikan bahwa peningkatan konsentrasi kolkisin dapat menyebabkan penurunan persentase pembentukan akar dan tunas. Hal tersebut karena tingkat penurunan pembelahan sel yang dihasilkan dari gangguan fisiologis disebabkan oleh kolkisin (Swandara, et al., 2012; Mahyuni, et al., 2015)

Berat Basah Tanaman

Nilai rata-rata indikator berat basah tanaman merupakan akumulasi dari seluruh organ tanaman, sehingga biasanya berbanding lurus dengan indikator penelitian lainnya. Analisis multivariat membuktikan adanya pengaruh secara siltultan antar indikator penelitian (berat basah, diameter batang, diameter akar, luas daun dan ketebalan daun) pada metode dan konsentrasi kolkisin yang berbeda. Perlakuan terbaik pada berat basah tanaman (Gambar 3) adalah metode tetes dengan konsentrasi 1% dan metode tetes dengan konsentrasi 0,5% (Gambar 3).

Kolkisin memengaruhi fenotip tanaman seperti diameter akar, batang dan daun. Tanaman hasil induksi kolkisin berpenampilan kekar karena terjadi peningkatan kromosom didalam sel sehingga dapat meningkatkan berat tanaman, namun pemakaian kolkisin dengan konsentrasi yang tinggi dalam waktu yang lama akan menyebabkan pertumbuhan tanaman terhambat atau dapat pula menyebabkan kematian. Hal tersebut kemudian berpengaruh pada berat basah tanaman mengalami kenaikan atau penurunan (Rochmat, et al., 2016).



Gambar 3. Rata-rata ketebalan daun dan berat basah tanaman anggrek pada metode dan konsentrasi kolkisin berbeda pada 56 HSP (Hari Setelah Perlakuan). Huruf yang sama antar perlakuan menunjukkan tidak berbeda nyata. Perlakuan terbaik ditandai dengan simbol bintang.

Profil kromosom sel akar *Phalaenopsis pulcherrima* Hasil Induksi Kolkisin

Identifikasi profil kromosom pada sel anggrek menunjukkan adanya perbedaan antara sel kontrol dan sel yang sebelumnya diberi perlakuan kolkisin (Gambar 4). Inti sel terlihat lebih kecil dan mengalami pembelahan secara mitosis pada Gambar 4 (A). Tanaman tanpa diberi kolkisin tidak mengalami polipoidi dan akan sama seperti sel tanaman anggrek pada umumnya (tanaman sebelum mutasi) serta mengalami pembelahan sel. Kolkisin merupakan mutagen anti mitosis atau inhibitor mitosis, jika diberi kolkisin sel tidak mengalami pembelahan tetapi mengalami penggandaan kromosom (Amnah, 2021).

Sel akar anggrek yang diinduksi kolkisin (Gambar 4) mengalami polipoidi (sel menunjukkan adanya penggandaan kromosom) dan tidak ada pembelahan sel yang ditemukan, sedangkan sel yang tidak diinduksi kolkisin mengalami pembelahan sel (Gambar 4 A). Sel akar hasil induksi kolkisin mengalami tingkat penurunan pembelahan sel yang dihasilkan dari gangguan fisiologi yang disebabkan oleh kolkisin memungkinkan terhambatnya pembelahan sel selama masa mutasi (Swandara, et al., 2012).

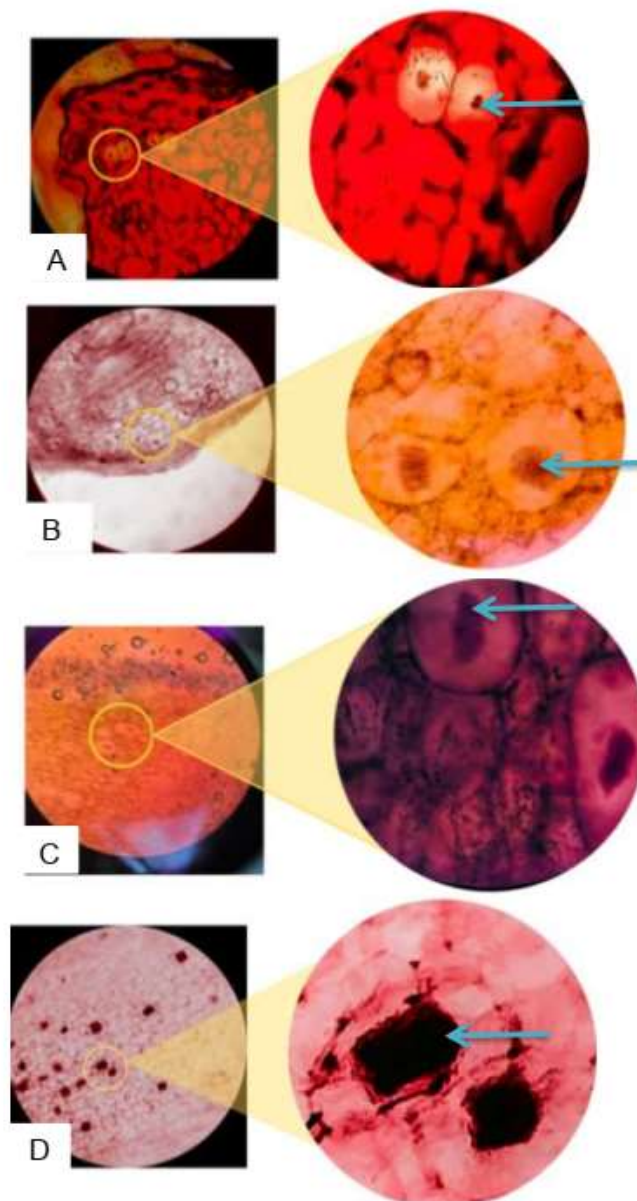
Pemberian kolkisin secara fisiologis menyebabkan terhambatnya kerja mikrotubulus, selanjutnya menghambat terbentuknya benang spindel. Mikrotubulus tidak terbentuk, maka kromosom yang sudah berpisah dari sister kromatidnya tidak tertarik ke arah kutub berlawanan dan mengalami gagal berpisah akibatnya kromosom mengalami penggandaan tetapi tidak diikuti dengan pembelahan sel (Saraswati, et al., 2016).

Kromosom pada Gambar 4 (C) terlihat bergerombol dan menyebar. Gambar sel yang diperbesar jika dihitung terdapat kromosom (titik hitam dalam sel) lebih dari 38 kromosom (lebih dari 2n, kromosom awal *Phalaenopsis pulcherrima*). Sel pada Gambar 4 (C) terdapat kromosom yang terlihat jelas, berupa titik titik yang bergerombol. Ukuran sel pada pada Gambar 4 (B) terlihat sedikit lonjong, terdapat kromosom berupa titik hitam menyebar, terdapat kromatid memanjang. Telihat pada Gambar 4 (D) sel berbentuk lonjong dan terlihat lebih besar inti selnya dari pada yang lainnya, inti sel hampir memenuhi seluruh sel. Kromosom pada Gambar 4 (D) tidak tampak jelas karena penggandaan kromosom terlalu tinggi, sehingga warna hitam terlihat menyatu. Hal ini menunjukkan metode yang

berbeda akan memengaruhi profil polipidi tiap sel akar.

Metode tetes dan metode kombinasi (semprot dan tetes) lebih unggul dibandingkan semprot yang diduga cenderung lebih sensitif terhadap penguapan, sehingga kedua metode tersebut cenderung lebih efektif dapat meningkatkan polipoidi pada sel daripada perlakuan semprot (Sari, et al., 2017). Berdasarkan penelitian sebelumnya oleh Sari (2017) pada tanaman sutra bombay (*Portulaca grandiflora hook*) dilakukan penutupan menggunakan plastik

selama beberapa waktu setelah organ tanaman ditetesi kolkisin agar menimalisir penguapan. Gambar 4B (metode tetes) dengan metode kombinasi semprot dan tetes (Gambar 4 D) menunjukkan kemiripan sel. Kedua sel tersebut berbentuk lonjong dan terlihat besar, tetapi inti sel pada induksi kolkisin metode kombinasi semprot dan tetes (Gambar 4 D) terlihat lebih besar dari pada metode tetes (Gambar 4 B). Hal tersebut berbanding positif berdasarkan fenotip diameter akar bahwa perlakuan kolkisin terbaik adalah metode kombinasi (semprot dan tetes).



Gambar 4. Mikrograf profil kromosom pada kontrol / sel mitosis (A) dan perlakuan kolkisin / sel polipoidi: Metode tetes (B), metode semprot (C), metode semprot dan tetes (D).

KESIMPULAN

Perbedaan metode induksi kolkisin dapat memengaruhi respon fenotip tanaman. Konsentrasi kolkisin yang lebih tinggi memungkinkan terhambatnya respon polipoidi pada fenotipik tanaman anggrek, namun pada fenotip akar konsentrasi kolkisin yang lebih tinggi memungkinkan polipoidi lebih tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

- Albab, M. N., Rahayu, T., & Jayanti, G.E. (2021). Karakterisasi Bunga Tertua Dendrobium dalam Menghasilkan Variasi Fenotipe Baru Melalui Teknik Hibridisasi. *Buletin Anatomi dan Fisiologi*, 6(2), 203-211.
- Amnah, A.Z. (2021). *Determinasi Kapasitas Penginduksi Polipoid Bio-Chataranthine dengan Analisis Flow Cytometry pada Dengen (Dillenia serrata)* [Universitas Islam Negeri Alaudin Makasar]. <http://repositori.uin-alauddin.ac.id/id/eprint/1932>
- Arumyngtias, E.L. (2019). Mutasi, Prinsip Dasar dan Konsekuensi. UB press. <http://www.ubpress.ub.ac.id>
- As'adah, M., Rahayu, T. & Hayati, A. (2016). Metode Pemberian Kolkisin Terhadap Respon Morfologis Tanaman Zaitun (*Olea europae* L.). *Jurnal Ilmiah Biosainstropis (Bioscience-Tropic)*, 1(2),46-52. <https://doi.org/10.33474/e-jbst.v2i1.68>
- Baker, R.L., Yarkhunova, Y., Vidal, K.(2017). Polyploidy and the relationship between leaf structure and function: implications for correlated evolution of anatomy, morphology, and physiology in Brassica. *BMC Plant Biol*, 17(3). <https://doi.org/10.1186/s12870-016-0957-3>
- Cabahug, R.A.M., Tran, M.K.T.H., Ahn, Y-J. & Hwang, Y-J. (2022). Retention of Mutations in Colchicine-Induced Ornamental Succulent Echeveria 'Peerless. *Plants*, 11(24),3420. <https://doi.org/10.3390/plants11243420>.
- Clarissa, O., & Martin H. (2019). Taman Wisata Dan Konservasi Anggrek Nusantara. *Jurnal Sains, Teknologi, Urban, Perancangan, Arsitektur*, 1(1),408-420. <https://journal.untar.ac.id/index.php/jstupa/article/view/3966/3552>
- Damayanti, E. (2011). Untung Besar Budidaya Tanaman Anggrek. Araska: Yogyakarta.
- Humoen, M.,I., Melati, M. & Aziz, S.A. (2020).. Respon Pertumbuhan dan Perkembangan Tanaman Kedelai (*Glycin Max* L.) terhadap Pemberian Cekaman Naungan dan Kekeringan. *Jurnal Ilmu Pertanian dan Lingkungan*, 1(1),32-38. <https://stikessantupaulus.e-journal.id/ciwal/article/view/96>
- Kadi, A. (2007). Manipulasi Polipoidi Untuk Memperoleh Jenis Baru yang Unggul. *Jurnal Oseanografi*, 32(4),1-11. [http://oseanografi.lipi.go.id/dokumen/osean_a_xxxii\(4\)1-11.pdf](http://oseanografi.lipi.go.id/dokumen/osean_a_xxxii(4)1-11.pdf)
- Kundariati, M., Wulan, R.,C. & Sudrajat., A.,K. (2018). Kajian Polipoidi Ikan Sepat (*Trichogaster trichopterus*) pada Tiga Ketinggian Tempat Berbeda di Daerah Banyuwangi, Malang dan Batu dengan Metode Perhitungan Nukleus. *Applied Technologi and Computing Science Journal*, 1(2),76-85. <https://doi.org/10.33086/atcsj.v1i2.855>
- Manzoor, A., Ahmad, T., Bashir, M. A., Hafiz, I. A., & Silvestri, C. (2019). Studies on colchicine induced chromosome doubling for enhancement of quality traits in ornamental plants. *Plants*, 8(7), 194.
- Mahyuni, R., Girsang, E.S.B. & Hanafiah, D.S. (2015). Pengaruh Pemberian Kolkisin Terhadap Morfologi dan Jumlah Tanaman Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis.). *Jurnal Agroteknologi*, 4 (1),1815-1821.
- Maryati. (2012). *Pengaruh Kolkisin Terhadap Fenotipe Pertumbuhan Awal dan Jumlah Kromosom Tanaman Sirsak (Annona muricata L.)* [Program Studi Agroteknologi

- Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret Surakarta]. <https://digilib.uns.ac.id>
- Rahayu. (2015). Konservasi Anggrek Bulan (*Phalaenopsis* sp.) di Pusat Konsevasi Tumbuhan Kebun Raya-LIPI, Bogor. *e-journal LIPI*, 1(6), 1847-1850. DOI:10.13057/psnmbi/m010816
- Rahayu, T., Jayanti, G.E., & Agisimanto, D. (2022). Indole-3-butyric acid immediately induced adventitious root of *Dendrodium milla nayla* x *Dendrobium striaenopsis* planted on coco-hust and wood charcoal. *Berkala Penelitian Hayati*, 28(1), 39-43.
- Saraswati, D.R., T., Rahayu, & A., Hayati. (2016). Kajian Pemberian Kolkisin dengan Metode Tetes Terhadap Profil Polipoidi Tanaman Zaitun (*Olea Europaeae*). *Jurnal Biosainstropis*, 2(2),24-29. <https://doi.org/10.33474/e-jbst.v2i2.53>
- Sari B.P., Karno & S. Anwar (2017). Karakteristik morfologi dan sitologi tanaman Sutra Bombay (*Portulaca grandiflora hook*) hasil poliploidisasi dengan kolkisin pada berbagai konsentrasi dan frekuensi aplikasi. *Jurnal Agro Complex*, 1(2),39-48. <https://doi.org/10.14710/joac.1.2.39-48>
- Swandra, E., Idris M. & Surya, N. W. (2012). Multiplikasi Tunas Andalas (*Morus macroura* Miq. var. *macroura*) dengan Menggunakan Thidiazuron dan Sumber Eksplan Berbeda secara In Vitro. *Jurnal Biologi Universitas Andalas*, 1(1), 63-68. <https://doi.org/10.25077/jbioua.1.1.%25p.2012>
- Rochmat, M.S., Rahayu, T. & Laili, S. (2017). Pengaruh Pemberian Berbagai Konsentrasi Kolkisin dan Lama Perendaman Terhadap Respon Fenotipik Zaitun (*Olea Europaea*). *Jurnal Biosainstropis*, 2(2), 36-41. <https://doi.org/10.33474/e-jbst.v2i2.55>
- Suyasna. (2022). Kultur In Vitro dan Mutagenesis Tanaman Nilam. Syiah Kuala Lumpur press. <https://www.unsyiapress.unsyiah.ac.id>
- Tinambunen, R.F. & Abdullah, H. (2018). The Effect of Planting Mediat And The Use Hyponex Fertilizer on The Growth Of Moon Orchid Plantlet (*Phalaenopsis amabilis*) in Aclimatization Stage. *Jurnal Pendidikan Biologi Unimed: Nomer Konferensi*, 2656-1670. <http://digilib.unimed.ac.id/id/eprint/35525>
- Pradana, D.A. & Hartatik, S. (2019). Pengaruh Kolkisin Terhadap Karakter Morfolgi Tanaman Terung (*Solanum melongena* L.). *Jurnal Berkala Ilmiah Pertanian*, 2(2), 155-158. <https://doi.org/10.19184/bip.v2i4.16314>
- Wang L., Ji Y., Hu Y., Hu H., Jia X. & Jiang M. (2019). The architecture of intra organism mutation rate variation in plants. *PLoS Biol*, 17(4),e300019.<https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3000191>