

## Induksi Mutasi Secara In Vitro Anggrek *Dendrobium gabriella* Suryajaya Melalui Pemberian Kolkisin

Masluha Dian Vega Amanda<sup>1)</sup>, Parawita Dewanti<sup>2,3\*)</sup>, Purnama Okviandari<sup>3)</sup>, Bambang Sugiharto<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>Program Studi Agroteknologi, Universitas Jember, Indonesia

<sup>2)</sup>Program Studi Agronomi, Universitas Jember, Indonesia

<sup>3)</sup>Center for Development of Advanced Science and Technology (CDAST), Universitas Jember, Indonesia  
Jl. Kalimantan Kampus Tegalboto No. 37, Jember, Jawa Timur 68121, Indonesia

<sup>\*)</sup>Correspondence author: [parawita.faperta@unej.ac.id](mailto:parawita.faperta@unej.ac.id)

### Abstrak

*Dendrobium* sp. merupakan tanaman yang masuk ke dalam famili *Orchidaceae*, memiliki variasi jenis, bentuk, dan warna bunga dengan kesegaran relatif lama. Induksi mutasi bagian dari upaya pemuliaan tanaman yang dilakukan untuk mendapatkan tanaman dengan sifat yang lebih baik. Kolkisin sebagai agen antimitotik digunakan dalam pemuliaan untuk menginduksi penggandaan kromosom, diaplikasikan pada eksplan yang memiliki jaringan aktif melakukan pembelahan. Tujuan penelitian untuk mengetahui konsentrasi kolkisin yang optimal terhadap pertumbuhan anggrek *Dendrobium gabriella suryajaya* secara *In vitro*. Penelitian dilakukan di Laboratorium CDAST Universitas Jember, waktu penelitian pada bulan Maret 2022 – Juli 2022. Metode yang digunakan yaitu perendaman eksplan *protocom likes bodies* (plb) umur 3 bulan pada larutan kolkisin menggunakan 4 taraf konsentrasi: 0%, 0,02%, 0,04% dan 0,06% dengan durasi perendaman selama 24 jam. Data yang telah diperoleh kemudian dianalisis menggunakan analisis *Standart Error Mean* (SEM). Hasil penelitian menunjukkan perlakuan 0,02% memberikan rata-rata terbaik pada peningkatan tinggi tanaman, jumlah tunas, jumlah daun dan jumlah akar. Variasi warna planlet terjadi pada perlakuan 0,02%, 0,04% dan 0,06% yang menghasilkan warna planlet hijau kekuningan, albino dan hijau keputihan.

**Kata kunci:** Antimitotik, *Dendrobium* sp., kromosom, variasi warna.

## Mutation Induction Through In Vitro of *Dendrobium gabriella* Suryajaya Through Addition of Colchicine

### Abstract

*Dendrobium gabriella suryajaya* is a plant that belongs to the *Orchidaceae* family, has a variety of types, shapes and colors of flowers with relatively long freshness. Mutation induction is part of plant breeding efforts made to obtain plants with better properties. Colchicine as an antimitotic agent is used in breeding to induce chromosome doubling, applied to explants that have actively dividing tissues. The research objective was to determine the optimal concentration of colchicine for the growth of *Dendrobium* sp orchids *in vitro*. The study was conducted at the CDAST Laboratory, University of Jember, during the study period from March 2022 – July 2022. The method used was immersion of 3 months old *protocom like bodies* (plb) explants in colchicine solution using 4 concentration levels: 0.02%, 0.04% and 0.06% with immersion duration of 24 hours. The data that has been obtained is then analyzed using SEM analysis. The observed variables were explant life percentage, plantlet height, number of shoots, number of leaves, and number of roots. The results showed that chemical mutations using colchicine affected plantlet height, number of shoots, number of leaves and number of roots of *Dendrobium* sp. Treatment of 0.02% gave the best average increase in plant height, number of shoots, number of leaves and number of roots. Plantlet color variations occurred in the 0.02%, 0.04% and 0.06% treatments which produced yellowish green, albino and whitish green plantlet colors.

**Keywords:** Antimitotic, *Dendrobium* sp., chromosomes, color variations.

Received: 6 March 2023; Revised: 31 March 2023; Accepted: 13 April 2023

## PENDAHULUAN

*Dendrobium* sp. merupakan salah satu jenis tanaman hias yang masuk ke dalam famili *Orchidaceae* yang merupakan famili yang besar dan memiliki variasi jenis, bentuk, warna, dan variasi bunga dengan kesegaran relatif lama. Menurut Andri dkk., (2015) persentase tanaman anggrek yang paling disukai masyarakat adalah jenis *Dendrobium* sp. sebesar (34%) dibandingkan lainnya seperti *Oncidium* (26%), *Cattleya* (20%) dan *Vanda* (17%). Hal tersebut dikarenakan *Dendrobium* sp. memiliki bentuk bunga bervariasi dengan kesegaran bunga relatif lama, tingkatan warna bunga yang bervariasi, tangkai bunga yang lentur sehingga mudah dirangkai, dan produktivitas tinggi (Widiastoety dkk., 2015).

Pembentukan variasi morfologi tanaman anggrek dapat dilakukan dengan perkawinan silang atau crossing. Menurut Hartati dkk. (2017) variasi yang terjadi pada tanaman anggrek merupakan suatu keunggulan yang dijadikan sebagai cara pemuliaan tanaman yang bertujuan untuk menarik minat konsumen dengan target peningkatan variasi karakter genetik tanaman. Biji yang terbentuk dari hasil persilangan dapat dikulturkan secara *in vitro* untuk menghasilkan plantlet atau tanaman muda. Perbanyak tanaman anggrek menggunakan metode kultur jaringan atau kultur *in vitro* dikarenakan memiliki karakter biji tanpa endosperm atau cadangan makanan. Sedangkan penggunaan plb sebagai eksplan karena pada plb, bagian tanaman telah terbentuk secara lengkap namun masih memiliki tingkat pertumbuhan yang sangat tinggi (Dewanti dkk., 2020).

Terbentuknya variasi morfologi anggrek selain melalui persilangan, juga bisa dengan mutasi baik secara fisik maupun kimiawi. Mutasi kimia lebih banyak digunakan khususnya pada tanaman anggrek dikarenakan tinggi tingkat keberhasilannya dalam menghasilkan variasi genetik yang beragam (Bawonoadi & Wiendi, 2017).

Induksi mutasi memiliki arti sebagai perbaikan mutu genetik dengan tujuan memperoleh tanaman berdasar sifat yang dikehendaki melalui perubahan susunan genetik tanaman (Damayanti, 2021). Menurut Sitanggang dkk., (2021) mutasi pada tanaman yang terinduksi dapat dicirikan dengan adanya perubahan morfologi yang meliputi perubahan bentuk daun, tinggi tanaman, warna bunga yang berbeda secara umum. Tingkat keberhasilan dalam mutasi tanaman anggrek dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti jenis mutagen kimia, lama perendaman, teknik mutasi yang digunakan, tingkat ketahanan dan kepekaan tanaman terhadap bahan kimia yang digunakan. Macam-macam mutagen kimia seperti *Ethyl Methane Sulfonate* (EMS), DES, oryzalin dan Kolkisin yang dapat menghasilkan karakter unggul dibanding tetuanya (Lestari, 2021)

Kolkisin merupakan suatu senyawa alami memiliki sifat toksik, diproduksi oleh metabolisme tanaman dalam wujud metabolit sekunder (Susrama, 2017). Kolkisin sebagai agen antimotik digunakan dalam metode pemuliaan untuk menginduksi penggandaan kromosom, yang diaplikasikan pada eksplan anggrek berupa kalus atau plb (Kartikaningrum dan Badriah, 2012). Menurut Vilcherrez-Atoche *et al.* (2022) kolkisin merupakan agen antimotik yang digunakan secara *in vitro* untuk mengganggu pembelahan sel sehingga menghasilkan duplikasi kromosom pada sel tumbuhan. Metode aplikasi agen antimotik seperti pada kolkisin dilakukan menggunakan bibit yang kecil dan memiliki jaringan meristem, direndam dalam larutan mutagen dengan konsentrasi dan durasi yang berbeda (Manzoor *et al.* 2019). Induksi mutasi menyebabkan adanya kimera pada tanaman yang disebabkan dari penyerapan mutagen yang berbeda tiap individu, organ dan jaringan tanaman, kenampakan kimera banyak ditemukan melalui induksi mutasi menggunakan kolkisin (He *et al.* 2016). *Plantlet* tetraploid anggrek yang diberi perlakuan kolkisin menunjukkan variasi morfologi seperti lebar daun, ketebalan daun, diameter batang, dan ukuran akar lebih besar dibandingkan dengan *plantlet* diploid (Zhang and Gao, 2021). Tujuan penelitian untuk mengetahui konsentrasi kolkisin yang optimal terhadap pertumbuhan anggrek *D. gabriella surajaya* secara *in vitro*.

## BAHAN DAN METODE

### Tempat dan Waktu

Pelaksanaan penelitian dilakukan di Laboratorium Center for Development of Advanced Science and Technology (CDAST) Universitas Jember pada bulan April 2022 - Juli 2022.

### Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan plb anggrek *gabriella suryajaya* umur 3 bulan yang diperoleh dari hasil perbanyakan biji di Laboratorium Kultur Jaringan Agrotechnopark Universitas Jember, mutagen kolkisin Wako produksi Korea Sselatan, media ½ MS dan ZPT BAP dan NAA. Alat yang digunakan LAF, autoklaf, botol kultur, petridish, pinset, mikropipet, tabung falcon, dan kamera gawai.

### Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan Acak Lengkap (RAL) non faktorial dengan 4 taraf konsentrasi kolkisin yaitu: -K0 = 0%; K1 = 0,02%; K2 = 0,04% dan K3 = 0,06%. Penelitian menggunakan 4 perlakuan dengan 3 kali ulangan dan tiap ulangan menggunakan 6 tanaman, sehingga diperoleh 72 tanaman.

### Pelaksanaan Penelitian

Penelitian dimulai dari pembuatan larutan stok kolkisin, persiapan media regenerasi, proses mutasi kimia dengan cara perendaman eksplan, dan penanaman pada media.

Larutan stok kolkisin dibuat 100.000 ppm pada volume 10 ml dengan menimbang 1 g kolkisin berbentuk bubuk. dan dilarutkan pada Buffer fosfat 1 M, pH 7 pada falcon hingga volume mencapai 10 ml, kemudian dapat disimpan pada lemari pendingin saat tidak digunakan. Pengenceran mutagen diperlukan untuk mencapai konsentrasi yang diinginkan dengan cara mengambil larutan stok kolkisin sebanyak 20 µl (0,02%), 40 µl (0,04%) dan 60 µl (0,06%).

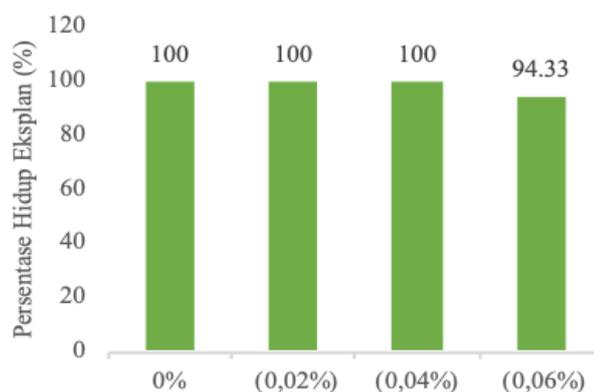
Proses mutasi kimia dilakukan dengan melakukan perendaman eksplan plb pada larutan kolkisin yang telah dilakukan pengenceran (Eng & Ho, 2019) menjadi 0,02%, 0,04% dan 0,06% dengan cara mengambil larutan stok mutagen sesuai konsentrasi dan ditambahkan buffer fosfat 1M pH 7 hingga mencapai volume 5 ml, durasi perendaman selama 24 jam, setelah itu plb dibilas dengan aquades steril untuk menghilangkan sisa mutagen.

Eksplan hasil perendaman mutagen kolkisin kemudian diregenerasikan pada media ½ MS, 2% % sukrosa, 15% air kelapa, Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) berupa 1 ppm BAP dan 0,1 ppm NAA. Pada perlakuan kontrol, plb langsung diregenerasikan pada botol kultur. Parameter yang digunakan yaitu persentase hidup eksplan, tinggi *planlet*, jumlah tunas, jumlah daun jumlah akar dan warna *planlet* yang dilakukan pada akhir penelitian yaitu 12 MST. Pengamatan dilakukan secara makroskopis dengan bantuan kamera *handphone* pada kondisi yang aseptis. Data yang diperoleh kemudian dilakukan analisis menggunakan analisis *Standart Error Mean* (SEM) yang merupakan hasil nilai rata-rata perlakuan yang digunakan.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Persentase Hidup Eksplan

Eksplan yang diberikan perlakuan mutagen akan mengalami kerusakan sel yang mengakibatkan adanya penurunan persentase kehidupan seiring dengan bertambahnya konsentrasi yang diberikan. Setelah dilakukan pemeliharaan selama 12 MST terdapat eksplan yang berwarna coklat dan tidak dapat bertahan hidup. Berdasarkan Gambar 1. diketahui semakin tinggi konsentrasi kolkisin menurunkan kemampuan eksplan menjadi *planlet*.

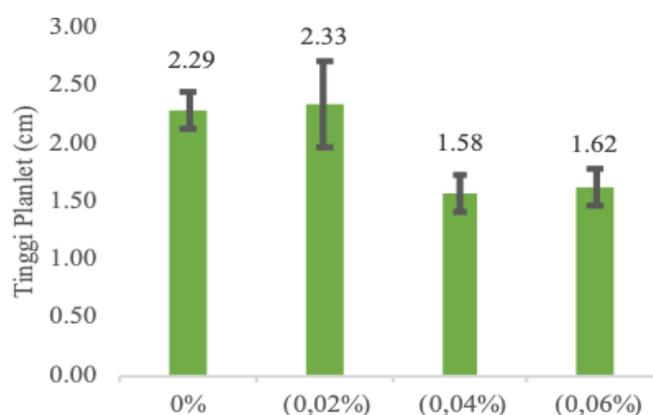


Gambar 1. Persentase Hidup Eksplan

Berdasarkan Gambar 1. persentase eksplan hidup setelah perlakuan mutagen kimia menurun seiring dengan tingginya konsentrasi yang diberikan. Pada mutagen kolkisin eksplan yang mampu bertahan hidup secara keseluruhan yaitu pada perlakuan kontrol (0,0%), kolkisin (0,02%) dan kolkisin (0,04%), sedangkan pada perlakuan kolkisin (0,06%) mengalami penurunan persentase eksplan membentuk *planlet* (94,33%). Hal tersebut sejalan dengan penelitian He *et al.* (2016) yang menyatakan persentase hidup *Dendratema indicum var. aromaticum* lebih rendah setelah diberi perlakuan kolkisin dibandingkan dengan kontrol. Mutagen kimia dapat memutasi tanaman anggrek pada perlakuan perendaman dengan konsentrasi yang berbeda. Tingginya letalitas pada tanaman Anggrek yang diberi perlakuan mutagen kimia dipengaruhi oleh konsentrasi yang diberikan. Eksplan yang mampu bertahan hidup menjadi *planlet* akan mengalami hambatan pertumbuhan akibat konsentrasi mutagen (Romiyadi dkk., 2018). Hal tersebut berdampak pada fenotip yaitu penurunan tinggi tanaman, jumlah tunas, jumlah daun, dan jumlah akar.

### Tinggi Planlet

Eksplan yang telah diberi perlakuan mutasi dan diregenerasikan selama 12 MST akan mengalami penambahan tinggi secara berkala. Tinggi eksplan yang digunakan yaitu memiliki tinggi sekitar 1 cm dan 2 helai daun. Pengukuran tinggi *planlet* dilakukan menggunakan milimeter blok yang telah disterilkan, dengan cara mengukur pangkal batang *planlet* hingga ujung daun tertinggi. Pengaruh konsentrasi kolkisin terhadap tinggi planlet dapat dilihat pada Gambar 2.



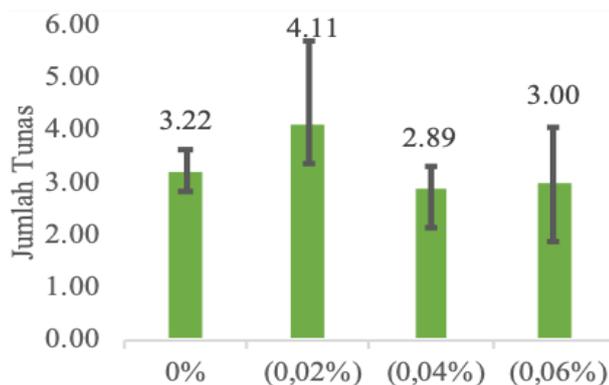
Gambar 2. Tinggi Planlet

Tinggi tanaman pada hasil penelitian memberikan respon yang beragam.- Perendaman kolkisin pada plb anggrek tidak hanya meningkatkan tinggi *planlet*, namun dapat menghasilkan tanaman yang kecil.- Konsentrasi kolkisin 0,02% menghasilkan rata-rata tinggi *planlet* tertinggi yaitu 2,33 cm. Tinggi tanaman terendah yaitu 1,58 cm pada perlakuan 0,04%. Penurunan tinggi pada tanaman merupakan salah satu hambatan pertumbuhan yang disebabkan adanya perlakuan mutagen kimia. Menurut Suteja dkk., (2019) penurunan tinggi tanaman akibat peningkatan konsentrasi mutagen kimia disebabkan karena adanya batasan pembelahan pada sel somatik, penurunan viabilitas, pertumbuhan dan kesuburan yang berdampak pada pertumbuhan abnormal. Arslan *et al.*, (2022) menambahkan dari hasil penelitiannya yaitu adanya penurunan dan penambahan pada tinggi tanaman mutan kacang polong hasil mutasi.

### Jumlah Tunas

Perbedaan pertumbuhan tunas anggrek mutan dapat disebabkan potensi sel pada jaringan eksplan akibat adanya perlakuan mutagen, setiap eksplan memiliki sel meristem dengan potensi membentuk tunas baru, tetapi dengan adanya perlakuan mutagen menyebabkan perubahan fisiologis dari sel - sel tersebut yang berdampak pada perbedaan respon eksplan membentuk tunas (Qosim dkk., 2015). Pada mutagen kolkisin perlakuan 0,02% menunjukkan hasil 4,11 tunas tertinggi dibandingkan konsentrasi lain, namun pada perlakuan 0,04% mengalami penurunan dengan hasil 2,89 tunas, serta pada perlakuan 0,06% mengalami kenaikan dengan hasil 3,00 tunas. Menurut Espina *et al.*, (2018) pada tiap mutagen yang berbeda mempunyai efek yang berbeda berdasarkan konsentrasi dan eksplan yang

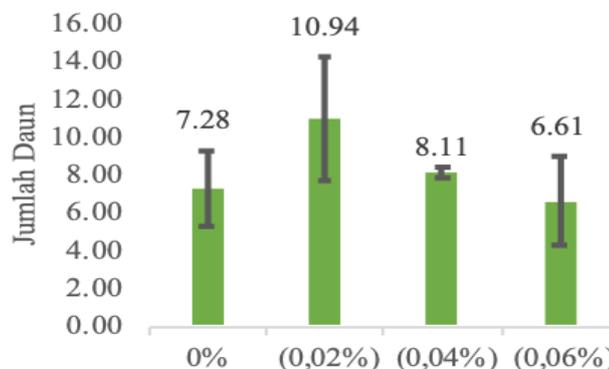
digunakan. Selain itu, faktor durasi perendaman ditentukan berdasar jenis eksplan yang digunakan dikarenakan mutagen kimia yang bersifat toksik yang dapat merusak jaringan tanaman.



Gambar 3. Jumlah Tunas

### Jumlah Daun

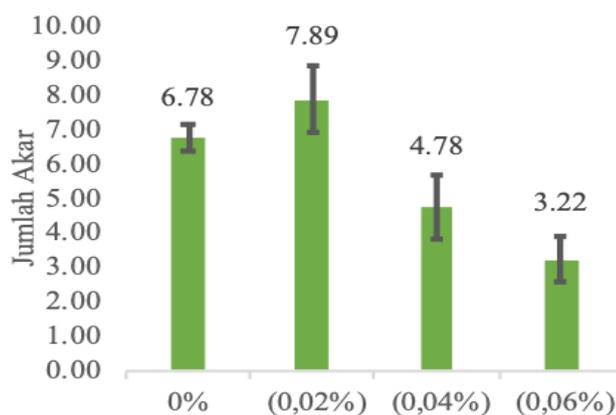
Perlakuan mutagen kolkisin terhadap jumlah daun *D. gabiella suryawijaya* menghasilkan *planlet* yang memiliki jumlah daun yang bervariasi, hal tersebut dapat disebabkan karena pada beberapa *planlet* mengalami multiplikasi tunas. Perlakuan 0,02% menghasilkan jumlah daun terbanyak yaitu 10,94 daun, jumlah daun terendah pada perlakuan 0,06% menghasilkan rata-rata 6,61 daun. Semakin banyaknya tunas yang dihasilkan akan meningkatkan jumlah daun yang dihasilkan. Berdasarkan hasil penelitian Bawonoadi & Wiendi (2017) perlakuan mutagen kolkisin 0,075% perendaman 24 dan 48 jam menghasilkan jumlah daun yang lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol. Tanpa adanya pembelahan sel dengan menurunkan laju proses fisiologis dan merusak materi genetik menjadikan perkembangan daun menjadi tidak normal sehingga menghasilkan daun dan batang yang kerdil. Menurut Manzoor *et al.* (2019) konsentrasi Kolkisin untuk perlakuan benih berkisar antara 0,1% - 0,8%, namun konsentrasi yang terlalu tinggi menyebabkan malformasi dan mengurangi produksi tanaman tetraploid.



Gambar 4. Jumlah Daun

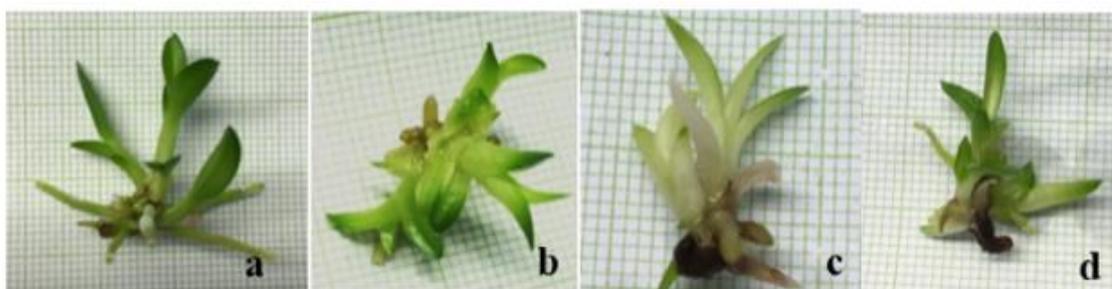
### Jumlah Akar

Akar merupakan bagian tanaman yang memiliki fungsi sebagai penyerap nutrisi dari media tanam. Perlakuan 0,02% menghasilkan jumlah akar rata-rata 7,89 buah, lebih banyak dibandingkan tanpa perlakuan. Rata-rata terendah yaitu 3,22 jumlah akar pada perlakuan 0,06%. Menurut Romiyadi dkk., (2018) menyatakan jumlah akar pada perlakuan 0,05% dan 0,15% menghasilkan jumlah akar lebih banyak dibandingkan perlakuan lainnya. Akar berfungsi menyerap nutrisi dari media yang digunakan, semakin banyak akar akan memaksimalkan penyerapan nutrisi pada tanaman yang berdampak pada pertumbuhan tanaman yang optimal (Aqidah dkk., 2022). Kolkisin bersifat racun pada tanaman, oleh karena itu penggunaan konsentrasi rendah dengan perendaman yang lama dapat mengurangi efek toksiknya dan meningkatkan tingkat produksi poliploid (Sajjad *et al.*, 2013).



Gambar 5. Jumlah Akar

#### Warna Planlet



Gambar 6. Variasi Warna Planlet Anggrek *Dendrobium* sp. Hasil Mutasi Kolkisin a) Hijau Normal b) Hijau Kekuningan c) Albino d) Hijau Keputihan

Variasi warna *planlet* anggrek akibat perlakuan mutagen kolkisin menghasilkan respon yang berbeda – beda. Perlakuan (0,02%) adanya gradasi warna hijau dan kuning pada *planlet*, perlakuan (0,04%) *planlet* anggrek cenderung berwarna pudar atau albino, namun terdapat warna hijau pada ujung daun. Perlakuan (0,06%) menunjukkan *planlet* memiliki warna gradasi hijau keputihan. Menurut Romiyadi dkk (2018) *planlet* mutan dapat mengalami kimera hanya pada bagian atau lapisan jaringan daun atau pada seluruh lapisan jaringan, hal tersebut sering dijadikan indikator adanya mutasi pada tanaman, hal tersebut yang menyebabkan warna pinggiran daun lebih pekat dibandingkan bagian daun lain. Sikder *et al.* (2013) menduga klorofil di kendalikan oleh beberapa gen yang letaknya pada daerah sentromer dan segmen proksimal yang merupakan bagian dari kromosom.

#### KESIMPULAN

Mutasi kimia menggunakan mutagen kolkisin dengan konsentrasi rendah dapat meningkatkan pertumbuhan dalam hal penambahan tinggi, jumlah tunas, jumlah daun dan jumlah akar anggrek *D. gabriella* suryawijaya- Perlakuan 0,02% memberikan rata-rata terbaik pada peningkatan tinggi tanaman yang berdampak pada peningkatan jumlah tunas, jumlah daun dan jumlah akar. Variasi warna *planlet* terjadi pada perlakuan 0,02%, 0,04% dan 0,06% yang menghasilkan warna *planlet* hijau kekuningan, albino dan hijau keputihan. Penelitian lanjutan diperlukan dengan peningkatan konsentrasi mutagen kolkisin dengan memperhatikan *Lethal concentration*.

#### Ucapan Terimakasih

Penulis mengucapkan terimakasih pada Laboratorium Center for Development of Advanced Science and Technology (CDAST) Universitas Jember untuk fasilitas yang diberikan hingga selesainya penelitian ini. Penulis juga mengucapkan terimakasih kepada hibah percepatan Guru Besar dengan nomor kontrak 4347/UN25.3.2/LT/2022 untuk Dr. Ir. Parawita Dewanti untuk pendanaan penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Andri, K. B., & Tumbuan, W. J. A. (2015). Potensi pengembangan agribisnis bunga anggrek di Kota Batu Jawa Timur. *Jurnal LPPM Bidang EkoSosBudKum*, 2(1), 19-30.
- Aqidah, A., Dewanti, P., & Alfian, F. N. (2022). Pertumbuhan Anggrek *Dendrobium* Hibrida pada Kultur Cair dengan Penambahan BA dan NAA. *Agrotrop: Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian (Journal of Agricultural Science)*, 20(1), 48-58.
- Bawonoadi, G., & Wiendi, N. M. A. 2017. Proliferasi In Vitro Plb Anggrek *Dendrobium lasianthera* Hasil Induksi Mutasi Genetik dengan Kolkisin Melalui Penambahan Benzyl Adenine. *Buletin Agrohorti*, 5(2), 146-156
- Damayanti, F. (2021). Potensi Pemuliaan Mutasi Radiasi sebagai upaya Peningkatan Variasi Genetik pada Tanaman Hias. *EduBiologia: Biological Science and Education Journal*, 1(2), 78-84.
- Dewanti, P., Wafa, A., Handoko, F., & Sasmita, H. D. 2020. *Budidaya Anggrek Secara In Vitro*. Lumajang: LP3DI Press
- Eng, W. H., & Ho, W. S. (2019). Polyploidization using colchicine in horticultural plants: a review. *Scientia horticulturae*, 246, 604-617.
- Espina, M. J., Ahmed, C. S., Bernardini, A., Adeleke, E., Yadegari, Z., Arelli, P., ... & Taheri, A. (2018). Development and phenotypic screening of an ethyl methane sulfonate mutant population in soybean. *Frontiers in plant science*, 9, 394.
- Hartati, S., Yunus, A., & Nugroho, F. (2017). Keragaan Anggrek Persilangan♀ Vanda Celebica X♂ Vanda Dearei Hasil Iradiasi Sinar Gamma. *Agrotechnology Research Journal*, 1(1), 7-12.
- He, M., Gao, W., Gao, Y., Liu, Y., Yang, X., Jiao, H., & Zhou, Y. (2016). Polyploidy induced by colchicine in *Dendranthema indicum* var. *aromaticum*, a scented chrysanthemum. *European Journal of Horticultural Science*, 81(4), 219-226.
- Kartikaningrum, S., & Badriah, D. S. (2012). Inovasi Pemuliaan Anggrek Mendukung Tersedianya Varietas Unggul untuk Substitusi Produk Impor. *Prosiding seminar Anggrek, BPTH*.
- Lestari, E. G. (2021). Aplikasi Induksi Mutasi Untuk Pemuliaan Tanaman Hias. *Berita Biologi*, 21(3), 335-344.
- 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.
- Qosim, W. A., Yuwariah, Y., Hamdani, J. S., Rachmadi, M., & Perdani, S. M. (2015). Pengaruh Mutagen Etil Metan Sulfonat Terhadap Regenerasi Tunas pada Dua Genotip Manggis Asal Purwakarta dan Pandeglang
- Romiyadi, R., Komariah, A., & Amien, S. (2018). Keragaan tiga jenis planlet anggrek *Phalaenopsis* asal Protocorm yang diinduksi Ethyl Methyl Sulfonate (EMS) secara in vitro. *Kultivasi*, 17(1), 596-607.
- Sajjad, Y. A. S. A. R., Jaskani, M. J., Mehmood, A., Ahmad, I., & Abbas, H. A. I. D. E. R. (2013). Effect of colchicine on in vitro polyploidy induction in African marigold (*Tagetes erecta*). *Pak. J. Bot*, 45(3), 1255-1258.
- Sikder, S., Biswas, P., Hazra, P., Akhtar, S., Chattopadhyay, A., Badigannavar, A. M., & D'Souza, S. F. (2013). Induction of mutation in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) by gamma irradiation and EMS. *Indian J. Genet*, 73(4), 392-399.
- Susrama, I. G. K. 2017. *Menginduksi Mutagenesis Pada Tanaman*. Skripsi. Fakultas Pertanian Universitas Udayana. Bali
- Suteja, H. N., Rostini, N., & Amien, S. (2019). Pengaruh perlakuan ethyl methanesulphonate terhadap perkecambahan dan pertumbuhan kentang granola (biji). *Kultivasi*, 18(1), 784-792.
- Utomo, S. H. (2018). Pengaruh Jumlah Eksplan dan Sumber Cahaya Terhadap Produksi Tunas Mikro Anggrek *Dendrobium* sp. Varietas Dawn Marie dengan Sistem Perendaman Sementara (*Temporary Immersion System*). Skripsi. Fakultas Pertanian. Unverstas Sumatra Utara. Sumatra Utara.

- Vilcherrez-Atoche, J. A., Iiyama, C. M., & Cardoso, J. C. (2022). Polyploidization in Orchids: From Cellular Changes to Breeding Applications. *Plants*, 11(4), 469.
- Widiastoety D, Solvia N, Soedarjo M. (2010). Potensi anggrek *Dendrobium* dalam Meningkatkan Variasi dan Kultivas Anggrek Bunga Potong. *Litbang Pertanian*. 29(3) : 101 – 106.
- Zhang, X., & Gao, J. (2021). Colchicine-induced tetraploidy in *Dendrobium cariniferum* and its effect on plantlet morphology, anatomy and genome size. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 144(2), 409-420.