

KARAKTERISASI MORFOLOGI, ANALISIS PLOIDI, DAN KULTUR ANTERA ANGGREK *PHALAENOPSIS IN VITRO*

SOPHIA



**PROGRAM STUDI PEMULIAAN DAN BIOTEKNOLOGI TANAMAN
FAKULTAS PERTANIAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2024**

@Hak cipta milik IPB University

IPB University



IPB University
Bogor Indonesia

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Perpustakaan IPB University



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

PERNYATAAN MENGENAI TESIS DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis dengan judul “Karakterisasi morfologi, analisis ploidi dan kultur antera anggrek *Phalaenopsis in vitro*” adalah karya saya dengan arahan dari dosen pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir tesis ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Institut Pertanian Bogor.

Bogor, Mei 2024

Sophia
A2503211013

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



RINGKASAN

SOPHIA. Karakterisasi Morfologi, Analisis Ploidi dan Kultur Antera Anggrek *Phalaenopsis In Vitro*. Dibimbing oleh DEWI SUKMA, BAMBANG SAPTA PURWOKO dan DINY DINARTI.

Anggrek bulan (*Phalaenopsis*) merupakan salah satu genus penting dalam famili *Orchidaceae* yang bernilai ekonomi tinggi dan memiliki pasar yang besar di dalam maupun luar negeri. Varietas *Phalaenopsis* hibrida belum banyak diproduksi dalam negeri, sehingga untuk penyediaan bibit anggrek, pengusaha Indonesia masih tergantung pada varietas impor dari Taiwan dan Thailand. Indonesia perlu mandiri dalam memproduksi varietas hibrida sendiri, oleh karena itu, pemuliaan hibrida tanaman anggrek memerlukan galur murni sebagai tetua persilangan dalam merakit varietas hibrida. Galur murni dalam bentuk tanaman dihaploid (*doubled haploid/ DH*) dapat dihasilkan melalui kultur antera. Perakitan galur murni melalui perbanyakan konvensional umumnya dilakukan dengan penyerbukan sendiri sampai beberapa generasi yang membutuhkan waktu yang lama. Selain itu, penyerbukan terkadang gagal karena kuncup bunga yang belum menghasilkan (*the abortion of immature pod*) atau polong yang kosong (tanpa biji). Maka dari itu, teknologi androgenesis dapat diadopsi dalam pemuliaan tanaman hibrida.

Informasi tingkat ploidi dari tanaman induk perlu diketahui sebelum dilakukan kultur antera. Tingkat ploidi tanaman donor berpengaruh terhadap respons tumbuh dan regenerasi tanaman dari kultur antera. Karakterisasi morfologi juga penting diamati karena berfungsi sebagai kelengkapan informasi sebelum genotipe tertentu dimanfaatkan untuk kegiatan pemuliaan tanaman. Tujuan umum penelitian ini adalah upaya memperoleh informasi awal dan protokol terbaik dalam merakit tetua galur murni *Phalaenopsis* hibrida secara *in vitro*. Sejauh ini belum ada protokol yang mampu menginduksi tanaman dihaploid anggrek, para peneliti masih melakukan penelitian lebih lanjut, oleh karena itu penelitian ini penting dilakukan.

Penelitian ini terdiri atas tiga percobaan. Percobaan pertama yaitu menganalisis keragaman morfologi dan tingkat ploidi menggunakan *flow cytometry* pada *Phalaenopsis* hibrida kompleks yaitu tiga kultivar hibrida standar (WAL 1702, WAL 1819, WAL 1981), tiga kultivar hibrida novelty multiflora (WAL 3903, WAL 3904 dan WAL 3908) dan tiga *Phalaenopsis* spesies (*Phalaenopsis amabilis* (PAB), *Phalaenopsis amboinensis* (PAM), *Phalaenopsis schilleriana* (PSC)). Analisis *flow cytometry* dari sel daun muda dan ujung akar. *Zea mays* diploid digunakan sebagai standar internal untuk menghitung kandungan DNA inti sampel. Hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan karakter morfologi yang signifikan antara enam kultivar hibrida *Phalaenopsis*. Kultivar WAL 1819 memiliki ukuran tanaman dan bunga paling besar sedangkan kultivar WAL 3903 memiliki jumlah bunga terbanyak. Analisis *flow cytometry* menunjukkan *Phalaenopsis* kultivar dan spesies yang dianalisis mengalami kondisi endopoliploidi dengan pola ploidi 2C–16C. Kultivar hibrida standar yang berukuran lebih besar cenderung memiliki kandungan DNA lebih kecil (5,7– 11,4 pg) dibandingkan kultivar novelty multiflora (9,4 – 15,4 pg).

Percobaan kedua bertujuan untuk mempelajari pengaruh stadia perkembangan bunga dan media kultur + kombinasi Zat Pengatur Tumbuh (ZPT). Stadia perkembangan bunga diambil dari beberapa kultivar dan diberi pra-

perlakuan suhu dingin selama 24 dan 48 jam, kemudian kultivar dan waktu pendinginan dilakukan analisis uji T. Penelitian menggunakan kultivar hibrida kompleks (WAL 1702, WAL 3903 dan WAL 3904). Sebelum dikulturkan, antera diberi pra-perlakuan waktu suhu dingin 4°C selama 24 jam dan 48 jam. Penelitian ini terdapat dua faktor yaitu stadia perkembangan bunga (mekar, ½ mekar dan kuncup) dan media kultur (MD1, MD2, ND1, ND2). Hasil penelitian menunjukkan bahwa antera dapat membentuk kalus embriogenik. Stadia bunga mekar merupakan stadia bunga terbaik dalam menghasilkan kalus dari antera. Media kultur tidak berpengaruh nyata terhadap semua peubah yang diamati kecuali persentase antera pecah pada stadia perkembangan bunga kultivar WAL 3903 (24 jam), antera yang dikulturkan di dalam media konsentrasi ND2 (N6 + 2 ppm 2,4-D + 1 ppm TDZ) menghasilkan persentase antera pecah terbaik sebesar 55,5%. Dari semua kultivar yang digunakan, kultivar WAL 1702 menunjukkan respons terbaik dalam semua peubah. Waktu pendinginan terbaik dalam induksi kalus adalah 24 jam. Pada penelitian ini hanya sampai tahap kalus embriogenik dan belum ada kalus yang berhasil meregenerasi menjadi planlet. Pada subkultur dalam media induksi kalus kedua terdapat penambahan antera berkalus sebanyak 11 antera.

Percobaan ketiga bertujuan untuk mempelajari pengaruh AgNO₃ dan putresin dalam suatu media terhadap kultur antera tanaman anggrek *Phalaenopsis*. Tanaman donor menggunakan kultivar hibrida kompleks WAL 2902. Faktor penelitian ada dua yaitu AgNO₃ (0; 15 dan 30 ppm) dan putresin (0; 0,3; dan 1 mM). Hasil penelitian menunjukkan bahwa persentase antera membengkak tertinggi terdapat perlakuan konsentrasi 0 ppm AgNO₃ + 0,3 mM putresin dan konsentrasi 15 ppm AgNO₃ + 1 mM putresin. Persentase antera pecah tertinggi terdapat pada perlakuan konsentrasi 0 ppm AgNO₃ + 0 mM putresin. Persentase antera berkalus akibat pemberian konsentrasi AgNO₃ berkisar antara 20,2 – 21,9%, sedangkan putresin memiliki nilai rata-rata persentase antera berkalus berkisar antara 15,8 - 25,4% pada umur 4 Minggu Setelah Inisiasi (MSI). Setiap subkultur ke media baru tiap 4 minggu sekali, antera mengalami penambahan jumlah antera berkalus. Selain itu, perlakuan konsentrasi AgNO₃ dan putresin merupakan kombinasi yang cocok untuk mengatasi senesens akibat vitrifikasi/*hyperhydricity* berdasarkan peubah persentase perubahan warna menuju senesens. Pada 12 MSI, perlakuan kontrol memiliki persentase warna putih tertinggi yaitu 21,1%. Belum ada antera yang membentuk kalus hijau ataupun beregenerasi menjadi tanaman pada semua perlakuan yang diuji.

Kata kunci: *flowcytometry*, kultur antera, media kultur, *Phalaenopsis*, stadia perkembangan bunga

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



SUMMARY

SOPHIA. Morphological Characterization, Ploidy Analysis, and *In Vitro* Anther Culture of *Phalaenopsis* Orchid. Supervised by DEWI SUKMA, BAMBANG SAPTA PURWOKO dan DINY DINARTI.

The Moon Orchid (*Phalaenopsis*) is an important genus in the *Orchidaceae* family, with high economic value and a large market both domestic and international. Hybrid *Phalaenopsis* varieties are not yet widely produced domestically, so for the supply of orchid seedlings, Indonesian entrepreneurs still depend on imported varieties from Taiwan and Thailand. Achieving self-sufficiency in producing hybrid varieties is crucial, and the hybrid plant breeding process requires pure lines as parental crosses to breed hybrid varieties. Pure lines in the form of doubled haploid (DH) plants can be obtained through anther culture. Traditional development of pure lines through conventional breeding is time-consuming, involving self-pollination for several generations, and is prone to failures such as the abortion of immature or empty pods. Therefore, androgenesis technology can be adopted in the breeding of hybrid plants.

Knowledge of the ploidy level of parent plants is necessary to support anther culture. The ploidy level of the donor plant affects the growth response and regeneration of plants from anther culture. Morphological characterization is also essential as it provides additional information before specific genotypes are utilized in plant breeding activities. This research aimed to obtain preliminary information and the best protocol for obtainment of pure lines of hybrid *Phalaenopsis* in vitro. Currently, there is no protocol capable of inducing doubled haploid orchid plants, and researchers are still conducting further studies. Hence, this research is crucial.

The study consisted of three experiments. The first experiment analyzed morphological diversity and ploidy level using flow cytometry on a complex hybrid of *Phalaenopsis*, including three standard hybrid cultivars (WAL 1702, WAL 1819, WAL 1981), three novelty multiflora hybrid cultivars (WAL 3903, WAL 3904, and WAL 3908), and three *Phalaenopsis* species (*Phalaenopsis amabilis*, *Phalaenopsis amboinensis*, *Phalaenopsis schilleriana*). Flow cytometry analysis was conducted on young leaf cells and root tips, with *Zea mays* diploid was used as an internal standard to calculate the nuclear DNA content of the samples. Results showed significant morphological differences among the six *Phalaenopsis* hybrid cultivars. WAL 1819 had the largest plant and flower size, while WAL 3903 had the highest flower count. Flow cytometry analysis indicated endopolyploidy conditions with a ploidy pattern ranging from 2C to 16C. Standard hybrid cultivars with larger sizes tended to have smaller DNA content (5.7–11.4 pg) than novelty multiflora cultivars (9.4–15.4 pg).

The second experiment aimed to study the effect of flower development stage and culture media + Plant Growth Regulator (PGR) combination. Flower development stages were taken from several cultivars and given cold temperature pre-treatment for 24 and 48 hours, then the cultivar and cooling time were analyzed using T-test. The research used complex hybrid cultivars (WAL 1702, WAL 3903, and WAL 3904). Before culturing, the anthers were pre-treated at a cold temperature of 4°C for 24 hours and 48 hours. This research had two factors: flower development stages (bloom, half bloom, and bud) and culture media (MD1, MD2,

@Hak cipta milik IPB University

IPB University

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

ND1, ND2). Research results indicate that anthers can form embryogenic callus. The blooming flower stage is the best stage for producing callus from anthers. The culture media did not have a significant effect on all the variables observed except the percentage of broken anthers at the flower development stage of the WAL 3903 cultivar (24 hours). Anthers cultured in media with a concentration of ND2 (N6 + 2 ppm 2.4-D + 1 ppm TDZ) produced the best percentage of broken anthers, which was 55.5%. Of all the cultivars used, The WAL 1702 cultivar showed the best response in all variables. The best cooling time for callus induction was 24 hours. In this study, it only reached the embryogenic callus stage and no callus had succeeded in regenerating into plantlets. In the subculture, in the second callus induction medium, there was an addition of callus anthers of 11 anthers.

The third experiment aimed to study the effect of AgNO₃ and putrescine in a medium on the anther culture of *Phalaenopsis* orchids. The donor plant used the complex hybrid cultivar WAL 2902. There were two research factors, namely AgNO₃ (0; 15, and 30 ppm) and putrescine (0; 0.3; and 1 mM). The results showed that the highest percentage of swollen anthers occurred in treatments with a concentration of 0 ppm AgNO₃ + 0.3 mM putrescine and a concentration of 15 ppm AgNO₃ + 1 mM putrescine. The highest percentage of ruptured anthers was found in the treatment with a concentration of 0 ppm AgNO₃ + 0 mM putrescine. The percentage of anthers with callus due to the application of AgNO₃ concentrations ranged between 20.2% to 21.9%, while putrescine exhibited an average percentage value of anthers with callus ranging from 15.8% to 25.4% at the age of 4 Week After Initiation (WAI). In each subculture to new media every 4 weeks, the number of anthers forming callus. In addition, AgNO₃ and putrescine concentration treatment was a suitable combination to overcome senescence due to vitrification/hyperhydricity based on the percentage change in color towards senescence. At 12 MSI, the control treatment had the highest percentage of white color, namely 21.1%. None of the anthers formed callus or regenerated into plants in any of the treatments tested.

Key words: anther culture, culture medium, flowcytometry, flower development stages, *Phalaenopsis*.



© Hak Cipta milik IPB, tahun 2024
Hak Cipta dilindungi Undang-Undang

Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan atau menyebutkan sumbernya. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik, atau tinjauan suatu masalah, dan pengutipan tersebut tidak merugikan kepentingan IPB.

Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apa pun tanpa izin IPB.

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



KARAKTERISASI MORFOLOGI, ANALISIS PLOIDI, DAN KULTUR ANTERA ANGGREK *PHALAENOPSIS IN VITRO*

SOPHIA

Tesis
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Magister pada
Program Studi Pemuliaan dan Bioteknologi Tanaman

**PROGRAM STUDI PEMULIAAN DAN BIOTEKNOLOGI TANAMAN
FAKULTAS PERTANIAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2024**



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



Judul Tesis : Karakterisasi Morfologi, Analisis Ploidi dan Kultur Antera
Angrek *Phalaenopsis In Vitro*
Nama : Sophia
NIM : A2503211013

@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Disetujui oleh

Pembimbing 1:
Prof. Dr. Dewi Sukma, S.P., M.Si

Pembimbing 2:
Prof. Dr. Ir. Bambang Sapta Purwoko, M.Sc

Pembimbing 3:
Dr. Ir. Diny Dinarti, M.Si

Diketahui oleh

Ketua Program Studi:
Prof. Dr. Dewi Sukma, S.P., M.Si
NIP 19700404199702001

Dekan Fakultas :
Prof. Dr. Ir. Suryo Wiyono, M.Sc.Agr
NIP 196902121992031003

Tanggal Ujian:
10 Juni 2024

Tanggal Lulus:

12 JUL 2024



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah subhanaahu wa ta'ala atas segala karunia-Nya sehingga karya ilmiah ini berhasil diselesaikan. Tema yang dipilih dalam penelitian yang dilaksanakan sejak bulan Agustus 2022 sampai bulan September 2023 ini ialah pemuliaan dan bioteknologi tanaman Anggrek di Indonesia, dengan judul “Karakterisasi morfologi, analisis ploidi dan kultur antera anggrek *Phalaenopsis in vitro*”.

Terima kasih penulis ucapkan kepada para pembimbing Prof. Dr. Dewi Sukma, S.P., M.Si, Prof. Dr. Ir. Bambang Sapta Purwoko, M.Sc dan Dr. Ir. Diny Dinarti, M.Si yang telah membimbing dan banyak memberi saran. Ucapan terima kasih juga disampaikan pada penguji luar komisi pembimbing Dr. Fitri Rachmawati, S.P., M.Si dan Dr. Arya Widura Ritonga, S.P., M.Si dan Ketua Program Studi Program Magister Prof. Dr. Dewi Sukma, S.P., M.Si. Di samping itu, penghargaan penulis sampaikan kepada Kepala Laboratorium Biologi Sel dan Jaringan, Balai Besar Pengujian Standar Instrumen Bioteknologi Pertanian dan Sumber Daya Genetik (BB PSI BIOGEN) yaitu Bapak Deden Sukmadjaja M.Si, beserta staf Laboratorium *Plant Molecular and Biology I* (PMB I Lab) yaitu Bu Susi dan Pak Agus, Laboratorium Mikroteknik yaitu Pak Joko, dan seluruh teman-teman yang telah membantu selama pengumpulan data yaitu Bu juju, Mas Tama, Kak Wahyu, Kak Roiyan, Kak Fathur, Ratna, Ade, Nadya, Hani, Ikhsan, Sachio, Rifa, Ika, Tina, Yati, Umi, Kak putri, Kak deby dan teman-teman PBT IPB 2021. Ungkapan terima kasih juga disampaikan kepada ayah (Bapak Agus Salim), mamak (Ibu Siti Hajar), adik (Muhammad Alfin) serta seluruh keluarga yang telah memberikan dukungan, doa, dan kasih sayangnya dalam proses pelaksanaan penelitian baik secara langsung maupun tidak langsung.

Semoga karya ilmiah ini bermanfaat bagi pihak yang membutuhkan dan bagi kemajuan ilmu pengetahuan.

Bogor, Mei 2024

Sophia



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan	3
1.4 Manfaat	4
1.5 Ruang Lingkup	4
1.6 Hipotesis	4
II TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Angrek <i>Phalaenopsis</i>	6
2.2 Karakterisasi Morfologi Angrek	8
2.3 Analisis Ploidi pada Angrek	9
2.4 Kultur Jaringan Angrek	11
2.5 Kultur Antera	12
III ANALISIS KERAGAMAN TANAMAN INDUK MELALUI KARAKTERISASI MORFOLOGI DAN ANALISIS PLOIDI MENGGUNAKAN <i>FLOW CYTOMETRY</i>	15
3.1 Abstrak	15
3.2 Pendahuluan	15
3.3 Bahan dan Metode	17
3.4 Hasil dan Pembahasan	26
3.5 Simpulan	35
IV INISIASI ANTERA <i>PHALAENOPSIS</i> HIBRIDA KOMPLEKS BERDASARKAN STADIA PERKEMBANGAN BUNGA DAN MEDIA KULTUR	36
4.1 Abstrak	36
4.2 Pendahuluan	36
4.3 Bahan dan Metode	37
4.4 Hasil dan Pembahasan	42
4.5 Simpulan	68
V INISIASI KULTUR ANTERA <i>PHALAENOPSIS</i> HIBRIDA KOMPLEKS DENGAN PEMBERIAN AgNO₃ DAN PUTRESIN	69
5.1 Abstrak	69
5.2 Pendahuluan	69
5.3 Bahan dan Metode	71
5.4 Hasil dan Pembahasan	73
5.5 Simpulan	83
VI PEMBAHASAN UMUM	84
VII SIMPULAN DAN SARAN	90
7.1 Simpulan	90

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkannya dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



7.2	Saran	90
	DAFTAR PUSTAKA	92
	LAMPIRAN	104
	RIWAYAT HIDUP	116

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

DAFTAR TABEL

1	Pengelompokan anggrek <i>Phalaenopsis</i> hibrida kompleks	8
2	Kelompok <i>Phalaenopsis</i> hibrida kompleks sebagai materi genetik percobaan satu dan dua	17
3	Rata-rata karakter kuantitatif pada tiga <i>Phalaenopsis</i> spesies	27
4	Rata-rata karakter kuantitatif pada kultivar <i>Phalaenopsis</i> hibrida standar	27
5	Rata-rata karakter kuantitatif pada kultivar <i>Phalaenopsis</i> hibrida novelty multiflora	28
6	Estimasi kandungan DNA dan ukuran genom dari sampel daun <i>Phalaenopsis</i> spesies dan kultivar hibrida kompleks	32
7	Estimasi kandungan DNA dan ukuran genom dari sampel akar <i>Phalaenopsis</i> spesies dan kultivar hibrida kompleks	33
8	Proporsi distribusi inti pada tiap pola ploidi dan nilai endopoliploidi index sampel daun pada kultivar hibrida dan spesies <i>Phalaenopsis</i>	34
9	Proporsi distribusi inti pada tiap pola ploidi dan nilai endopoliploidi index sampel ujung akar pada kultivar hibrida dan spesies <i>Phalaenopsis</i>	35
10	Komposisi media induksi kalus kultur antera percobaan dua	39
11	Rancangan penelitian percobaan kedua	39
12	Jumlah dan rata-rata persentase antera membengkak, antera pecah dan antera berkalus berdasarkan stadia perkembangan bunga dan media kultur pada kultivar WAL 1702 dengan waktu pendinginan 24 jam pada 3 MSI	45
13	Jumlah dan rata-rata persentase antera membengkak, antera pecah dan antera berkalus berdasarkan stadia perkembangan bunga dan media kultur pada kultivar WAL 1702 dengan waktu pendinginan 48 jam pada 3 MSI	46
14	Jumlah dan rata-rata persentase antera membengkak, antera pecah dan antera berkalus berdasarkan stadia perkembangan bunga dan media kultur pada kultivar WAL 3903 dengan waktu pendinginan 24 jam pada 3 MSI	46
15	Jumlah dan rata-rata persentase antera membengkak, antera pecah dan antera berkalus berdasarkan stadia perkembangan bunga dan media kultur pada kultivar WAL 3903 dengan waktu pendinginan 48 jam pada 3 MSI	47
16	Jumlah dan rata-rata persentase antera membengkak, antera pecah dan antera berkalus berdasarkan stadia perkembangan bunga dan media kultur pada kultivar WAL 3904 dengan waktu pendinginan 24 jam pada 3 MSI	48
17	Jumlah dan rata-rata persentase antera membengkak, antera pecah dan antera berkalus berdasarkan stadia perkembangan bunga dan media kultur pada kultivar WAL 3904 dengan waktu pendinginan 48 jam pada 3 MSI	49
18	Rata-rata waktu antera membengkak, waktu antera pecah dan waktu antera berkalus berdasarkan stadia perkembangan bunga dan media kultur pada kultivar WAL 1702 dengan waktu pendiginan 24 jam pada 3 MSI	51
19	Rata-rata waktu antera membengkak, waktu antera pecah dan waktu antera berkalus berdasarkan stadia perkembangan bunga dan media kultur pada kultivar WAL 1702 dengan waktu pendiginan 48 jam pada 3 MSI	52
20	Rata-rata waktu antera membengkak, waktu antera pecah dan waktu antera berkalus berdasarkan stadia perkembangan bunga dan media kultur pada kultivar WAL 3903 dengan waktu pendiginan 24 jam pada 3 MSI	52

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



21	Rata-rata waktu antera membengkak, waktu antera pecah dan waktu antera berkalus berdasarkan stadia perkembangan bunga dan media kultur pada kultivar WAL 3903 dengan waktu pendiginan 48 jam pada 3 MSI	53
22	Rata-rata waktu antera membengkak, waktu antera pecah dan waktu antera berkalus berdasarkan stadia perkembangan bunga dan media kultur pada kultivar WAL 3904 dengan waktu pendiginan 24 jam pada 3 MSI	54
23	Rata-rata waktu antera membengkak, waktu antera pecah dan waktu antera berkalus berdasarkan stadia perkembangan bunga dan media kultur pada kultivar WAL 3904 dengan waktu pendiginan 48 jam pada 3 MSI	54
24	Rata-rata ukuran antera berdasarkan stadia perkembangan bunga dan media kultur pada kultivar WAL 1702 dengan waktu pendinginan 24 jam pada 3 MSI	56
25	Rata-rata ukuran antera berdasarkan stadia perkembangan bunga dan media kultur pada kultivar WAL 1702 dengan waktu pendinginan 48 jam pada 3 MSI	56
26	Rata-rata ukuran antera berdasarkan stadia perkembangan bunga dan media kultur pada kultivar WAL 3903 dengan waktu pendinginan 24 jam pada 3 MSI	57
27	Rata-rata ukuran antera berdasarkan stadia perkembangan bunga dan media kultur pada kultivar WAL 3903 dengan waktu pendinginan 48 jam pada 3 MSI	57
28	Rata-rata ukuran antera berdasarkan stadia perkembangan bunga dan media kultur pada kultivar WAL 3904 dengan waktu pendinginan 24 jam pada 3 MSI	58
29	Rata-rata ukuran antera berdasarkan stadia perkembangan bunga dan media kultur pada kultivar WAL 3904 dengan waktu pendinginan 48 jam pada 3 MSI	58
30	Penentuan perlakuan kultivar dan waktu pendinginan terbaik terhadap persentase berkalus melalui analisis uji T	61
31	Penentuan perlakuan kultivar dan waktu pendinginan terbaik terhadap waktu mulai berkalus melalui analisis uji T	62
32	Penentuan perlakuan kultivar dan waktu pendinginan terbaik terhadap panjang antera (cm) melalui analisis uji T	62
33	Penentuan perlakuan kultivar dan waktu pendinginan terbaik terhadap lebar antera (cm) melalui analisis uji T	63
34	Jumlah antera membengkak, eksplan pecah dan eksplan berkalus berdasarkan stadia perkembangan bunga dalam media induksi kalus kedua (N6 + 2 ppm 2,4 D) pada beberapa percobaan 2a-2f umur 12 MSI	64
35	Rata-rata persentase warna antera berdasarkan stadia perkembangan bunga dalam media induksi kalus kedua pada beberapa percobaan 2a-2f umur 12 MSI	65
36	Jumlah antera pecah berdasarkan stadia perkembangan bunga dan media regenerasi pada beberapa sub-percobaan 2a-2f umur 12 MSI	66
37	Persentase antera hidup terhadap perlakuan AgNO ₃ dan putresin minggu ke 4, 8 dan 12 MSI	73
38	Jumlah dan rata-rata persentase antera membengkak, persentase antera pecah dan persentase antera berkalus perlakuan AgNO ₃ dan putresin pada minggu ke 4 MSI	75

@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

39	Rata-rata persentase antera membengkak akibat pengaruh interaksi AgNO ₃ dan putresin pada 4 MSI	75
40	Rata-rata persentase antera pecah akibat pengaruh interaksi AgNO ₃ dan putresin pada 4 MSI	75
41	Jumlah dan rata-rata persentase antera membengkak, persentase antera pecah dan persentase antera berkalus perlakuan AgNO ₃ dan putresin pada minggu ke 8 MSI	76
42	Jumlah dan rata-rata persentase antera membengkak, persentase antera pecah dan persentase antera berkalus perlakuan AgNO ₃ dan putresin pada minggu ke 12 MSI	76
43	Rata-rata dan standar deviasi pada waktu eksplan mulai membengkak, eksplan mulai pecah dan eksplan mulai berkalus berdasarkan AgNO ₃ dan putresin pada 4 MSI	77
44	Rata-rata dan standar deviasi pada waktu eksplan mulai membengkak, eksplan mulai pecah dan eksplan mulai berkalus berdasarkan AgNO ₃ dan putresin pada 8 MSI	78
45	Rata-rata dan standar deviasi pada waktu eksplan mulai membengkak, eksplan mulai pecah dan eksplan mulai berkalus berdasarkan AgNO ₃ dan putresin pada 12 MSI	78
46	Rata-rata penambahan panjang dan lebar antera berdasarkan AgNO ₃ dan putresin pada 4 dan 8 MSI	79
47	Rata-rata persentase warna dan tekstur kalus pada pengamatan ke 4, 8 dan 12 MSI	80

DAFTAR GAMBAR

1	Bagan alir penelitian	5
2	Bunga anggrek <i>Phalaenopsis</i> hibrida kompleks. (a) Morfologi bunga <i>Phalaenopsis</i> hibrida kompleks dan (b) Kuncup bunga besar-kecil	9
3	<i>Phalaenopsis</i> hibrida kompleks sebagai materi genetik percobaan satu	18
4	Bentuk ujung daun	20
5	Tipe rangkaian bunga	20
6	Penampakan bunga	20
7	Lebar bunga tampak depan	21
8	Susunan mahkota bunga	21
9	Penampang membujur kelopak	21
10	Penampang melintang kelopak	22
11	Sungut pada <i>apical lobe</i> yang ditandai warna merah	23
12	Bentuk <i>apical lobe</i>	23
13	Tonjolan <i>apical lobe</i>	23
14	Tipe bentuk <i>lateral lobe</i>	23
15	Tipe penampang <i>lateral lobe</i>	24
16	Pengukuran tinggi tanaman	24
17	Pengukuran panjang dan lebar bunga	24
18	Pengukuran panjang rangkaian bunga	25



19	Analisis biplot PCA karakter kualitatif pada beberapa bagian morfologi tanaman <i>Phalaenopsis</i> hibrida kompleks	29
20	Histogram intensitas fluoresensi relatif yang menunjukkan tingkat ploidi diperoleh setelah analisis inti yang diisolasi dari jaringan daun muda kultivar <i>Phalaenopsis</i> hibrida (1702, 1819, 1981, 3903, 3904, 3908) dan <i>Phalaenopsis</i> spesies (<i>P. amabilis</i> (PAB), <i>P. amboinensis</i> (PAM) dan <i>P. schilleriana</i> (PSC))	31
21	Histogram intensitas fluoresensi relatif yang menunjukkan tingkat ploidi diperoleh setelah analisis inti yang diisolasi dari jaringan akar muda kultivar <i>Phalaenopsis</i> hibrida (1702, 1819, 1981, 3903, 3904, 3908) dan <i>Phalaenopsis</i> spesies (<i>P. amabilis</i> (PAB), <i>P. amboinensis</i> (PAM) dan <i>P. schilleriana</i> (PSC))	31
22	Materi genetik percobaan dua	38
23	Stadia perkembangan bunga mekar, ½ mekar dan kuncup	38
24	Deskripsi perubahan bentuk antera dari awal penanaman hingga terbentuk kalus pada kultivar hibrida standar (WAL 1702)	44
25	Deskripsi perubahan bentuk antera dari awal penanaman hingga terbentuk kalus pada kultivar novelty multiflora (WAL3903 atau WAL 3904)	45
26	Respons antera pada beberapa kultivar berdasarkan stadia perkembangan bunga dan pra-perlakuan suhu dingin 24 dan 48 jam pada 3 MSI	50
27	Rata-rata persentase warna kalus berdasarkan stadia perkembangan bunga dan media kultur pada beberapa pada beberapa percobaan 2a-2f pada 3 MSI	60
28	Perubahan warna antera novelty multiflora (kultivar WAL 3903) yang tidak proliferasi pada 12 MSI	65
29	Rata-rata persentase warna kalus berdasarkan stadia perkembangan bunga dan media regenerasi pada beberapa percobaan 2a-2f pada 12 MSI	67
30	Warna kalus pada kultivar WAL 1702, WAL 3903, WAL 3904 pada 12 MSI	68
31	Bunga kultivar WAL 2902	71
32	Deskripsi perubahan bentuk antera dari awal penanaman hingga terbentuk kalus.	74
33	Warna kalus pada pengamatan 2, 4, 6, 8 dan 12 Minggu Setelah Inisiasi	81
34	Persentase perubahan warna antera menuju senesens berdasarkan perlakuan AgNO ₃ dan Putresin pada 4, 8, 12 MSI	82
35	Antera yang tidak berkalus memiliki empat tingkatan warna antera pada pengamatan 12 MSI	83

@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
 1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

DAFTAR LAMPIRAN

1	LB01 Buffer (Doležel <i>et al.</i> 1989) + PVP 100 ppm	105
2	Karakterisasi morfologi sifat kualitatif pada <i>Phalaenopsis</i> hibrida kompleks	106
3	Komposisi senyawa kimia pembuatan media <i>Murashige dan Skoog</i> (MS)	110



4	Komposisi senyawa kimia pembuatan media N6	111
5	Komposisi larutan stok Zat Pengatur Tumbuh (ZPT)	
6	Hasil sidik ragam pada peubah persentase antera membengkak, persentase antera pecah dan persentase antera berkalus pada pengamatan umur 3 MSI percobaan kedua	112
7	Hasil sidik ragam pada peubah waktu antera membengkak, waktu antera pecah dan waktu antera berkalus pada pengamatan umur 3 MSI percobaan kedua	113
8	Hasil sidik ragam pada peubah ukuran antera pengamatan umur 3 MSI percobaan kedua	114
9	Hasil sidik ragam pada peubah persentase antera membengkak, persentase antera pecah dan persentase antera berkalus pada pengamatan umur 4, 8, 12 MSI percobaan ketiga	115

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.