

ANALISIS MORFOLOGI, PLOIDI DAN METABOLOMIK GENUS *COELOGYNE* MUTAN MV4

SITI AGUS TINA



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



PERNYATAAN MENGENAI TESIS DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis dengan judul “Analisis Morfologi, Ploidi dan Metabolomik Genus *Coelogyne* Mutan MV4” 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, Juli 2024

Siti Agus Tina
A2503211018

- 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

SITI AGUS TINA. Analisis Morfologi, Ploidi dan Metabolomik Genus *Coelogyne* Mutan MV4. Dibimbing oleh NI MADE ARMINI WIENDI dan KRISANTINI.

Pengembangan anggrek *Coelogyne* perlu diawali dari eksplorasi morfologi hingga tingkat jaringan dan komposisi senyawa untuk mendapatkan referensi spesies yang potensial. Sembilan spesies yang telah diperoleh dari beberapa daerah di Indonesia kemudian diidentifikasi berdasarkan morfologi yakni *C. fragrans*, *C. dayana*, *C. veruposa*, *C. pandurata*, *C. philodota imbricata*, *C. rouchesenii*, *C. flickingeria angulate*, *C. asperata*, dan *C. mayeriana*. Hasil dendrogram UPGMA berdasarkan *dissimilarity matrix* menunjukkan terdapat tiga kelompok dengan cabang-cabang yang membentuk satu *clade* yakni *C. mayeriana* dan *C. dayana* bergabung menjadi kelompok pertama, kemudian kelompok lainnya adalah *C. rouchesenii*, *C. fragrans*, dan *C. asperata*. Selain itu *C. pandurata* dan *C. philodota imbricata*, merupakan satu kelompok. Kesembilan spesies tersebut memiliki keunikan masing-masing, namun *C. fragrans* memiliki kelebihan dibandingkan dengan semua spesies yakni aroma yang kuat sehingga sangat potensial, akan tetapi dengan morfologi *inflorescence* lemah sehingga mudah rebah, bunga *C. fragrans* juga sangat rentan patah karena pedikel lemah, waktu berbunga hanya sekali pada satu *pseudobulb* sehingga harus menunggu *pseudobulb* baru tumbuh untuk mendapatkan bunga yang mekar. Selain itu hasil analisis histologi menunjukkan nilai rata-rata ketebalan daun lebih kecil dibanding spesies-spesies dari genus *Coelogyne* lainnya. Hal tersebut menyebabkan *C. fragrans* belum banyak dipasarkan pada industri tanaman hias karena pasarnya hanya terbatas pada kolektor anggrek saja. Poliploidi sangat penting dalam hortikultura untuk pengembangan varietas tanaman hias baru dengan sifat morfologi yang diinginkan. Poliploidisasi *in vitro* menggunakan kolkisin telah umum digunakan untuk menginduksi poliploid pada anggrek. Kolkisin adalah penghambat mitosis yang digunakan untuk menginduksi mutan poliploid pada tanaman selama pembelahan sel mereka dengan mencegah pembentukan mikrotubulus dan menggandakan jumlah kromosom yang menghasilkan sel raksasa. Penelitian ini mencoba mengembangkan mutan poliploid *Coelogyne fragrans*, anggrek asli dari Papua, untuk meningkatkan sifat agronomis termasuk kelopak yang lebih besar dan batang yang lebih kokoh, memperpanjang periode berbunga dan memulai bunga agar tidak mudah rontok, meningkatkan aroma bunga selama antesis, dan memulai kuncup bunga yang tahan lama. Analisis morfologi dilakukan untuk tinggi dan berat planlet, diploid memiliki tinggi dan berat tertinggi dibandingkan genotipe lainnya. Selain itu, kami berhasil mendeteksi variasi kromosom euploid dan aneuploid dari 33 genotipe. Beberapa genotipe euploid-poliploid CF.2.4.2, CF.2.4.3 dan CF.10.4.2 adalah tetraploid, CF.8.4.1 dan CF.9.4.1 adalah triploid. Terdapat sebelas genotipe yang diidentifikasi sebagai aneuploid dan dua sebagai mixoploid. Hasil analisis histologis menunjukkan bahwa daun tetraploid dan triploid lebih tebal dibandingkan dengan diploid. Daun mixoploid dari CF.9.4.3 lebih tipis dibandingkan CF.8.4.2. Planlet tetraploid memiliki rata-rata lebar dan panjang stomata serta jumlah kloroplas yang lebih tinggi dibandingkan diploid. Kepadatan stomata lebih tinggi pada diploid dibandingkan tetraploid. Genotipe CF.6.4.3 memiliki rata-rata jumlah trikoma tertinggi dibandingkan genotipe lainnya,

@Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

IPB University

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.



sedangkan CF.1.4.3 paling rendah. Analisis profil metabolomik menunjukkan terdapat 270 senyawa yang terdeteksi dari semua genotipe, setelah filtrasi dilakukan terhadap senyawa didapatkan 74 senyawa dan dikelompokkan berdasarkan gugus fungsi sehingga terdapat 42 kelompok senyawa. Senyawa potensial khas dari genus *Coelogyne* yakni stilbene dan turunannya juga terdapat didalam beberapa mutan poliploid *C. fragrans* yakni genotipe CF.0.4.1, CF.1.4.2, CF.2.4.1, CF.4.4.1, CF.5.4.1, CF.6.4.1, CF.7.4.2, CF.8.4.1, dan CF.9.4.3.

Kata kunci: aneuploid, genus *Coelogyne*, miksoptoid, poliploid, stilben

- 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

SITI AGUS TINA. Morphological, Ploidy and Metabolomic Analysis of Genus *Coelogyne* MV4 Mutant. Supervised by NI MADE ARMINI WIENDI dan KRISANTINI.

The beginning of *Coelogyne* trait improvement comes from morphology exploration, followed by genetic and metabolomic analysis. Nine species collected from several regions in Indonesia were identified based on morphology: *C. fragrans*, *C. dayana*, *C. veruposa*, *C. pandurata*, *C. philodota imbricata*, *C. rouchesenii*, *C. flickingeria angulate*, *C. asperata*, and *C. mayeriana*. The results of the UPGMA dendrogram based on the dissimilarity matrix show three groups with branches forming one clade: *C. mayeriana* and *C. dayana* join into the first group, while the other groups are *C. rouchesenii*, *C. fragrans*, and *C. asperata*. Additionally, *C. pandurata* and *C. philodota imbricata* form one group. Each of the nine species has its own uniqueness; however, *C. fragrans* has an advantage compared to all species due to its strong aroma, making it very potent. However, with a weak inflorescence morphology that easily falls over, *C. fragrans* flowers are also very susceptible to breaking due to weak pedicles. The flowering time is only once per pseudobulb, so a new pseudobulb must grow to get blooming flowers. Moreover, histological analysis shows that the average leaf thickness is smaller compared to other species. This causes *C. fragrans* not to be widely marketed in the ornamental plant industry, limiting its market to orchid collectors. Polyploidy is important in horticulture for the development of new ornamental varieties with desirable morphological traits. The *in vitro* colchicine polyploidization has been commonly used for polyploid-induced in orchid. Colchicine is an mitotic inhibitor to induce polyploidy mutant in plants during their cell division by preventing the microtubule formation and doubling the number of chromosomes that resulting giant cell. This study attempted to develop a polyploid mutant *Coelogyne fragrans*, a native orchid from Papua, to improve the agronomic trait including larger petal and sturdier stem, extending the flowering period and initiating flowers for not fall off easily, increasing the aroma of flowers during anthesis, and initiating long-lasting flower buds. Morphological analysis was done for the plantlet height and weight, the diploid has highest and heaviest weight than other genotypes. Moreover, we successfully detected euploid and aneuploid chromosome variation from 33 genotypes. Some of the euploid-polyploid genotype of CF.2.4.2, CF.2.4.3 and CF.10.4.2 are tetraploid, CF.8.4.1 and CF.9.4.1 are triploid. There are eleven genotypes identified as aneuploid and two as mixoploid. Histological analysis's result shows that tetraploid and triploid leaves are thicker than those of diploid. The mixoploid leaf of CF.9.4.3 was thinner than CF.8.4.2. Tetraploid plantlets had larger number of stomatal width, stomatal length and chloroplast number than diploid. Stomata density shows higher in diploid than the tetraploid. The genotype of CF.6.4.3 has highest trichome than other genotypes, while CF.1.4.3 was lowest. Metabolomic profile analysis detected 270 compounds across all genotypes. After filtering out compounds, 74 compounds were identified and grouped based on functional groups, resulting in 42 compound groups. Potentially unique compounds of the genus *Coelogyne*, namely stilbene and its derivatives, were also found in

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan sumber :

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah

2. Dilarang mengutip dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

several polyploid mutants of *C. fragrans*, specifically in genotypes CF.0.4.1, CF.1.4.2, CF.2.4.1, CF.4.4.1, CF.5.4.1, CF.6.4.1, CF.7.4.2, CF.8.4.1, and CF.9.4.3.

Key words: aneuploid, genus *Coelogyne*, mixoploid, poliployd, stilbene

@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 mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

© 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.

ANALISIS MORFOLOGI, PLOIDI DAN METABOLOMIK GENUS *COELOGYNE* MUTAN MV4

SITI AGUS TINA

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.

Tim Penguji pada Ujian Tesis:

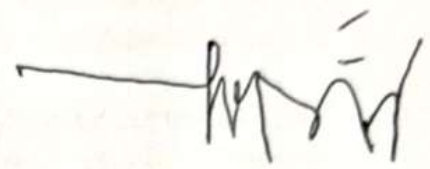
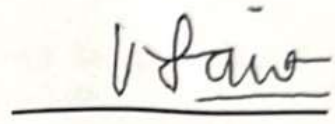
- 1 Prof. Dr. Dewi Sukma, S.P., M.Si.
- 2 Dr. Ir. Yudi Wanti Wahyu E.K., M.S.

Judul Tesis : Analisis Morfologi, Ploidi dan Metabolomik Genus *Coelogyne*
Mutan MV4
Nama : Siti Agus Tina
NIM : A2503211018

@Hak cipta milik IPB University

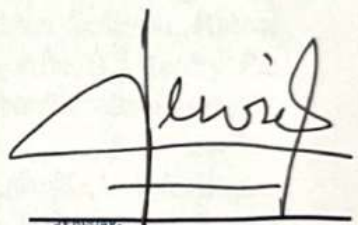
Pembimbing 1:
Dr. Ir. Ni Made Armini Wiendi, M.S.
Pembimbing 2:
Dr. Ir. Krisantini, M.Sc.

Disetujui oleh

Diketahui oleh

Ketua Program Studi:
Prof. Dr. Dewi Sukma, S.P., M.Si.
NIP. 197004041997022000
Dekan Fakultas Pertanian:
Prof. Dr. Ir. Suryo Wiyono, M.Sc. Agr.
NIP. 196902121992031003





Tanggal Ujian: 26 Juli 2024

Tanggal Lulus:

20 AUG 2024



PRAKATA

Puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas segala kebaikan dan karunia-Nya sehingga usulan penelitian ini berhasil diselesaikan. Judul penelitian yakni “Analisis Morfologi, Ploidi dan Metabolomik Genus *Coelogyne* Mutan MV4”. Usulan penelitian ini bertujuan untuk meningkatkan keragaman tanaman anggrek hutan menggunakan mutagen kolkisin.

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Dr. Ir. Ni Made Armini Wiendi, M.S. dan Dr. Ir. Krisantini, M.Sc. selaku pembimbing dalam penelitian ini. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada:

1. Institut Pertanian Bogor Penugasan Penelitian Dosen Skema Riset Fundamental (RI-FUND) tahun anggaran 2023-2024 dengan nomor kontrak 440/IT3.D10/PT.01.03/P/B/2023 dengan ketua peneliti Dr. Ir. Ni Made Armini Wiendi, MS.
2. Orang tua saya yang tersayang yang telah memberi motivasi dan dukungan materi dan moral selama penulis melaksanakan pendidikan magister.
3. Para dosen Program Studi Pemuliaan dan Bioteknologi Tanaman yang telah memberi ilmu pengetahuan.
4. Staf Laboratorium Kultur Jaringan 2 yakni Bu Erina, staf Laboratorium Kultur Jaringan 1 yakni Bu Juju yang telah membantu peneliti dalam melakukan pembuatan aceto orcein dan staf Laboratorium Mikroteknik yakni Pak Joko yang telah membantu peneliti selama proses analisis histologi dan sitologi.
5. Teman-teman seperjuangan antara lain Apkris VZ, Ma’rifatus Solihah, Ratna Kartika Putri, M. Habib, Mukhlisin, Aldhi R., Cahyati R., Ade B., Rezky P., Ratna S., Shopia, M. Sharizal A, Habibi, Putri C. yang membantu selama proses penelitian.
6. Teman-teman yang selalu bekerja bersama dengan saya di Lab. Kultur Jaringan 2 antara lain Nur Azizah, Sindi P.M., Metha D., dan Yasmin Z. yang membantu selama proses penelitian. Semoga karya ilmiah ini bermanfaat bagi pihak yang membutuhkan dan bagi kemajuan ilmu pengetahuan.

Bogor, Juli 2024

Siti Agus Tina

DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan	2
1.3 Manfaat	2
1.4 Hipotesis	2
1.5 Ruang Lingkup	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Anggrek <i>Coelogyne</i> sp.	4
2.2 Anggrek <i>Coelogyne fragrans</i> Schltr.	4
2.3 Anggrek <i>Coelogyne pandurata</i>	5
2.4 Anggrek <i>Coelogyne dayana</i>	6
2.5 Anggrek <i>Coelogyne asperata</i>	7
2.6 Anggrek <i>Coelogyne rouchusenii</i>	7
2.7 Anggrek <i>Coelogyne flickingeria angulata</i>	7
2.8 Poliploidi	8
2.9 Sitologi Anggrek	9
2.10 Metabolit Sekunder Anggrek Genus <i>Coelogyne</i> sp.	9
III. METODE	11
3.1 Percobaan 1: Analisis Morfologi dan Histologi pada 9 spesies <i>Coelogyne</i> sp.	12
3.2 Percobaan 2: Analisis Morfologi, Histologi, Sitologi dan Metabolomik Mutan <i>C. fragrans</i> Generasi MV4	13
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	18
4.1 Morfologi dan Histologi 9 Spesies <i>Coelogyne</i>	18
4.2 Morfologi, Histologi, Sitologi dan Metabolomik Genotipe-Genotipe Kandidat Mutan <i>Coelogyne fragrans</i> MV4	23
V. SIMPULAN DAN SARAN	36
5.1 Simpulan	36
5.2 Saran	36
DAFTAR PUSTAKA	37

DAFTAR TABEL

1	Sampel pada percobaan analisis histologi dari genus <i>Coelogyne</i> sp.	13
2	Perlakuan induksi mutasi poliploid pada <i>Coelogyne fragrans</i>	15
3	Pengamatan morfologi 9 spesies <i>Coelogyne</i>	19
4	Parameter pengamatan histologi pada 9 spesies <i>Coelogyne</i>	22
5	Parameter pada pengamatan histologi pada planlet <i>C. fragrans</i> MV4 pada masing-masing genotipe	26
6	Jumlah kromosom planlet <i>C. fragrans</i> MV4 pada masing-masing genotipe tiap sel beserta level ploidi	29
7	Hasil analisis sitologi beberapa genotipe yang merupakan genotipe mutan diploid, tetraploid, triploid, dan mixoploid	30
8	Kategori rata-rata nilai hasil analisis histologi genotipe-genotipe mutan <i>C. fragrans</i> MV4.	33
9	Senyawa potensial pada beberapa genotipe mutan <i>C. fragrans</i> MV4 hasil analisis GCMS <i>non-targeted</i>	35

DAFTAR GAMBAR

1	Diagram alir penelitian	3
2	Bunga <i>Coelogyne fragrans</i>	4
3	Tanaman dan organ reproduktif anggrek <i>Coelogyne fragrans</i> Schltr.	5
4	Bunga <i>Coelogyne pandurata</i>	6
5	Bunga <i>Coelogyne dayana</i>	6
6	Bunga <i>Coelogyne asperata</i>	7
7	Bunga <i>Coelogyne roushousenii</i>	7
8	Bunga <i>Coelogyne flickingeria angulata</i>	8
9	Struktur kimia kolkisin	9
10	Struktur kimia stilbene, <i>Coeloginanthrin</i> , <i>Coeloginanthridin</i> dan <i>Coeloginin</i>	10
11	Morfologi beberapa spesies <i>Coelogyne</i>	20
12	<i>Dendrogram</i> 9 spesies <i>Coelogyne</i> sp. berdasarkan morfologi tanaman	21
13	Tinggi planlet pada genotipe-genotipe kandidat mutan MV4	23
14	Bobot planlet pada genotipe-genotipe kandidat mutan MV4	24
15	Penampang daun yang menunjukkan stomata dan trikoma	27
16	Stomata, trikoma dan ketebalan daun pada genotipe CF.0.4.1 (Diploid), CF.8.4.2 (Mixoploid), CF.9.4.1 (Triploid), CF.10.4.2 (Tetraploid)	28
17	Analisis korelasi antar jumlah kromosom dan beberapa parameter	31
18	Pengelompokkan senyawa menggunakan <i>heatmap</i> pada genotipe-genotipe mutan <i>C. fragrans</i> MV4.	34



DAFTAR LAMPIRAN

1	Hasil analisis histologi untuk menghitung pada mutan <i>C. fragrans</i> MV4	42
2	Hasil analisis sitologi pada mutan <i>C. fragrans</i> MV4	45
3	Riwayat hidup	49

- 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.

