

**STUDI KARAKTERISASI ANGGREK SECARA SITOLOGI
DALAM RANGKA PELESTARIAN PLASMA NUTFAH
(Characterization Study in Orchid Cytology in Order Preservation Germplasm)**

Sri Hartati^{1)*}, Linayanti Darsana¹⁾, Ongko Cahyono²⁾

¹⁾Fakultas Pertanian, Universitas Sebelas Maret

²⁾Fakultas Pertanian, Universitas Tunas Pembangunan Surakarta

* Contact Author : tatik_oc@yahoo.com

ABSTRACT

Character was very important cytological nature orchids studied to support the success of breeding orchids. The purpose of the research to study the cytological characters orchid (number, size) and chromosome karyotype in order to conserve germplasm. The study was conducted at the Laboratory of Biotechnology Faculty of Agriculture University Sebelas Maret Surakarta. Materials research Paphiopedilum glaucophyllum, Coelogyne spesiosa, Dendrobium crumenatum, Dendrobium mutabile, Bulbophyllum blumei dan Bulbophyllum beflorum. The method uses squashing methods include : fixation : Carnoy solution of 2 (6 ethanol : 3 chloroform : 1 glacial acetic acid 45 %), hydrolysis (1 N HCl) and staining chromosomes (aceto - orcein solution 2 %). Observations (number, size, shape) chromosomes with a light microscope. The results showed that the studied semua orchids have the same chromosome number is $2n = 38$, medium size chromosomes Paphiopedilum glaucophyllum 4.26 ± 0.14 to 9.73 ± 0.19 , Coelogyne spesiosa 0.35 ± 0.03 to 6.30 ± 0.84 , Dendrobium crumenatum 2.46 ± 0.20 until 5.33 ± 0.02 Dendrobium mutabile 2.56 ± 0.72 until 6.54 ± 0.73 , Bulbophyllum blumei 2.76 ± 0.09 until 6.07 ± 0.43 and Bulbophyllum beflorum 1.04 ± 0.07 sampai 1.35 ± 0.16 . Karyotype patterns all orchids studied $2n = 38 m$ except Coelogyne spesiosa $2n = 37 m + 1 ak$ and Dendrobium mutabile $2n = 37 m + 1 sm$

Keywords : orchid nature , character , morphology , germplasm , cytology

PENDAHULUAN

Anggrek alam adalah keanekaragaman hayati yang perlu dijaga kelestariannya, karena semakin mendekati kepunahan. Anggrek alam memiliki keindahan yang dapat menjadi kebanggaan suatu bangsa dan dijadikan bunga nasional. Di seluruh dunia, ada sekitar 12 negara yang telah menjadikan anggrek alam khas negaranya sebagai bunga nasional (Leon, 2009).

Anggrek alam atau anggrek hutan biasanya dikenal sebagai anggrek species. Anggrek-anggrek species ini tumbuh alami di tempat yang tidak terpelihara oleh manusia. Anggrek-anggrek species ini memegang peranan penting sebagai induk persilangan (Sarwono, 2002). Salah satu upaya untuk meningkatkan mutu bunga anggrek atau

mendapatkan kultivar baru adalah dengan menyilangkan antar tetua yang mempunyai karakter-karakter tertentu.

Menurut Parnata (2005) anggrek merupakan tanaman hias yang sangat prospektif dan mempunyai nilai ekonomis tinggi karena bentuk dan warna bunga yang menarik serta mempunyai daya tahan yang lama. Anggrek sebagai salah satu jenis tanaman hias dengan segala keunikannya yang memukau telah menarik perhatian para penggemar tanaman hias baik dari dalam maupun luar negeri. Pengenalan tanaman anggrek alam berdasarkan karakter sitologi akan sangat mendukung keberhasilan pemuliaan tanaman anggrek.

Peloqin (1981) dalam Parjanto *et al.* (2003) mengemukakan bahwa temuan-temuan baru di bidang sitogenetika dapat

berguna untuk mendukung program pemuliaan tanaman, baik secara tidak langsung yaitu berupa peningkatan pengetahuan susunan genetik suatu jenis tanaman, maupun secara langsung yang berupa penerapan teknik sitogenetika untuk perbaikan sifat tanaman. Oleh karena itu perlu diperlukan penelitian terhadap beberapa anggrek alam untuk menambah pengetahuan mengenai variasi (perbedaan) susunan genetik dalam rangka pelestarian plasma nutfah.

BAHAN DAN METODE

Bahan: akar tanaman anggrek hasil pengelompokan (analisis kluster) penelitian tahun pertama *Paphiopedilum glaucophyllum*, *Coelogyne spesiosa*, *Dendrobium crumenantum*, *Dendrobium mutabile* *Bulbophyllum blumei*, *Bulbophyllum beflorum*.

Penelitian dilakukan di Laboratorium Fisiologi dan Bioteknologi Fakultas Pertanian UNS Surakarta, mulai bulan April 2013 sampai Oktober 2013

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode *squash* (pencet) yang merupakan salah satu metode yang digunakan untuk pembuatan preparat.

Pelaksanaan penelitian. Pembuatan preparat : (a) Pengambilan bahan dilakukan dengan memotong bagian akar yang meristematis sepanjang ± 5 mm dari ujung akar, mulai pukul 06.00-08.00 WIB. Ujung akar yang sudah dipotong kemudian dicuci dengan air bersih. (b) Potongan akar yang sudah dicuci bersih direndam dalam botol flakon yang berisi aquades selama 24 jam, dalam lemari pendingin dengan suhu 5°C kemudian dicuci dengan aquades 3 kali. (c) Fiksasi dilakukan dengan merendam bahan ke dalam larutan asam asetat 45% dan disimpan dalam refrigerator pada suhu 5°C selama ± 1 jam. Bahan yang telah selesai difiksasi, selanjutnya dicuci dengan aquadest sebanyak 3 kali. (d) Hidrolisis dilakukan dengan merendam bahan ke dalam larutan HCL 1 N dan

disimpan dalam oven bersuhu 60°C selama ± 5 menit. (e) Pewarnaan dilakukan dengan merendam bahan ke dalam larutan aceto orcein 2% dan disimpan dalam refrigerator pada suhu 5°C selama ± 24 jam. (f) *Squashing* (pemencetan) dilakukan dengan mengambil bagian potongan ujung akar meristematis sepanjang $\pm 0,5$ mm dari ujung akar dan diletakkan di atas gelas preparat. Selanjutnya ditetesi dengan larutan asam asetat 45% dan ditutup dengan gelas penutup kemudian dipencet (*squash*) dengan ibu jari atau dengan menggunakan pensil yang diketuk-ketukkan secara perlahan (Damayanti dan Mariska, 2003).

Variabel Pengamatan meliputi: jumlah, ukuran, bentuk, kromosom dan pola karyotipe

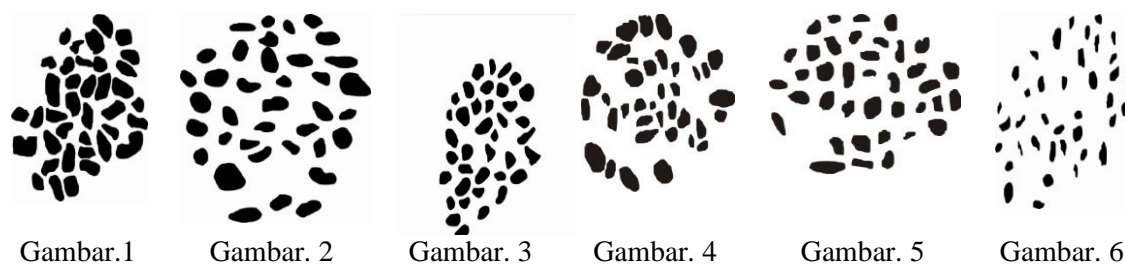
Analisis Data : Hasil pengamatan dianalisis secara deskriptif berdasarkan pengamatan dari gambar kromosom hasil pemotretan dan data pengamatan ukuran dan bentuk kromosom. Selanjutnya hasil pengamatan digunakan untuk menentukan kariotipe.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Jumlah kromosom

Jumlah kromosom merupakan karakteristik kromosom yang paling mudah diamati jika dibandingkan dengan karakteristik kromosom yang lainnya seperti bentuk kromosom dan kariotipe. Hasil penelitian menunjukkan bahwa anggrek *Paphiopedilum glaucophyllum* memiliki, *Coelogyne spesiosa*, *Dendrobium crumenantum* jumlah kromosom $2n = 38$ (gambar 1, 2 dan 3).

Demikian pula hasil penelitian pada anggrek *Dendrobium mutabile* *Bulbophyllum blumei*, *Bulbophyllum beflorum* (gambar 4, 5 dan 6) mempunyai jumlah kromosom $2n = 38$. Penelitian membuktikan, jumlah dan bentuk kromosom pada setiap sel spesies tumbuhan adalah tetap. Hal ini sesuai dengan pendapat Yadav dan Bose (1989) cit Soetopo (2009), bahwa jumlah



Gambar. 1,2,3,4,5,6. Kromosom dari *Paphiopedilum glaucophyllum*, *Coelogyne spesiosa*, *Dendrobium crumenantum*, *Dendrobium mutabile*, *Bulbophyllum blume*, dan *Bulbophyllum beflorum*

kromosom dasar (n) pada family Orchidaceae yang paling sering didapati adalah 19, 20, dan 21 dengan $2n = 38$, $2n = 40$, serta $2n = 42$

Hasil penelitian Utami dan Hartati (2012) bahwa jumlah kromosom anggrek *Phalaenopsis pinlongcinderela* dan *Phalaenopsis Joane Killeup June* $2n = 40$, *Vanda tricolor* $2n = 38$. Menurut Hoffmann (1930), Duncan (1959) dan Blumenschein (1960) *cit Naturemagics* (2010) jumlah kromosom anggrek yaitu $n = 19-20$. Jenis anggrek yang memiliki jumlah kromosom $n = 19$ lebih banyak dari pada yang memiliki jumlah kromosom $n = 20$. Terdapat sekitar 280 spesies anggrek memiliki jumlah kromosom $n = 19$ sedangkan yang memiliki jumlah kromosom $n = 20$ sekitar 274 spesies. *Vanda tricolor* termasuk salah satu spesies anggrek yang memiliki jumlah kromosom $n = 19$.

2. Ukuran kromosom

Perbedaan kromosom menggambarkan perbedaan kandungan genetik pada suatu individu. Variasi utama yang dapat diamati yaitu ukuran atau panjang absolute, sifat kromosom terhadap pewarnaan, morfologi, ukuran relative dan jumlah kromosom. Individu dalam satu spesies mempunyai jumlah kromosom sama tetapi spesies yang berbeda dalam satu genus mempunyai jumlah kromosom berbeda (Suliantini *et al.*, 2004).

Ukuran kromosom dapat diketahui dengan melakukan pengukuran panjang lengan kromosom. Panjang lengan

kromosom yang diamati meliputi panjang lengan panjang kromosom (q) dan panjang lengan pendek kromosom (p), sehingga bisa diketahui panjang total kromosom (q+p). Hasil penelitian menunjukkan perbedaan ukuran kromosom yaitu Ukuran kromosom *Paphiopedilum glaucophyllum* bervariasi antara 4.26 ± 0.14 sampai 9.73 ± 0.19 , *Coelogyne spesiosa* antara 0.35 ± 0.03 sampai 6.30 ± 0.84 , *Dendrobium crumenantum* 2.46 ± 0.20 sampai 5.33 ± 0.02 *Dendrobium mutabile* 2.56 ± 0.72 sampai 6.54 ± 0.73 , *Bulbophyllum blume* 2.76 ± 0.09 sampai 6.07 ± 0.43 dan *Bulbophyllum beflorum* 1.04 ± 0.07 sampai 1.35 ± 0.16 .

Pada sel yang berbeda dapat terjadi perbedaan ukuran panjang kromosom yang disebabkan tingkat kondensasi kromosom (Parjanto *et al.*, 2003). Tipe dan jumlah kromosom setiap makhluk hidup berbeda-beda. Dengan mikroskop cahaya, seluruh kromosom dapat dibedakan satu dengan yang lain dari penampilannya. Hal ini dikarenakan ukuran kromosom dan posisi sentromernya berbeda. Masing-masing kromosom juga memiliki suatu pola pita atau garis tertentu ketika diberi zat warna tertentu. Tampilan visual kromosom setiap individu dinamakan kariotipe (Ilham, 2009).

3. Bentuk kromosom

Dari hasil penelitian ini menunjukkan bahwa hampir semua anggrek yang diteliti mempunyai bentuk metasentrik, kecuali anggrek

Dendrobium mutabile pada kromosom no 17 mempunyai bentuk submetasentrik dan anggrek *Coelogyne spesiosa* semua metasentrik kecuali kromosom no 10 yaitu akrosentrik.

Menurut Suminah *et al.* (2002) Tumbuhan umumnya sering memiliki kromosom bentuk metasentrik.

Penelitian membuktikan, jumlah dan bentuk kromosom pada setiap sel spesies tumbuhan adalah tetap. Setiap sel mempunyai jumlah kromosom yang khas dan setiap kromosom dalam satu spesies mempunyai struktur yang khas pula. Konsistensi kromosom banyak dimanfaatkan oleh para ahli taksonomi untuk membantu memecahkan permasalahan yang berhubungan dengan morfologi tumbuhan (Wulandari *et al.*, 2006).

Bentuk kromosom dapat dibedakan berdasarkan letak sentromer. Letak sentromer merupakan salah satu sifat morfologi kromosom yang penting dalam identifikasi kromosom. Penggolongan bentuk kromosom dibedakan berdasarkan rasio lengan kromosom ($r = q/p$) dengan mengikuti cara Ciupercescu *et al.* (1990) cit Parjanto *et al.* (2003).

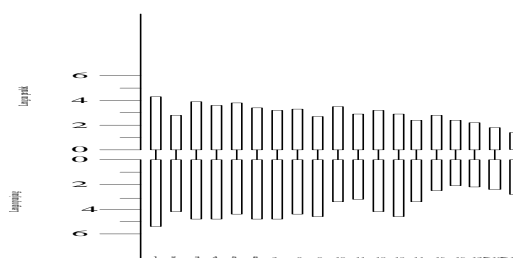
Parjanto *et al.* (2003) dalam penelitiannya tentang kariotipe salak, membuat preparat dengan metode squash (pemencetan) menggunakan ujung akar yang meristematis. Penggunaan ujung akar dalam pembuatan preparat lebih mudah daripada penggunaan bagian lain karena saat mengamati kromosom dengan menggunakan ujung akar maka pengamatan tidak akan terganggu dengan adanya kloroplas maupun organel lain dalam sel tumbuhan.

4. Karyotipe

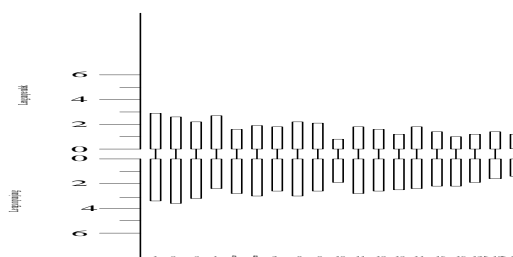
Analisis kariotipe merupakan pengaturan secara standar berdasarkan jumlah, panjang, serta bentuk kromosom dari sel somatik dan sel kelamin (Supriharti, 2007). Kariotipe merupakan penciri spesies. Sastrosumarjo (2006) menjelaskan bahwa secara umum

kariotipe dapat digunakan untuk: 1) Alasan taksonomi yang berhubungan dengan klasifikasi, 2) Analisis galur substitusi dari monosomik atau polisomik, dan 3) Studi reorganisasi kromosomal.

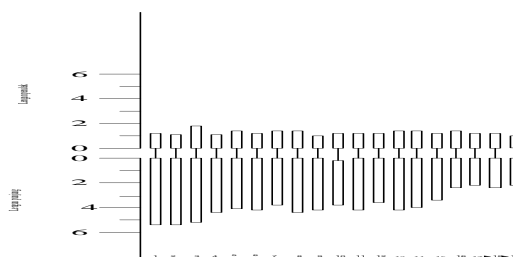
Susunan kariotipe dapat digunakan untuk mengetahui penyimpangan kromosom baik dalam jumlah dan struktur kromosom yang terjadi pada waktu pembelahan sel dan dapat dicari hubungannya dengan kelainan yang terjadi pada anatomi, morfologi, dan fisiologi suatu makhluk hidup. Pola karyotipe *Paphiopedillum glaucophyllum* $2n = 38 m$, *Dendrobium crumenantum* $2n = 38$, *Bulbophyllum blumei* $2n = 38 m$, *Bulbophyllum beflorum* $2n = 38 m$ sedang *Coelogyne spesiosa* $2n = 37 m + 1 ak$ dan *Dendrobium mutabile* $2n = 37 m + 1 sm$.



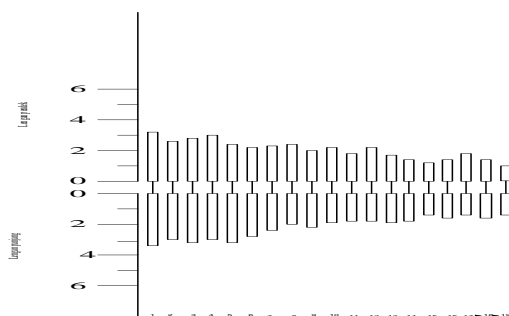
Gambar 7. Idiogram anggrek alam *Paphiopedillum glaucophyllum*



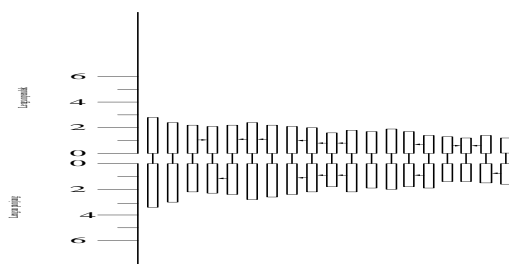
Gambar 8. Idiogram anggrek alam *Coelogyne spesiosa*



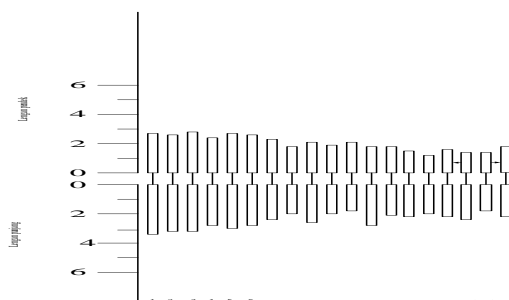
Gambar 9. Idiogram anggrek alam *Dendrobium crumenantum*



Gambar 10. Idiogram anggrek alam *Dendrobium mutabile*



Gambar 11. Idiogram anggrek alam *Bulbophyllum blume*



Gambar 12. Idiogram anggrek alam *Bulbophyllum beflorum*

Kariotipe kromosom dapat diperjelas dengan pembuatan Idiogram berdasar ukuran kromosom. Penyusunan idiogram didasarkan pada rata-rata panjang absolute dan bentuk kromosom. Susunan kromosom dalam bentuk idiogram dapat dilihat pada gambar 7, gambar 8, gambar 9 gambar 10, gambar 11, dan gambar 12.

Kromosom yang dipasangkan dengan homolognya sering kali mempunyai kemiripan bentuk dan ukuran sehingga menimbulkan kesulitan dalam penentuan pasangan homolog. Untuk mengatasinya perlu dilakukan identifikasi kromosom dengan teknik pemetaan kromosom (*chromosome banding*). Melalui pemetaan kromosom,

identifikasi kromosom homolog secara individual dapat dilakukan sehingga penentuan pasangan kromosom homolog dapat dilakukan secara akurat (Parjanto *et al.*, 2003).

5. Indeks Asimetri Kromosomal

Sifat morfologi kromosom dapat dideskripsikan menurut derajat simetri kariotipe yaitu indeks asimetri intrakromosom (A1) dan indeks asimetri interkromosom (A2). Nilai indeks asimetri interkromosom (A2) digunakan untuk mengetahui penyimpangan (dispersi) ukuran kromosom dalam satu kariotipe.

KESIMPULAN

1. Jumlah Kromosom Anggrek *Paphiopedilum glaucophyllum*, *Coelogyne speciosa*, *Dendrobium crumenantum*, *Dendrobium mutabile* dan *Bulbophyllum blume* dan *Bulbophyllum beflorum* mempunyai jumlah kromosom yang sama yaitu $2n = 38$
2. Ukuran kromosom *Paphiopedilum glaucophyllum* bervariasi antara 4.26 ± 0.14 sampai 9.73 ± 0.19 , *Coelogyne spesiosa* antara 0.35 ± 0.03 sampai 6.30 ± 0.84 , *Dendrobium crumenantum* 2.46 ± 0.20 sampai 5.33 ± 0.02 *Dendrobium mutabile* 2.56 ± 0.72 sampai 6.54 ± 0.73 , *Bulbophyllum blume* 2.76 ± 0.09 sampai 6.07 ± 0.43 dan *Bulbophyllum beflorum* 1.04 ± 0.07 sampai 1.35 ± 0.16
3. Pola kariotipe *Paphiopedillum glaucophyllum* $2n = 38 m$, *Dendrobium crumenantum* $2n = 38$, *Bulbophyllum blumei* $2n = 38 m$, *Dendrobium crumenantum* $2n = 38 m$ sedang *Coelogyne spesiosa* $2n = 37 m + 1 ak$ dan *Dendrobium mutabile* $2n = 37 m + 1 sm$
4. Nilai Indeks Asimetri Intrakromosomal (A1) dan Indeks Asimetri Interkromosomal (A2) pada anggrek *Paphiopedillum glaucophyllum*

adalah $A1 = 0.78 \pm 0.62$ dan $A2 = 0.14 \pm 0.78$, anggrek *Coelogyne spesiosa* $A1 = 0.74 \pm 0.46$ dan $A2 = 0.24 \pm 0.81$, anggrek *Dendrobium crumentum* $A1 = 0.80 \pm 0.33$ dan $A2 = 0.14 \pm 0.78$, anggrek *Dendrobium mutabile* $A1 = 0.87 \pm 0.21$ dan $A2 = 0.07 \pm 0.80$, anggrek *Bulbophyllum Blumei* $A1 = 0.87 \pm 0.18$ dan $A2 = 0.05 \pm 0.77$, sedangkan anggrek *Bulbophyllum beflorum* $A1 = 0.91 \pm 0.15$ dan $A2 = 0.06 \pm 0.73$.

DAFTAR PUSTAKA

- Begum, R dan Sheikh, S.A. 2005. Karyotype Analysis Of Seven Orchid Species From Bangladesh. *Bangladesh. J. Bot.* 34(1): 31-36, 2005.
- Damayanti, Fitri dan Mariska, Ika. 2003. Induksi Poliploid dengan Kolkisin pada Hibrid F₁ Hasil Persilangan Antar Spesies Pada Tanaman Panili Asal Ciamis. *Jurnal Ilmiah Nasional.* 6(4): 590-594.
- Hartati, S. 2011. Identifikasi Keragaman Anggrek Alam Hasil Persilangan Internegerik Secara Morfologi dan Sitologi Dalam Mendukung Perkembangan Anggrek Di Indonesia. *Laporan Penelitian.*
- Ilham. 2009. *Menganal Kromosom.* <http://ilhamgegesik.blogspot.com>. Diakses tanggal 24 Januari 2010.
- Leon, P. 2009. *Anggrek Alam: Warisan Alam yang Perlu Dilestarikan.* NewsLetter Ciffor: Riak Bumi.
- Naturemagics. 2010. Basic Chromosome number in Orchidaceae. <http://www.orchids.co.in>. Diakses 31 Januari 2011
- Parjanto, S. Muliopawiro, W. T. Artama dan A. Purwantoro. 2003. Kariotipe Kromosom Salak. *Zuriat.* 14(2):21-28.
- Parnata, A. S. 2005. *Panduan Budidaya dan Perawatan Anggrek.* Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Sastrosumarjo, S. 2006. Panduan laboratorium, hal. 38 - 63. Dalam S. Sastrosumarjo (Ed. Sitogenetika Tanaman. IPB Press. Bogor.
- Soetopo, Lita. 2009. *Pemuliaan Tanaman Anggrek.* CV. Asrori. Malang.
- Stack S. M., and D. E. Comings. 1979. The chromosomes and DNA of *Allium cepa*. *J. CHROMOSOMA.* 70:161 - 181.
- Suliartini, N., A. Purwantoro dan E. Sulistyaningsih. 2004. Keragaman Genetik dalam Spesies *Caladium bicolor* Berdasarkan Analisis Kariotipe. *Agrosains.* 17(2): 235-244.
- Suminah, Sutarno dan A.D. Setyawan. 2002. Induksi Poliploid Bawang Merah (*Allium ascalonicum* L.) dengan Pemberian Kolkisin. *Biodiversitas.* 3(1) : 174-180.
- Suprihati, D., Elimasni, E. Sabri. 2007. Identifikasi kariotipe terung belanda (*Solanum betaceum* Cav.) kultivar Brastagi Sumatera Utara. *Jurnal Biologi Sumatera Utara.* 2(1): 7 - 11.
- Utami D dan Hartati, S. 2012. Perbaikan Genetik Anggrek Melalui Persilangan Intergenerik Dan Perbanyakkan Secara *Invitro* Dalam Mendukung Perkembangan Anggrek Di Indonesia (Penelitian Lanjutan). *Jurnal Agrineca.* Vol 12 No 2 September 2012. ISSN 0854-2813.
- Wulandari, P. A., Marsusi dan A. D. Setyawan. 2006. Kariotipe Anggota Genus *Hippeastrum* Familia Amarillidaceae. *Bio Smart.* 8(1): 1-7.