



**PENGARUH MUTAGEN KIMIA *ETHYL METHANE SULFONATE* (EMS)
TERHADAP PERTUMBUHAN TANAMAN ANGGREK
(*Dendrobium* sp.) SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

Oleh :

**KHAIRANA MILLENNIA MARTHA
NIM 181510501029**

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER**

2022



**PENGARUH MUTAGEN KIMIA *ETHYL METHANE SULFONATE* (EMS)
TERHADAP PERTUMBUHAN TANAMAN ANGGREK
(*Dendrobium* sp.) SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

Diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan studi pada Program Studi Agroteknologi (S1) dan mencapai gelar Sarjana Pertanian

Oleh:

KHAIRANA MILLENNIA MARTHA

NIM 181510501029

Dosen Pembimbing:

Dr. Ir. Parawita Dewanti, M.P.

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2022**

PERSEMBAHAN

Dengan Puji Syukur atas kehadiran Allah SWT, saya persembahkan karya tulis ilmiah ini kepada:

1. Kedua orang tua yang sangat saya cintai Bapak Joko Purnomo dan Ibu Dwi Parmiasih, serta adik saya Riviansyah Putra Pranata yang selalu memberikan dukungan dan doa sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi hingga mendapat gelar Sarjana Pertanian.
2. Ibu Dr. Ir. Parawita Dewanti, MP. selaku dosen pembimbing skripsi yang senantiasa selalu memberikan masukan, kritik, serta saran yang sangat membangun dalam penyusunan skripsi ini.
3. Bapak Ir. Didik Pudji Restanto, MS., Ph.D. selaku dosen penguji 1 dan Ibu Tri Ratnasari, S.Si., M.Si. selaku dosen penguji 2 yang telah memberikan evaluasi dan motivasi demi kesempurnaan skripsi ini.
4. Seluruh pihak di Gedung CDAST Universitas Jember yang telah membantu demi kelancaran penelitian saya.
5. Almamater Fakultas Pertanian Universitas Jember

MOTTO

“Work hard in silence, let success be your noise”

(Frank Ocean)

“We can’t direct the wind, but we can adjust the sails”

(Thomas S. Monson)

“Do it because it’s in your heart. Not because you want something in return”

(Socrates)



PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Khairana Millennia Martha

NIM : 181510501029

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya tulis ilmiah yang berjudul **“Pengaruh Mutagen Kimia *Ethyl Methane Sulfonate* (EMS) Terhadap Pertumbuhan Tanaman Anggrek (*Dendrobium Sp.*) Secara *In Vitro*”** adalah benar-benar karya saya sendiri, kecuali kutipan yang sudah disebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggungjawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 1 November 2022

Yang menyatakan

Khairana Millennia Martha
NIM.181510501029

SKRIPSI

**PENGARUH MUTAGEN KIMIA *ETHYL METHANE SULFONATE* (EMS)
TERHADAP PERTUMBUHAN TANAMAN ANGGREK
(*Dendrobium* sp.) SECARA *IN VITRO***

Oleh:

Khairana Millennia Martha

NIM 181510501029

Dosen Pembimbing:

Dr. Ir. Parawita Dewanti, M.P.

NIP. 196504251990022002

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “**Pengaruh Mutagen Kimia *Ethyl Methane Sulfonate (EMS)* Terhadap Pertumbuhan Tanaman Anggrek (*Dendrobium Sp.*) Secara *In Vitro***” telah diuji dan disahkan pada:

Hari, tanggal : Selasa, 1 November 2022

Tempat : Fakultas Pertanian, Universitas Jember

Dosen Pembimbing Skripsi,

Dr. Ir. Parawita Dewanti, M.P.
NIP. 196504251990022002

Dosen Penguji Utama,

Ir. Didik Pudji Restanto, MS., Ph.D.
NIP. 196504261994031001

Dosen Penguji Anggota,

Tri Ratnasari, S.Si., M.Si.
NIP. 198509182019032011

Mengesahkan
Dekan,

Prof. Dr. Ir. Soetriono, M.P.
NIP. 196403041989021001

RINGKASAN

Pengaruh Mutagen Kimia *Ethyl Methane Sulfonate* (EMS) Terhadap Pertumbuhan Tanaman Anggrek (*Dendrobium* sp.) Secara *In Vitro*; Khairana Millennia Martha; 181510501029; 2022; Program Studi Agroteknologi; Fakultas Pertanian, Universitas Jember.

Upaya yang dapat dilakukan untuk memfokuskan dan memperbaiki tanaman khususnya pada warna, bentuk, variasi bunga, dan ukuran serta ketahanan terhadap hama dan penyakit salah satunya adalah dengan melakukan teknik pemuliaan tanaman. Perbanyak tanaman secara *in vitro* melalui mutasi adalah salah satu metode alternatif untuk menambah keragaman genetik dan memperluas variasi dari suatu tanaman khususnya anggrek. Tujuan dari adanya penelitian ini adalah untuk mengetahui konsentrasi *Ethyl Methane Sulfonate* (EMS) yang terbaik terhadap pertumbuhan tanaman anggrek (*Dendrobium* sp.). Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 2 faktor yaitu pemberian konsentrasi EMS 0%, 0,025%, 0,05%, dan 0,075% pada plb dan lama perendaman selama 12 dan 24 jam, lalu setiap perlakuan akan diulang sebanyak 3 kali.

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, terdapat 98 planlet anggrek mutan yang dapat bertahan hidup dari 105 planlet anggrek mutan yang ditanam. Tingkat letalitas planlet anggrek yang telah dimutasi dipengaruhi seiring bertambahnya konsentrasi mutagen EMS yang digunakan. Hasil mutasi plb anggrek didapatkan struktur tanaman yang bervariasi dan memiliki tinggi planlet dengan rentang 1,1 – 4,5 cm. Pertumbuhan tunas yang didapatkan juga beragam, beberapa planlet mengalami multiplikasi tunas sehingga dapat meningkatkan jumlah helai daun. EMS dapat mengakibatkan perubahan fenotip salah satunya pada morfologi daun anggrek yang bervariasi serta warna daun yang mengalami mutasi klorofil. Penelitian ini menunjukkan bahwa mutagenesis menggunakan EMS mampu menghasilkan jumlah variabilitas dalam planlet anggrek *Dendrobium Gabriella Suryajaya*.

SUMMARY

Effect of Chemical Mutagen Ethyl Methane Sulfonate (EMS) on the Growth of Orchid (*Dendrobium* sp.) In Vitro; Khairana Millennia Martha; 181510501029; 2022; Agrotechnology Study Program; Faculty of Agriculture, University of Jember.

Efforts that can be made to focus and improve plants, especially on color, shape, variety of flowers, and size and resistance to pests and diseases, one of which is by using plant breeding techniques. In vitro plant propagation through mutation is an alternative method to increase genetic diversity and expand the variety of a plant, especially orchids. The purpose of this study was to determine the best concentration of Ethyl Methane Sulfonate (EMS) on the growth of orchids (*Dendrobium* sp.). This study used a completely randomized design (CRD) with 2 factors, namely giving EMS concentrations of 0%, 0.025%, 0.05%, and 0.075%. on plb and soaking time for 12 and 24 hours, then each treatment will be repeated 3 times.

Based on the results of the research conducted, there were 98 mutant orchid plantlets that could survive from the 105 mutant orchid plantlets planted. The lethality rate of mutated orchid plantlets was influenced by the increasing concentration of the EMS mutagen used. The results of the mutation of plb orchids obtained varied plant structures and plantlet heights with a range of 1.1 - 4.5 cm. The growth of shoots obtained also varied, some plantlets experienced shoot multiplication so as to increase the number of leaves. EMS can cause phenotypic changes, one of which is in the varied morphology of orchid leaves and leaf color with chlorophyll mutations. This study showed that mutagenesis using EMS was able to produce a large amount of variability in the orchid plantlet *Dendrobium Gabriella Suryajaya*.

PRAKATA

Puji Syukur kehadiran Allah SWT atas segala rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “**Pengaruh Mutagen Kimia *Ethyl Methane Sulfonate* (EMS) Terhadap Respon Pertumbuhan Tanaman Anggrek (*Dendrobium* sp.) Secara *In Vitro***”. Skripsi ini diajukan guna memenuhi salah satu persyaratan untuk menyelesaikan program sarjana pada Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Jember.

Penyusunan Karya Ilmiah Tertulis (Skripsi) ini tidak terlepas dari adanya bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih atas semua dukungan dan bantuan kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Ir. Soetriono, M.P., selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Jember.
2. Bapak Drs. Yagus Wijayanto, MA., Ph.D., selaku Ketua Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Jember.
3. Ibu Dr. Ir. Parawita Dewanti, MP., selaku Dosen Pembimbing Skripsi yang telah meluangkan waktu untuk membimbing, memotivasi, serta memberikan dukungan dalam menyelesaikan skripsi.
4. Bapak Ir. Didik Pudji Restanto, MS., Ph.D. selaku dosen penguji 1 dan Ibu Tri Ratnasari, S.Si., M.Si. selaku dosen penguji 2 yang telah memberikan evaluasi dan motivasi selama penulis menyelesaikan skripsi.
5. Kedua orang tua yang sangat saya cintai Bapak Joko Purnomo dan Ibu Dwi Parmiasih yang telah berjuang serta selalu memberikan dukungan dan doa sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi hingga mendapat gelar Sarjana Pertanian.
6. Adik saya Riviansyah Putra Pranata yang selalu memberikan dukungan serta doa selama penulis menyelesaikan skripsi.
7. Sahabat saya Elling, Nandita, Tasya, Momon, Kamila, dan Melinda yang selalu memberikan dukungan, motivasi, serta doa untuk penulis agar segera menyelesaikan skripsi ini.

8. Purnama Okviandari, S.P., M.P. selaku teknisi laboratorium kultur jaringan CDAST yang sudah membantu penelitian agar berjalan dengan lancar
9. Seluruh teknisi dan teman-teman CDAST (Mbak Dhila, Avita, Akbar, dan Tommy) di Universitas Jember yang telah membantu demi kelancaran penelitian saya.
10. Teman seperjuangan skripsi saya Masluha yang telah melakukan penelitian bersama dari awal hingga akhir.
11. Muhammad Aziz Ihza Mahendra yang telah memberikan semangat, motivasi, serta doa terhadap penulis.
12. Teman-teman seperjuangan Agroteknologi 2018 yang telah berjuang bersama dan saling membantu.
13. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu namun telah memberikan bantuan dan dukungan dalam menyelesaikan skripsi ini.

Penulis telah berusaha untuk menyelesaikan tanggung jawab dengan sebaik-baiknya dan menyadari bahwa masih ada kekurangan dalam penulisan skripsi ini. Oleh karena itu penulis mengucapkan maaf dan berterimakasih jika nantinya ada kritik dan saran yang membangun sehingga dapat menyempurnakan penulisan selanjutnya. Demikian yang dapat penulis tuliskan, semoga tulisan ini memberikan sedikit banyak informasi dan ilmu yang bermanfaat dan mendapatkan ridho Allah SWT. Aamiin.

Jember, 1 November 2022

Penulis

DAFTAR ISI

PERSEMBAHAN	ii
MOTTO	iii
PERNYATAAN.....	iv
PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
SUMMARY	viii
PRAKATA.....	ix
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan	3
1.4 Manfaat	3
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Tanaman Anggrek <i>Dendrobium sp.</i>	4
2.2 Mutasi pada Tanaman	6
2.3 Pengaruh Mutasi <i>Ethyl Methane Sulphonate (EMS)</i> pada Tanaman	7
2.4 Perbanyakan Tanaman Anggrek dengan Kultur Jaringan	8
2.5 Hipotesis	10
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	11
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	11
3.2 Persiapan Penelitian	11
3.2.1 Bahan	11
3.2.2 Alat.....	11
3.3 Pelaksanaan Penelitian	11

3.3.1 Metode Penelitian	11
3.3.2 Prosedur Penelitian	12
3.4. Variabel Pengamatan	14
3.4.1 Jumlah Tunas	14
3.4.2 Jumlah Daun (helai).....	14
3.4.3 Tinggi Tanaman.....	14
3.4.4 Persentase Eksplan Hidup (%).....	14
3.4.5 Morfologi Daun	15
3.4.6 Warna Daun	15
3.4.7 Jumlah Akar.....	15
3.5 Analisis Data	15
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	16
4.1 Hasil	16
4.1.1 Tinggi Planlet (cm)	16
4.1.2 Jumlah Helai Daun.....	17
4.1.3 Jumlah Tunas	18
4.1.4 Jumlah Akar.....	20
4.1.5 Persentase Hidup Planlet	21
4.1.6 Warna Daun	23
4.1.7 Morfologi Daun	26
4.2 Pembahasan	27
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	39
5.1 Kesimpulan	39
5.2 Saran	39
DAFTAR PUSTAKA	40
LAMPIRAN	45
Lampiran 1. Komposisi Media ½ MS	45
Lampiran 2. Perhitungan Konsentrasi EMS	47
Lampiran 3. Dokumentasi Penelitian	48
Lampiran 3. Hasil Analisis Data SEM Variabel Pengamatan	50

DAFTAR TABEL

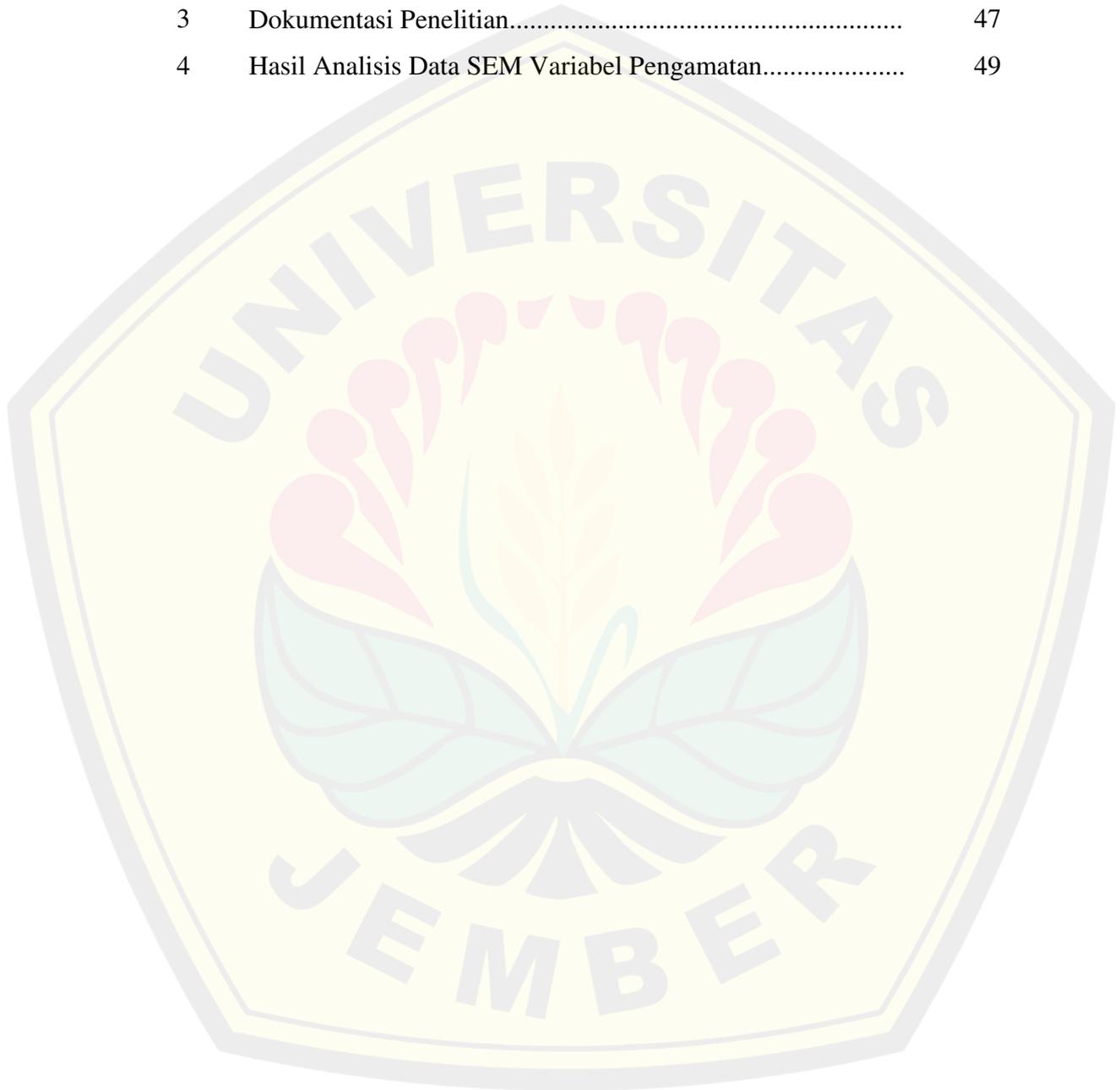
Nomor	Judul	Halaman
3.1	Komposisi Media MS.....	12
4.1	Pengaruh EMS Terhadap Warna Daun <i>Dendrobium Gabriella Suryajaya</i> secara <i>in vitro</i>	22
4.2	Bentuk Daun <i>Dendrobium Gabriella Suryajaya</i> Akibat Pemberian EMS selama 12 MST.....	25
4.3	Kategori Bentuk Daun <i>Dendrobium Gabriella Suryajaya</i> Akibat Pemberian EMS selama 12 MST.....	26
4.4	Variasi Pertumbuhan Anggrek <i>Dendrobium Gabriella Suryajaya</i> Hasil Mutasi.....	28
4.5	Kategori Macam Spektrum dari Mutasi Klorofil Anggrek <i>Dendrobium Gabriella Suryajaya</i>	31

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Judul	Halaman
4.1	Plb tanaman anggrek.....	16
4.2	Konsentrasi EMS dan Durasi Perendaman Pada Tinggi Planlet Anggrek <i>Dendrobium Gabriella Suryajaya</i>	17
4.3	Planlet anggrek minggu ke-12 setelah di regenerasi.....	17
4.4	Konsentrasi EMS dan Durasi Perendaman Pada Jumlah Helai Daun Anggrek <i>Dendrobium Gabriella Suryajaya</i>	18
4.5	Konsentrasi EMS dan Durasi Perendaman Pada Jumlah Tunas Anggrek <i>Dendrobium Gabriella Suryajaya</i>	19
4.6	Konsentrasi EMS dan Durasi Perendaman Pada Jumlah Akar Anggrek <i>Dendrobium Gabriella Suryajaya</i>	20
4.7	Konsentrasi EMS dan Durasi Perendaman Pada Persentase Hidup Anggrek <i>Dendrobium Gabriella Suryajaya</i>	21
4.8	Respon warna daun <i>Dendrobium Gabriella Suryajaya</i>	30
4.9	Macam spektrum warna daun <i>Dendrobium Gabriella Suryajaya</i> akibat mutasi klorofil.....	32
4.10	Multiplikasi tunas <i>Dendrobium Gabriella Suryajaya</i>	33
4.11	Variasi ukuran dan bentuk stomata anggrek <i>Dendrobium Gabriella Suryajaya</i>	34
4.12	Variasi Morfologi <i>Dendrobium Gabriella Suryajaya</i> Akibat Pemberian EMS selama 12 MST.....	36

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Judul	Halaman
1	Komposisi Media ½ MS.....	44
2	Perhitungan Konsentrasi EMS.....	46
3	Dokumentasi Penelitian.....	47
4	Hasil Analisis Data SEM Variabel Pengamatan.....	49



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tanaman anggrek (*Dendrobium* sp.) adalah jenis tanaman yang masuk ke dalam famili *Orchidaceae* yang banyak dikenali di Indonesia ataupun di dunia karena memiliki warna, bentuk, jenis, dan variasi bunga yang unik dan indah, juga mempunyai nilai estetika dan ekonomi yang tinggi (Puspitaningtyas, 2017). Dalam menghasilkan keragaman anggrek yang bervariasi serta varietas yang unggul pada spesies ini, maka dari itu diperlukan kualitas tanaman yang lebih baik melalui perbanyakan tanaman. Menurut (Sarmah *et al.*, 2017), permintaan yang tinggi pada tanaman anggrek mendorong untuk dilakukannya suatu proses pengembangan varietas keragaman anggrek, terutama untuk menghasilkan tanaman yang unggul dalam variasi warna dan bentuk yang menarik serta berkualitas baik. (Hinsley *et al.*, 2018) menyatakan bahwa semakin tingginya tingkat keanekaragaman genetik tanaman, maka akan semakin besar pula kesempatan untuk memperoleh genotip yang berkualitas dan unggul.

Usaha yang dapat dilakukan untuk memfokuskan dan memperbaiki tanaman khususnya pada warna, bentuk, variasi bunga, dan ukuran serta ketahanan tanaman terhadap hama dan penyakit salah satunya adalah dengan melakukan teknik pemuliaan tanaman. Pemuliaan tanaman melalui mutasi merupakan upaya yang dapat memperbaiki keragaman genetik suatu tanaman (Espina *et al.*, 2018). Pemuliaan tanaman dengan metode mutasi dianggap ekonomis dan efisien dalam perbaikan tanaman, dan penggunaan mutagen kimia seperti *Ethyl Methane Sulfonate* (EMS) berpotensi dapat mengatasi tantangan pemuliaan tanaman. Mutasi memiliki manfaat yaitu untuk meningkatkan atau menambah keragaman genetik suatu tanaman dengan proses seleksi yang terarah untuk memperoleh mutan yang unggul (Wannajindaporn *et al.*, 2016). Mutan yang terbentuk selanjutnya dilakukan penyeleksian untuk mendapatkan tanaman yang diinginkan, jika karakter tersebut memiliki keragaman genetik yang luas (Purente *et al.*, 2020).

Perbanyak tanaman secara *in vitro* melalui teknik pemuliaan mutasi adalah bentuk alternatif yang dilakukan untuk meningkatkan keragaman genetik dan memperluas variasi dari suatu tanaman khususnya anggrek. Induksi mutasi dapat dilakukan dengan menggunakan dua bentuk metode yaitu menggunakan mutagen fisik dengan cara pemberian iradiasi sinar gamma (Billore *et al.*, 2019). Sedangkan mutagen kimia digunakan dengan memberikan EMS pada tanaman anggrek (*Dendrobium sp.*). *Ethyl Methane Sulfonate* (EMS) telah banyak digunakan untuk menginduksi beberapa tanaman hias termasuk tanaman anggrek (*Dendrobium sp.*). *Ethyl Methane Sulfonate* (EMS) merupakan bahan mutagen yang efisien dan efektif dalam menyebabkan mutasi (Sari *et al.*, 2017). *Ethyl Methane Sulfonate* (EMS) digunakan sebagai salah satu agen mutagenik yang nantinya akan diinduksikan ke tanaman untuk mengembangkan produksi tanaman khususnya dalam meningkatkan keragaman anggrek (*Dendrobium sp.*) (Shah *et al.*, 2016).

Induksi *Ethyl Methane Sulfonate* (EMS) yang dilakukan pada tanaman *Chrysanthemum indicum* dapat mempengaruhi ukuran daun yang lebih besar jika dibandingkan dengan tanaman kontrol (Purente *et al.*, 2020). Sedangkan pada penelitian yang dilakukan (Miswar, 2015), mutasi dengan EMS menyebabkan perubahan fenotipik pada ujung daun kedelai yang semula runcing berubah menjadi tumpul. Hasil penelitian (Akhar *et al.*, 2016) menunjukkan bahwa konsentrasi 0,2% EMS merupakan konsentrasi yang paling efektif dalam peningkatan tunas pada eksplan *Lilium spp.*

Menurut penelitian Qosim dkk. (2012), konsentrasi larutan *Ethyl Methane Sulfonate* (EMS) yang digunakan dapat berpengaruh terhadap persentase eksplan dalam membentuk tunas Anggrek *Phalaenopsis*. Pada konsentrasi larutan EMS 0,175% dan 0,2% menunjukkan tidak adanya tunas yang terbentuk. Sedangkan pada konsentrasi larutan EMS 0,05% dan 0,15% memberikan pengaruh dimana jumlah akar yang muncul lebih banyak (Romiyadi dkk., 2018). Menurut penelitian Poerba dkk. (2009), bahwa semakin tinggi konsentrasi larutan *Ethyl Methane Sulfonate* (EMS) yang digunakan, maka persentase hidup eksplan akan semakin rendah dan mengakibatkan eksplan sulit bertahan hidup. Keadaan ini

mungkin terjadi karena adanya perubahan totipotensi sel yang mengarah pada suatu penurunan kemampuan sekelompok sel pada daerah meristem akibat adanya perubahan susunan basa nitrogen kromosom (Tantasawat *et al.*, 2017). Dari pernyataan tersebut, maka diharapkan induksi mutagen kimia Ethyl Methane Sulfonate (EMS) dengan beberapa konsentrasi yang optimal dapat memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan anggrek *Dendrobium* sp. Untuk mengetahui pengaruh dari induksi mutagen kimia *Ethyl Methane Sulfonate* (EMS) dengan beberapa konsentrasi terhadap pertumbuhan anggrek *Dendrobium* sp, maka penting dilakukannya penelitian mengenai hal tersebut.

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimana pengaruh mutagen kimia *Ethyl Methane Sulfonate* (EMS) dan lama perendaman terhadap pertumbuhan tanaman anggrek (*Dendrobium* sp.) secara *in vitro* ?

1.3 Tujuan

Mengetahui pengaruh mutagen kimia *Ethyl Methane Sulfonate* (EMS) dan lama perendaman yang terbaik terhadap pertumbuhan tanaman anggrek (*Dendrobium* sp.) secara *in vitro*.

1.4 Manfaat

Penelitian yang dilakukan diharapkan dapat menghasilkan varietas baru dan meningkatkan variasi genetik tanaman serta dapat dimanfaatkan bagi masyarakat dan peneliti secara luas.

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Anggrek *Dendrobium* sp.

Dendrobium merupakan salah satu spesies anggrek yang sudah banyak tersebar di seluruh dunia. Spesies Anggrek *Dendrobium* juga banyak tersebar di Indonesia, khususnya di daerah timur Indonesia. Jumlah spesies Anggrek *Dendrobium* diperkirakan dapat mencapai 1.500 spesies (Widiastoety dkk., 2016). Anggrek *Dendrobium* termasuk ke dalam jenis anggrek yang memiliki potensi untuk dibudidayakan dan disilangkan karena memiliki bunga yang bervariasi, besar, dan indah (Broto & Pratama, 2015). Tipe pertumbuhan anggrek *Dendrobium* adalah batangnya simpodial dimana pertumbuhan *pseudobulb* yang terbatas. Jenis akar Anggrek *Dendrobium* adalah rhizoma berserabut. Bentuk morfologi dari Anggrek *Dendrobium* adalah bangun daunnya berbentuk paku atau lanset, daging daun bersifat perkamenteus, susunan daunnya hampir tertutup dengan ujung daun runcing, serta warna daunnya yang hijau. Biji dari Anggrek *Dendrobium* tidak memiliki cadangan makanan, sehingga untuk perkecambahan bijinya membutuhkan gula dan senyawa lain dari lingkungan sekitarnya. Umumnya, Anggrek *Dendrobium* memiliki variasi warna bunga yang muncul dari ketiak daun (Purnama dkk., 2016). Selama satu siklus hidupnya, anggrek *dendrobium* mengalami 2 sampai 3 periode pertumbuhan yang meliputi vegetatif, generatif, dan beberapa masa dormansi. Lama dari setiap periode tersebut bergantung pada spesies dan habitatnya. Menurut Susanto (2018), klasifikasi dari tanaman anggrek dapat dijabarkan sebagai berikut :

Kingdom : *Plantae*
Divisi : *Spermatophyta*
Sub Divisi : *Angiospermae*
Kelas : *Monocotyledonae*
Ordo : *Orchidales*
Famili : *Orchidaceae*
Sub Famili : *Epidendroideae*
Genus : *Dendrobium*

Spesies : *Dendrobium*



Sumber: orchidroots.com

Tanaman Anggrek *Dendrobium* adalah jenis anggrek alam yang menarik perhatian para peneliti untuk terus dikembangkan sehingga memperbanyak variasi atau keanekaragaman varietas. Beberapa macam varietas dari tanaman anggrek *Dendrobium* adalah *Dendrobium phalaenopsis*, *Dendrobium discolor*, *Dendrobium indivisum*, *Dendrobium merpati*, dan *Dendrobium machophyllum* (Fandani dkk., 2018). Sedangkan terdapat juga varietas anggrek *Dendrobium* yang berpotensi banyak digunakan sebagai tetua jantan dan betina dalam melakukan persilangan seperti *Dendrobium affine*, *Dendrobium stratiotes*, *Dendrobium veratrifolium*, *Dendrobium violacea-flavens*, *Dendrobium atroviolaceum*, *Dendrobium superbiens*, *Dendrobium undulatum*, dan *Dendrobium lasianthera* (Widiastoety dkk., 2016).

Langkah yang dilakukan dalam memperbanyak varietas tanaman anggrek *Dendrobium* adalah melalui teknik kultur jaringan secara *in vitro* dikarenakan teknik ini dapat berlangsung lebih cepat jika dibandingkan teknik konvensional dan juga dapat menghasilkan produksi dalam jumlah banyak (Lestari *et al.*, 2018). Metode yang digunakan untuk meningkatkan karakteristik tanaman secara kuantitatif adalah dengan dilakukannya metode mutasi. Pengembangan tanaman

anggrek *Dendrobium* dengan metode mutasi kimia menggunakan *Ethyl Methane Sulfonate* (EMS) mampu mempengaruhi suatu karakteristik dan morfologi dari tanaman (Romiyadi dkk., 2018).

2.2 Mutasi pada Tanaman

Mutasi yakni suatu perubahan pada bahan genetik yang memiliki sifat terwariskan (*heritable*) pada keturunannya. Metode mutasi adalah salah satu metode pemuliaan tanaman yang paling banyak digunakan, khususnya dalam merakit varietas yang unggul. Manfaat dari dilakukannya mutasi pada tanaman adalah dapat meningkatkan atau memperbanyak keragaman genetik dan variasi tanaman yang nantinya dapat dijadikan sebagai populasi dasar untuk proses seleksi dan metode pemuliaan lebih lanjut (Soeranto, 2003). Teknik mutasi akan menyebabkan perubahan material genetik pada tanaman dan menjadi penyebab munculnya variasi baru yang tidak mudah terjadi atau terekspresikan secara alamiah (Lestari, 2016).

Pemuliaan tanaman yang dilakukan melalui metode mutasi menjadi salah satu usaha yang digunakan untuk meningkatkan kualitas dan kuantitas produktivitas tanaman. Mutasi genetik yang dilakukan akan berdampak pada respon tanaman yang ditunjukkan melalui bermacam-macam karakter pertumbuhan dari tanaman seperti warna bunga, jumlah daun, tinggi tanaman, dan jumlah tunas (Arumingtyas, 2019). Hasil dari adanya pengaruh pemberian mutagen kimia pada tanaman bergantung pada konsentrasi bahan kimia, lama perlakuan, suhu dan pH larutan kimia (Lestari, 2016).

Induksi mutasi dapat dilakukan pada tanaman dengan menggunakan bahan mutagen. Bahan mutagen yang sering digunakan dalam pemuliaan tanaman dibagi menjadi dua kelompok yakni mutagen fisik (*physical mutagen*) dan mutagen kimia (*chemical mutagen*) (Arumingtyas, 2019). Kedua bahan mutagen tersebut (mutagen fisik maupun mutagen kimia) dapat merubah struktur materi genetik pada tanaman. Mutagen fisik dilakukan dengan memberikan pengaruh efek radiasi pada tanaman melalui radiasi sinar gamma (Devy & Dodo R, 2006). Mutagen kimia dilakukan dengan memberikan zat kimia seperti *Ethyl Methane Sulphonate*

(EMS) dan kolkisin (*colchicine*). Pemberian larutan EMS dapat menghasilkan bentuk morfologi tanaman yang berbeda dari tetua atau indukannya sehingga akan diperoleh tanaman yang jenisnya beraneka ragam dan bervariasi (Qosim dkk., 2016).

2.3 Pengaruh Mutasi *Ethyl Methane Sulphonate* (EMS) pada Tanaman

Senyawa *Ethyl Methane Sulphonate* (EMS) adalah senyawa yang paling umum digunakan pada tanaman karena menyebabkan frekuensi tinggi dalam substitusi nukleotida dan memungkinkan untuk dapat menjadi mutagen pilihan dalam target induksi tanaman (Talebi *et al.*, 2012). Metode mutasi kimia menggunakan mutagen *Ethyl Methane Sulphonate* (EMS) menjadi salah satu teknik yang mudah dan cepat dalam menghasilkan variasi genetika pada tanaman. *Ethyl Methane Sulphonate* (EMS) menjadi bahan dari mutagen kimia yang banyak digunakan karena dapat menghasilkan tingkat mutasi yang tinggi, tingkat kematian yang rendah, dan mudah untuk digunakan (Tadmor *et al.*, 2007). Induksi mutasi pada tanaman dengan memberikan *Ethyl Methane Sulphonate* (EMS) dapat menyebabkan mutasi pada DNA tanaman sehingga akan memberikan dampak terhadap perubahan morfologi suatu tanaman (Qosim dkk., 2016).

Ethyl Methane Sulphonate (EMS) dapat mengakibatkan suatu perubahan dari struktur kimia guanin dengan menambahkan gugus alkil sehingga menjadi 7-etilguanina (Arumingtyas, 2019). Mutasi akibat adanya pengaruh EMS menyebabkan guanin mengalami substitusi, dimana guanin yang seharusnya berpasangan dengan sitosin, maka akan berpasangan dengan timin sehingga akan terjadi perubahan asam amino yang kemudian mengalami perubahan komposisi protein (Chopra, 2005). Mutagen kimia EMS juga dapat menyebabkan adanya metilasi dalam rantai nukleotida. Runtutan fase metilasi tersebut akan berakibat pada basa-basa molekul DNA yang menjadi salah berpasangan selama proses replikasi. Dalam keadaan normal, guanin (G) akan berpasangan dengan sitosin (C), jika guanin mengalami metilasi akibat adanya mutagen EMS, maka akan terbentuk basa abnormal, yaitu O-6-etilguanin. Enzim DNA polimerasi secara otomatis akan mengenali O-6-etilguanin dimana menjadi timin yang berpasangan

dengan adenin sehingga, EMS akan menyebabkan pergantian basa tipe transisi (Qosim et al., 2012).

Sejumlah konsentrasi EMS yang digunakan untuk menginduksi tanaman dapat mempengaruhi genetika pada tanaman dan menyebabkan keragaman hasil yang luas. Lama perendaman benih dalam larutan EMS juga berpengaruh terhadap mutasi gen yang terjadi pada tanaman. Berdasarkan hasil penelitian Qosim dkk. (2012) menunjukkan bahwa perlakuan mutagen EMS dapat berpengaruh terhadap pertumbuhan meristem pada anggrek hibrida *Phalaenopsis* dalam pembentukan tunas pada konsentrasi EMS 0,025% dan 0,05%. Penggunaan larutan EMS pada konsentrasi 0,05% juga berpengaruh pada tampilan planlet anggrek *Phalaenopsis* asal *protocorm* (Romiyadi dkk., 2018). Menurut Purwati dkk. (2008), hasil penelitian yang dilakukan menjelaskan bahwa konsentrasi 0,6% EMS adalah konsentrasi optimum dikarenakan pada konsentrasi tersebut diperoleh keragaman somaklonal yang paling banyak. Jika konsentrasi EMS yang digunakan semakin tinggi, maka akan berakibat pada proses pertumbuhan tanaman yang salah satunya akan membuat terhambatnya pertumbuhan tanaman sampai kematian pada tanaman (Putra & Purwani, 2017). Perlakuan dengan mutagen kimia diharapkan tidak terjadi kerusakan fisiologis yang tinggi dan menghasilkan pengaruh genetik yang menguntungkan (Pratiwi dkk., 2013).

2.4 Perbanyak Tanaman Anggrek dengan Kultur Jaringan

Kultur jaringan merupakan suatu teknik perbanyakan sel, jaringan atau bagian organ tanaman pada medium buatan (*in vitro*) secara aseptik (Yusnita, 2010). Teknik kultur jaringan digunakan sebagai suatu bentuk usaha untuk dapat menghasilkan tanaman secara cepat serta dimanfaatkan untuk mendapatkan tanaman dengan sifat-sifat tertentu. Kultur jaringan juga disebut sebagai budidaya, perbanyakan klonal, dan propagasi *in vitro* (Gunawan, 2005). Kultur jaringan pada tanaman anggrek dilakukan dengan mengambil salah satu bagian pada tanaman anggrek yaitu eksplan lalu dapat ditumbuhkan pada kondisi yang aseptik, sehingga bagian tanaman yang digunakan tersebut dapat memperbanyak diri dan beregenerasi menjadi tanaman yang utuh (Wijayani, 2016). Namun, terdapat

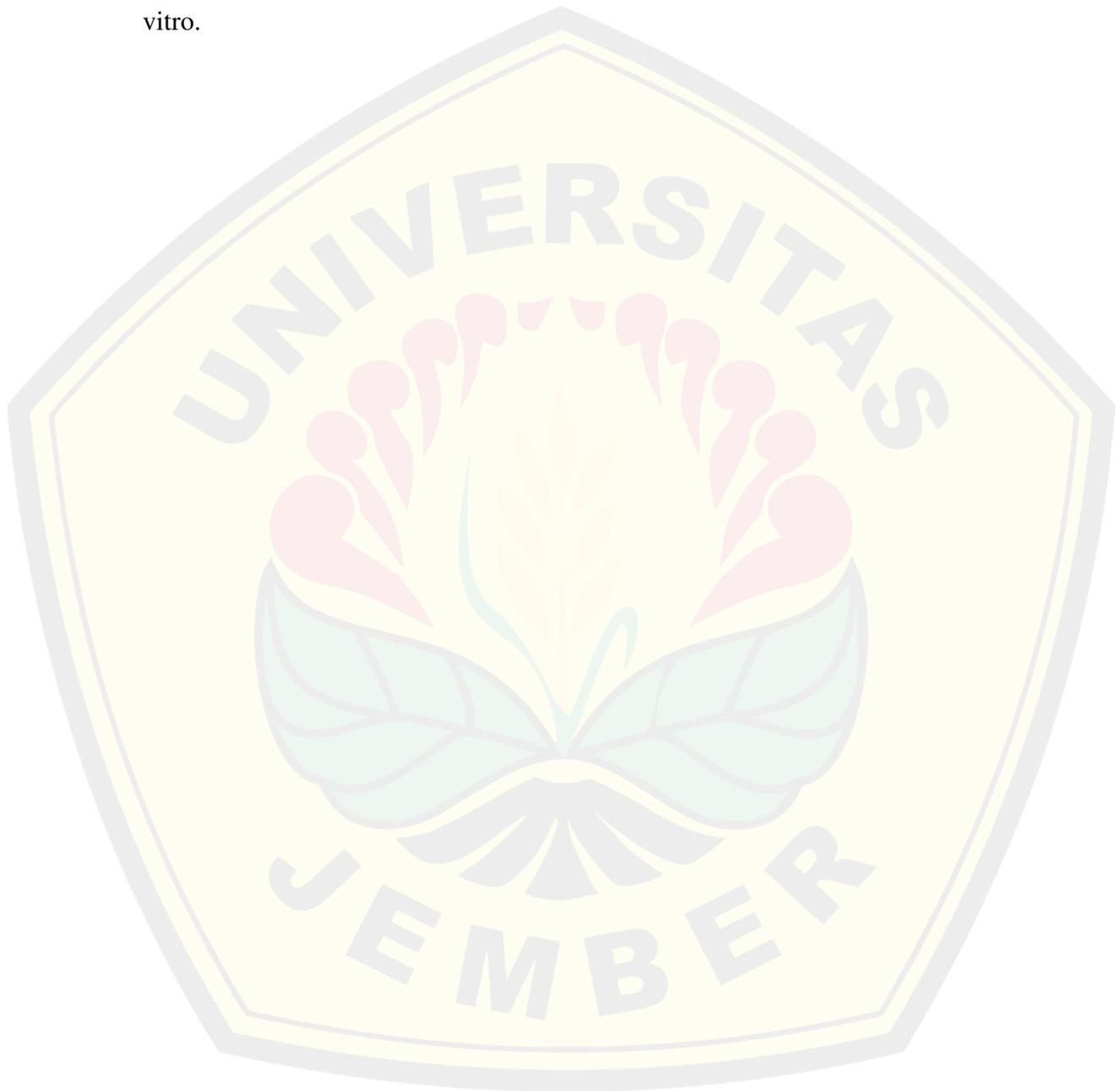
faktor yang menghambat dalam keberhasilan kultur jaringan yaitu adanya kontaminasi yang dapat terjadi setiap saat dalam masa kultur. Kontaminasi tersebut dapat berasal dari eksplan, botol kultur atau alat lain yang kurang steril, penutupan tutup botol yang kurang rapat, organisme yang masuk ke dalam media dan dapat juga karena kecerobohan dalam waktu pelaksanaan (Yasmin dkk., 2018).

Pelaksanaan teknik kultur jaringan memerlukan berbagai persyaratan untuk mendukung kehidupan jaringan yang dikembangbiakkan dan yang paling utama adalah beberapa alat bahan, tempat, dan media tumbuh yang steril (Marina, 2014). Salah satu solusi untuk meningkatkan ketersediaan bibit adalah dengan menggunakan perbanyakan tanaman teknik *in vitro* atau kultur jaringan. Kelebihan dari menggunakan teknik ini adalah dapat menghasilkan bahan tanam yang unggul secara massal dan cepat (Yusnita, 2010). Keuntungan lain yang terdapat pada teknik kultur jaringan yaitu produksi metabolit sekunder yang dapat dilakukan dalam sepanjang tahun tanpa dipengaruhi oleh adanya cuaca ataupun iklim (Sulichantini, 2015).

Soedjono (2003), menjelaskan bahwa teknik kultur jaringan dapat menjadi suatu usaha atau upaya dalam menghasilkan tanaman mutan. Tanaman mutan yang dihasilkan melalui teknik kultur jaringan dapat dilakukan salah satunya adalah dengan pemberian mutagen kimia (Putra & Purwani, 2017). Pemberian mutagen kimia pada tanaman yang diperbanyak melalui teknik kultur jaringan dapat meningkatkan variasi somaklonal pada tanaman (Yunita, 2009). Mutagen kimia adalah mutagen yang sering digunakan untuk mendapatkan sifat unggul tanaman, hal ini dikarenakan mutagen kimia mempunyai beberapa kelebihan yaitu mutasi yang terjadi pada tanaman adalah mutasi titik sehingga kerusakan yang terjadi pada kromosom kemungkinan lebih kecil, selain itu mutagen kimia juga dapat meningkatkan laju mutasi 5 sampai 10 kali lebih tinggi jika dibandingkan mutasi fisik melalui iradiasi (Soeranto, 2003).

2.5 Hipotesis

Berdasarkan adanya latar belakang, rumusan masalah, dan tinjauan pustaka, maka dapat ditarik sebuah hipotesis bahwa konsentrasi dan lama perendaman mutagen kimia *Ethyl Methane Sulfonate* (EMS) yang digunakan dapat mempengaruhi pertumbuhan tanaman anggrek *Dendrobium* sp. secara in vitro.



BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium *Center for Development of Advance Sciences and Tecnology* (CDAST) Universitas Jember. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April – Juli tahun 2022.

3.2 Persiapan Penelitian

3.2.1 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan *protocorm like bodies* (plb) anggrek *Dendrobium Gabriella Suryajaya*, media $\frac{1}{2}$ *Murashige Skoog* (MS), gelrite, larutan EMS (*Ethyl Methane Sulfonate*) dengan konsentrasi 0%, 0,025%, 0,05%, dan 0,075%, larutan buffer fosfat 1 M dengan pH 7, alkohol 70%, aquades steril, larutan NAOH, larutan HCL, ZPT (NAA dan BAP), sukrosa, aluminium foil, kertas label dan plastik wrap.

3.2.2 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian terdiri atas botol-botol kultur, timbangan analitik, cawan petri, gelas ukur, pinset, autoklaf, pipet ukur, pipet tetes, pH meter, *magnetic stirrer*, bunsen, *Laminar Air Flow* (LAF), dan kamera handphone.

3.3 Pelaksanaan Penelitian

3.3.1 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial yang terdiri dari 2 faktor yaitu pemberian konsentrasi EMS yang berbeda pada plb dan perendaman plb selama 12 jam (T1) dan 24 jam (T2), setiap perlakuan akan diulang sebanyak 3 kali. Perlakuan pada plb *Dendrobium Gabriella Suryajaya* ini menggunakan konsentrasi EMS yang terdiri atas 4 taraf diantaranya :

1. 0% (E0)

2. 0,025% (E1)
3. 0,05% (E2)
4. 0,075% (E3)

3.3.2 Prosedur Penelitian

Pelaksanaan penelitian dilakukan dengan beberapa tahap yaitu : (1) Persiapan dan sterilisasi alat, (2) Persiapan media tanam dengan media *Murashige Skoog* (MS), (3) Persiapan larutan (*Ethyl Methane Sulfonate*) EMS, (4) Proses mutasi *protocorm*, (5) Penanaman eksplan.

1. Persiapan dan sterilisasi alat. Alat-alat yang akan digunakan dicuci terlebih dahulu dengan air dan sabun, kemudian dilakukan sterilisasi. Sterilisasi terdiri dari beberapa hal antara lain yaitu sterilisasi bahan, alat, dan media. Seluruh peralatan yang digunakan mulai dari alat pembuatan media (botol kultur) dan alat penanaman eksplan. Proses sterilisasi dilakukan menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C tekanan 17,5 psi selama 2,5 jam. *Laminar Air Flow Cabinet* disterilisasi dengan menyemprotkan alkohol 70 % pada semua dinding dan permukaannya, kemudian menyalakan UV selama 1 jam sebelum digunakan.

2. Persiapan media regenerasi dengan menggunakan larutan stok media *Murashige Skoog* (MS) yang terdiri dari stok A-F. Larutan stok dibuat untuk mempermudah pembuatan media. Menurut (Silalahi, 2014) komposisi media *Murashige Skoog* (MS) adalah sebagai berikut :

d

Stok	Nama Bahan	Konsentrasi (dalam 100 ml)
A	Ammonium nitrate (NH_4NO_3)	8,25 gr
B	Pottasium nitrate (KNO_3)	9,5 gr
C	Calcium chloride ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	8,8 gr
D	Boric acid (H_3BO_3)	0,124 gr
	Potassium phosphate (KH_2PO_4)	3,4 gr
	Cobalt chloride ($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)	0,00052 gr
	Sodium molybdate ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	0,005 gr

	Potassium iodide (KI)	0,0166 gr
E	Magnesium sulfate (MgSO ₄ ·7H ₂ O)	7,4 gr
	Zinc sulfate (ZnSO ₄ ·7H ₂ O)	0,172 gr
	Cupric sulfate (CuSO ₄ ·5H ₂ O)	0,00052 gr
	Manganese sulfate (MnSO ₄ ·4H ₂ O)	0,061 gr
F	Na ₂ EDTA·2H ₂ O	0,744 gr
	Ferrous sulfate (FeSO ₄ ·7H ₂ O)	0,556 gr
Vitamin		
	Inositol	0,02 gr
	Pyridoxine HC	0,008 gr
	Thiamine HCl	0,08 gr

Pembuatan larutan ½ MS dengan volume 1 liter dilakukan dengan cara memipet larutan stok sesuai dengan konsentrasi yang dibutuhkan, lalu melarutkan dengan 1,5 gr gelrite, 20 gr sukrosa, 150 ml air kelapa, 0,1 ppm NAA dan 1 ppm BAP sebagai hormon pertumbuhan dan aquades hingga volume mencapai 1 liter. pH media diatur 5,8 dengan menambahkan larutan NaOH jika terlalu asam atau HCl jika terlalu basa. Media kemudian dimasukkan ke dalam botol kultur dan disterilkan dengan menggunakan autoklaf dengan suhu 121⁰C tekanan 17,5 psi selama 2,5 jam.

3. Persiapan larutan *Ethyl Methane Sulfonate* (EMS). Proses pembuatan larutan EMS (*Ethyl Methane Sulfonate*) didahului dengan membuat larutan stok konsentrasi 50.000 ppm sebanyak 10 ml dengan melarutkan 0,5 gr bubuk EMS pada larutan buffer fosfat 1 M dengan pH 7. Lalu, jika membuat larutan menjadi 0,025%, 0,05%, dan 0,75% dilakukan dengan cara mengambil larutan stok EMS 50.000 ppm sebanyak 25 µl, 50 µl, dan 75 µl kemudian masing-masing ditambahkan larutan buffer fosfat 1 M dengan pH 7 sampai volume larutan mencapai 5 ml.

4. Proses Mutasi plb. Proses mutasi dimulai dengan menyiapkan plb dan direndam dalam larutan EMS sesuai dengan perlakuan konsentrasi (0,025%, 0,05%, dan 0,075%) dengan lama perendaman selama 12 jam dan 24 jam.

Selanjutnya *protocorm* dibilas dengan aquades steril sebanyak 3 kali untuk menghilangkan sisa larutan EMS. Perlakuan kontrol yang dilakukan adalah dengan langsung menanam plb pada media kultur tanpa adanya perlakuan perendaman dengan larutan EMS.

5. Penanaman Eksplan. Proses penanaman eksplan dilakukan di *laminar air flow* (LAF) pada kondisi yang aseptik. Setiap alat yang akan digunakan, dicelupkan atau dimasukkan terlebih dahulu ke dalam alkohol 70% dan dilewatkan diatas nyala api bunsen kurang lebih selama 1-2 menit. Eksplan yang akan ditanam dalam media kultur selanjutnya diambil dan ditanam dalam media perlakuan yaitu media $\frac{1}{2}$ MS pada media kultur.

3.4. Variabel Pengamatan

Terdapat parameter yang diamati dalam penelitian ini yaitu jumlah tunas, jumlah daun (helai), tinggi tunas, waktu pembentukan tunas, persentase eksplan hidup, warna daun dan morfologi eksplan dari setiap perlakuan.

3.4.1 Jumlah Tunas

Perhitungan jumlah tunas dilakukan dengan menghitung sejumlah tunas yang telah tumbuh pada 12 mst. Waktu pengamatan dilakukan pada akhir penelitian.

3.4.2 Jumlah Daun (helai)

Pengamatan dilakukan dengan menghitung jumlah daun yang terbentuk pada 12 mst. Pengamatan jumlah daun dilakukan pada akhir penelitian.

3.4.3 Tinggi Tanaman

Tinggi tanaman diamati dengan mengukur tinggi tunas yang tumbuh mulai dari pangkal batang hingga ujung daun menggunakan penggaris. Pengamatan tinggi tunas dilakukan pada akhir penelitian (12 mst).

3.4.4 Persentase Eksplan Hidup (%)

Perhitungan eksplan hidup dihitung dengan cara membandingkan antara jumlah eksplan yang tumbuh dengan jumlah eksplan keseluruhan lalu dikalikan 100%.

$$\text{Persentase hidup} = \frac{\text{jumlah eksplan tumbuh}}{\text{jumlah eksplan keseluruhan}} \times 100\%$$

Pengamatan persentase eksplan tumbuh dilakukan pada saat 12 mst.

3.4.5 Morfologi Daun

Pengamatan morfologi daun terdiri atas pengamatan bentuk ujung daun dan tepi daun yang diamati pada saat akhir penelitian, dengan cara mengamati secara visual dan didokumentasikan menggunakan handphone untuk mengetahui pertumbuhan dan perkembangan plb hasil mutasi.

3.4.6 Warna Daun

Pengamatan warna daun dilakukan dengan menggunakan *Munsell Plant Tissue Colour* yang diamati secara visual.

3.4.7 Jumlah Akar

Pengamatan jumlah akar diamati dengan menghitung jumlah akar yang terbentuk pada 12 mst. Pengamatan jumlah akar dilakukan pada akhir penelitian.

3.5 Analisis Data

Standart Error Of Mean (SEM) merupakan kekeliruan atau resiko dalam pengambilan sampel. Metode ini digunakan untuk menentukan perbedaan error dari data yang diperoleh. Semakin besar nilai SEM semakin besar kemungkinan nilai rata-rata dari satu sampel yang dipilih dari suatu populasi, maka akan jauh berbeda dari nilai rata-rata pada populasinya. Sebaliknya, makin kecil SEM semakin kecil kemungkinan nilai rata-rata dari satu sampel yang dipilih dari suatu populasi akan jauh berbeda dari nilai rata-rata populasinya.

Rumus persamaan SEM adalah sebagai berikut :

$$\text{SEM} = \frac{S}{\sqrt{n}}$$

Keterangan:

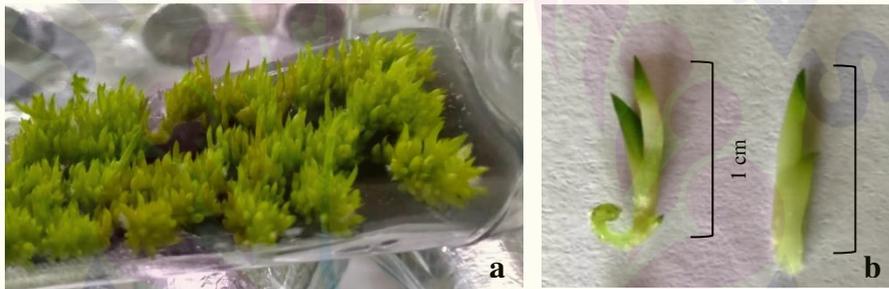
S=Standart Deviasi dari sampel

N=Jumlah Sampel

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil

Kegiatan penelitian “Pengaruh Mutagen Kimia *Ethyl Methane Sulfonate* (EMS) Terhadap Respon Pertumbuhan Tanaman Anggrek *Dendrobium* sp. Secara *In Vitro*” dilakukan dengan menggunakan bahan tanam berupa *protocorm like bodies* (plb) anggrek yang berumur sekitar 3 bulan dengan ukuran kurang lebih 1 cm. Plb tanaman anggrek nantinya akan digunakan sebagai bahan tanam (eksplan) dengan cara merendam *Ethyl Methane Sulfonate* (EMS) selama 12 jam dan 24 jam pada konsentrasi 0%, 0,025%, 0,050%, dan 0,075%. Plb yang telah di mutasi akan ditanam dengan media *Murashige Skoog* (MS) sesuai dengan perlakuan. Plb yang akan digunakan dapat dilihat pada Gambar 4.1



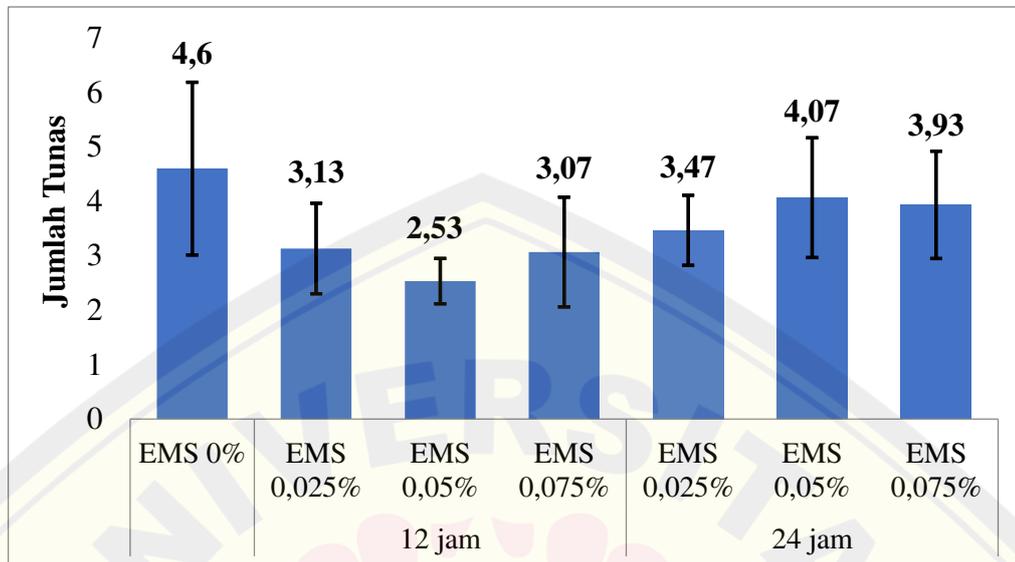
Gambar 4.1 Bahan tanam untuk mutasi dengan mutagen kimia a) sekelompok plb tanaman anggrek berumur 3 bulan, b) Plb yang siap digunakan sebagai bahan mutasi

Pengamatan dilakukan setelah proses regenerasi selama 12 minggu. Beberapa variabel pengamatan yang akan diamati antara lain tinggi planlet, jumlah helai daun, jumlah tunas, jumlah akar, persentase planlet hidup, warna daun dan morfologi planlet. Pengamatan morfologi planlet terdiri atas daun, akar, dan tunas. Proses pengamatan seluruhnya dilakukan dalam LAF untuk menghindari adanya kontaminasi.

4.1.1 Jumlah Tunas

Pengamatan jumlah tunas dilakukan pada minggu ke-12 dengan menghitung jumlah tunas yang tumbuh pada masing masing perlakuan. Pengaruh

dari konsentrasi EMS dan durasi perendaman terhadap jumlah tunas dapat dilihat pada Gambar 4.5



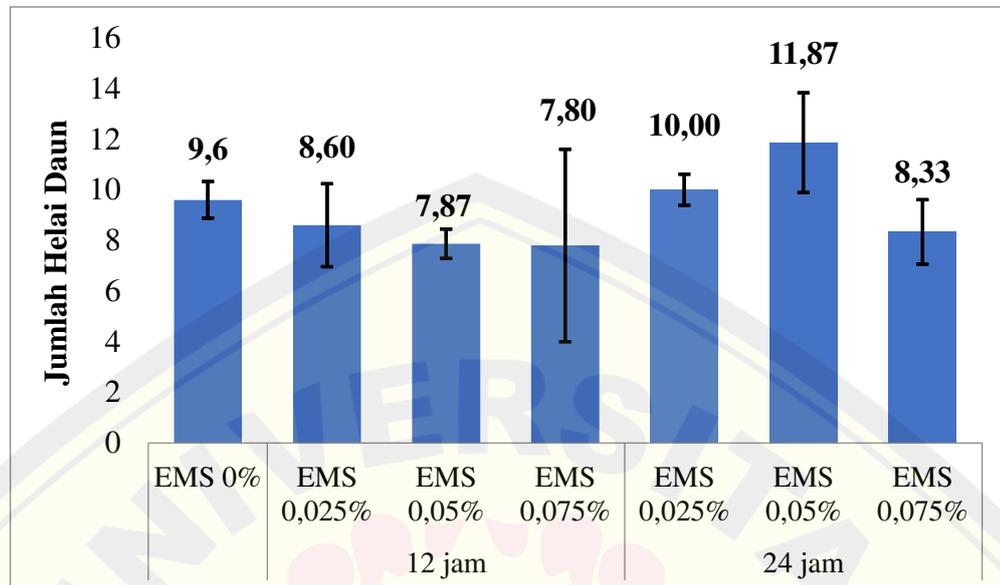
Gambar 4.5 Konsentrasi EMS dan Durasi Perendaman Pada Jumlah Tunas Anggrek *Dendrobium Gabriella Suryajaya*

Berdasarkan hasil grafik diatas dapat dijelaskan bahwa perlakuan menggunakan mutagen kimia EMS yang menghasilkan jumlah tunas terbanyak adalah EMS 0,05% dengan rata-rata 4,07 tunas. Pada perlakuan EMS 0,05% perendaman 24 jam menghasilkan jumlah tunas dan jumlah helai daun terbanyak. Hasil dari jumlah tunas EMS 0,05% dan tanpa EMS atau EMS 0% tidak berbeda nyata. Dalam hal ini, plb dengan adanya pemberian EMS 0,05% dapat membentuk tunas dengan normal karena nutrisi yang tersedia pada media MS dapat menstimulasi tumbuhnya plb, serta penambahan BAP 1 ppm/l dapat memacu pembentukan tunas. Perlakuan yang menghasilkan tunas terendah terdapat pada EMS 0,050% perendaman 12 jam dengan rata-rata 2,53 namun pada perendaman 24 jam menghasilkan tunas terbanyak. Pemberian EMS pada anggrek khususnya variabel jumlah tunas memberikan hasil bahwa EMS dapat merangsang tumbuh tunas ataupun menghambat tumbuhnya tunas.

4.1.2 Jumlah Helai Daun

Plb yang telah diberi perlakuan dan diregenerasikan selama 12 minggu mengalami pertumbuhan dan penambahan jumlah daun yang berbeda-beda.

Pengaruh dari konsentrasi EMS dan durasi perendaman terhadap jumlah helai daun dapat dilihat pada Gambar 4.4



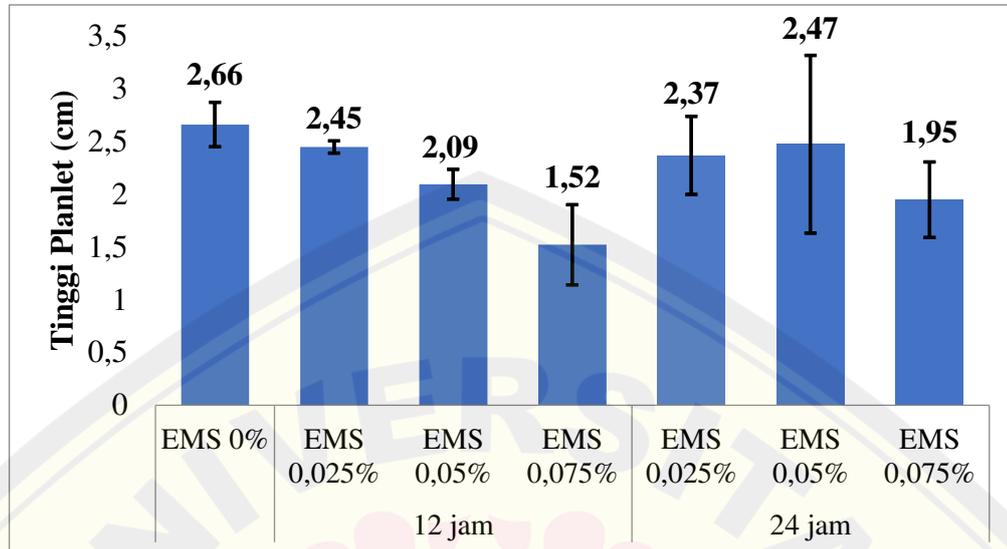
Gambar 4.4 Konsentrasi EMS dan Durasi Perendaman Pada Jumlah Helai Daun Anggrek *Dendrobium Gabriella Suryajaya*

Berdasarkan grafik diatas dapat dilihat bahwa yang memberikan jumlah daun yang terbentuk dengan hasil tertinggi adalah pada konsentrasi EMS 0,050% (E2) dengan durasi perendaman selama 24 jam yaitu 11,87 helai. Jumlah daun yang menunjukkan hasil terendah dengan jumlah 7,80 helai adalah pada konsentrasi EMS 0,075% (E3) dengan durasi perendaman selama 12 jam. Berdasarkan hasil grafik, perendaman selama 12 jam pada konsentrasi EMS yang tertinggi yaitu 0,075% (E3) dapat menurunkan jumlah daun. Pada konsentrasi yang memberikan tinggi tanaman terendah yaitu EMS 0,075% (E3) juga menghasilkan jumlah helai daun terendah. Durasi perendaman EMS tidak memberikan respon linier pada pertumbuhan jumlah daun. Pada perlakuan tanpa EMS (EMS 0%) jumlah daun adalah sebanyak 9,6 helai.

4.1.3 Tinggi Planlet (cm)

Pengamatan tinggi planlet dilakukan pada akhir pengamatan yaitu 12 minggu setelah tanam. Pengukuran tinggi planlet dilakukan dengan mengukur mulai dari pangkal batang hingga ujung daun tertinggi menggunakan milimeter

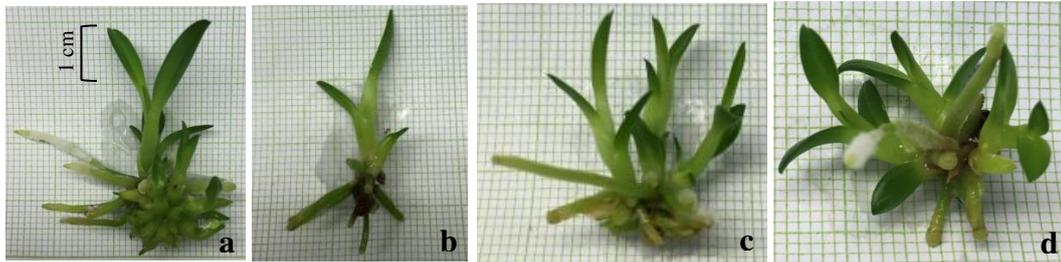
blok. Pengaruh dari konsentrasi EMS dan durasi perendaman terhadap tinggi planlet dapat dilihat pada Gambar 4.2



Gambar 4.2 Konsentrasi EMS dan Durasi Perendaman Pada Tinggi Planlet Anggrek *Dendrobium Gabriella Suryajaya*

Berdasarkan grafik diatas dapat dilihat tinggi planlet pada masing-masing durasi perendaman pada konsentrasi EMS yang berbeda menghasilkan perbedaan pada setiap perlakuan. Perlakuan tanpa EMS (EMS 0%) menghasilkan planlet tertinggi yaitu sebesar 2,66 cm. Hasil tertinggi pada perlakuan EMS adalah pada konsentrasi 0,05% perendaman 24 jam yaitu sebesar 2,47 cm dengan tingkat keragaman yang tinggi dan tidak berbeda nyata dengan kontrol yaitu hanya memiliki selisih 0,19 cm. Sedangkan hasil tinggi planlet terendah adalah pada konsentrasi EMS 0,075% sebesar 1,52 cm pada perendaman selama 12 jam dan pada perendaman 24 jam sebesar 1,95 cm. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian konsentrasi EMS tertinggi akan mengalami penghambatan tumbuh sehingga mampu menurunkan rata-rata tinggi planlet anggrek.

Berikut merupakan gambar tinggi planlet anggrek pada berbagai konsentrasi EMS yang akan disajikan pada gambar 4.3

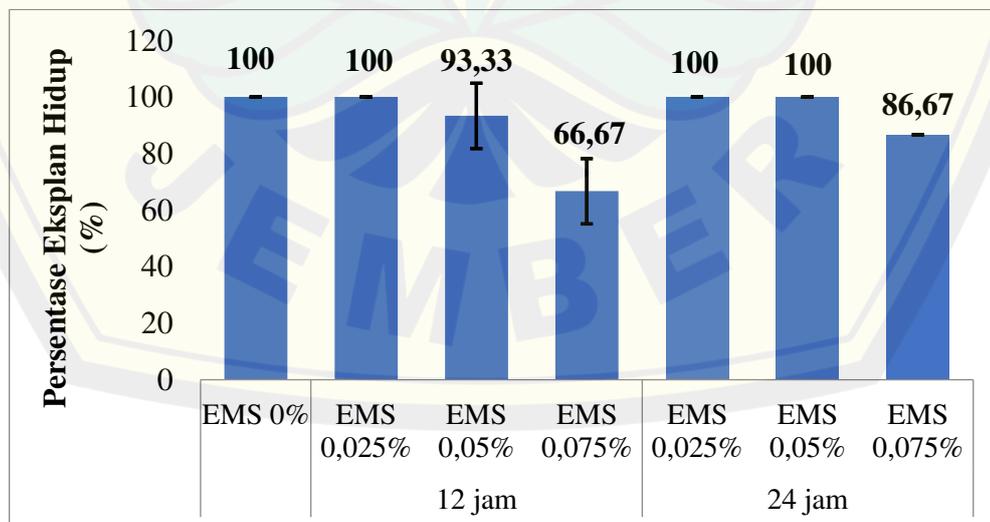


Gambar 4.3 Planlet anggrek minggu ke-12 setelah di regenerasi. (a) Planlet dengan konsentrasi EMS 0%. (b) Planlet dengan konsentrasi EMS 0,025%. (c) Planlet dengan konsentrasi EMS 0,050%. (d) Planlet dengan konsentrasi EMS 0,075%

Planlet tertinggi adalah pada perlakuan tanpa EMS atau EMS 0% (E0) yang memiliki kisaran tinggi antara 2 - 3,5 cm, sedangkan semakin tingginya konsentrasi menyebabkan penurunan tinggi planlet yaitu pada konsentrasi EMS 0,025% (E1), EMS (0,050%), dan EMS 0,075% (E3). Tinggi planlet terendah memiliki kisaran 1 - 2 cm yaitu pada konsentrasi EMS 0,075% (E3). Tinggi planlet tertinggi adalah pada konsentrasi EMS 0% atau tanpa EMS, dimana tinggi planlet mencapai 4,3 cm.

4.1.4 Persentase Hidup Planlet

Persentase hidup planlet dihitung pada 12 MST dengan menghitung total planlet yang hidup lalu dibagi dengan keseluruhan planlet. Pengaruh konsentrasi EMS dan durasi perendaman dapat dilihat pada Gambar 4.7

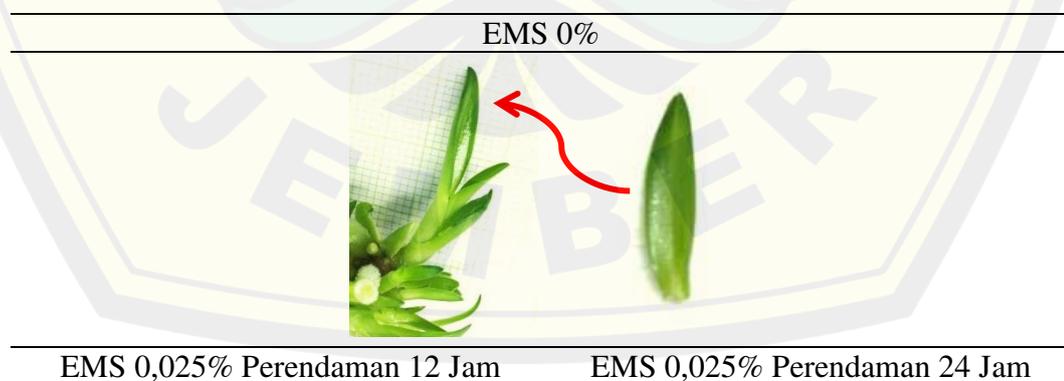


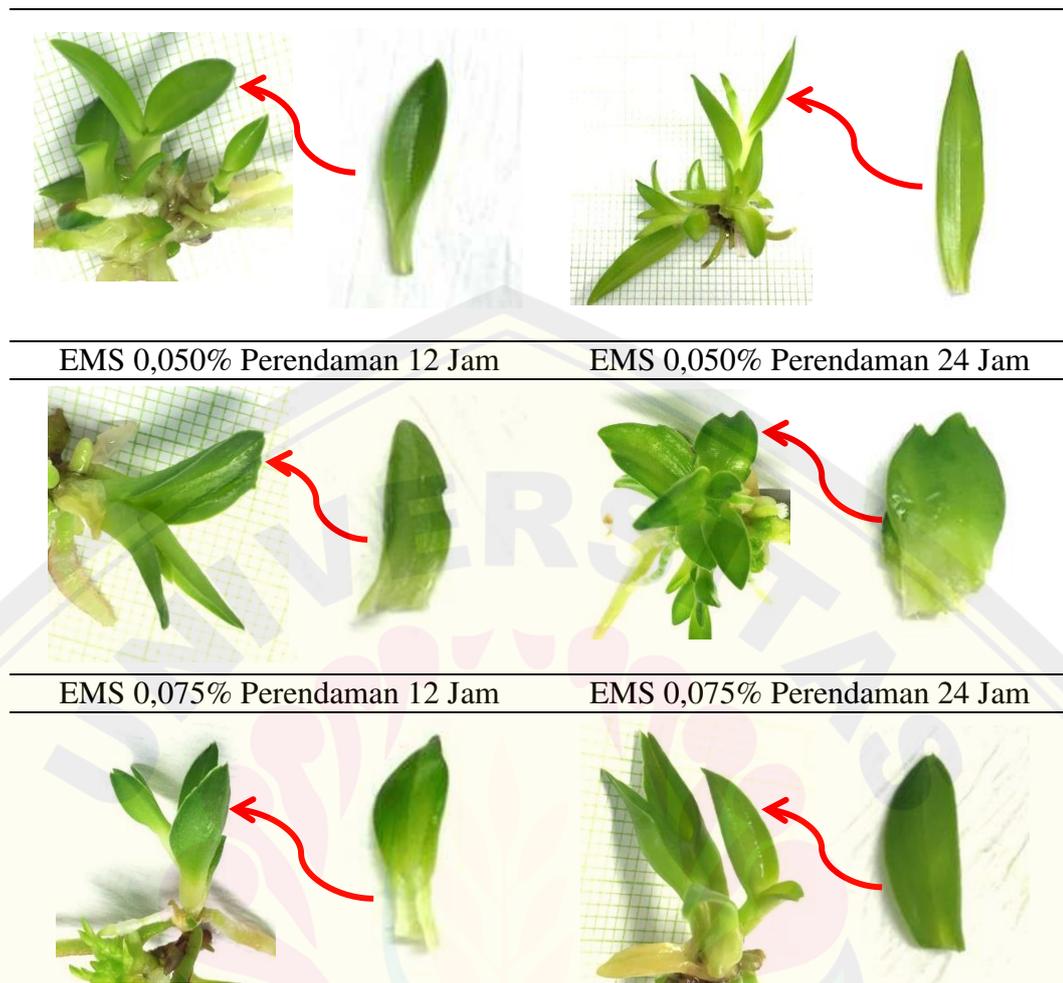
Gambar 4.7 Konsentrasi EMS dan Durasi Perendaman Pada Persentase Hidup Anggrek *Dendrobium Gabriella Suryajaya*

Berdasarkan hasil grafik diatas dapat diketahui bahwa persentase hidup planlet tertinggi ada pada beberapa konsentrasi yaitu EMS 0%, 0,025% perendaman 12 jam, konsentrasi 0,025%, dan 0,050% perendaman 24 jam sebesar 100%. Konsentrasi yang menghasilkan persentase terendah adalah pada konsentrasi tertinggi yaitu EMS 0,075% sebesar 66,67% pada perendaman 12 jam, sedangkan pada perendaman 24 jam sebesar 86,67% planlet yang hidup. Konsentrasi mutagen EMS dapat berpengaruh terhadap persentase planlet yang hidup. Konsentrasi EMS tertinggi yaitu 0,075% dapat menurunkan persentase hidup planlet anggrek.

4.1.5 Morfologi Daun

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang muncul pada bentuk daun anggrek *Dendrobium Gabriella Suryajaya* dengan masing-masing konsentrasi EMS. Pengamatan bentuk daun anggrek dilakukan dengan mengambil 1 sampel daun yang telah tumbuh dan terbuka sempurna pada 12 MST. Bentuk daun anggrek *Dendrobium* adalah lanset dan bentuk dari ujung daunnya dikarakterisasi menjadi tiga kategori yaitu runcing, meruncing, lancip dan tumpul. Bentuk tepi daun anggrek *Dendrobium* juga terdapat yang simetris dan asimetris (Arif & Ratnawati, 2018). Berikut merupakan beberapa bentuk daun *Dendrobium Gabriella Suryajaya* hasil pemberian EMS yang dapat dilihat pada tabel 4.2





Tabel 4.2 Bentuk Daun *Dendrobium Gabriella Suryajaya* Akibat Pemberian EMS selama 12 MST

Berdasarkan tabel 4.2, dapat dilihat bahwa bentuk daun *Dendrobium Gabriella Suryajaya* dengan perlakuan EMS memiliki bentuk yang berbeda-beda jika dibandingkan dengan daun kontrolnya. Bentuk daun dari planlet kontrol memiliki sisi yang rata, daun meruncing, bentuk daunnya lonjong dan berbentuk bulat telur. Bentuk daun dari planlet dengan konsentrasi EMS 0,025% perendaman 12 jam dan 24 jam (E1T1 dan E1T2) memiliki bentuk yang sedikit berbeda, dimana E1T1 ujung daunnya meruncing dan sedikit berkelok serta lebih mengecil, sedangkan E1T2 bentuk daunnya lonjong dengan sisi daun yang lebih tidak beraturan dan ujung daunnya lebih runcing.

Bentuk daun dari planlet dengan konsentrasi EMS 0,050% perendaman 12 jam dan 24 jam (E2T1 dan E2T2) memiliki bentuk daun yang hampir sama,

dimana bentuk daun E2T1 memiliki sisi kanan yang sedikit terbelah, bagian ujung daun meruncing, dan bentuk daun sedikit lonjong. Bentuk daun E2T2 berbentuk bulat telur dengan ujung daun yang terbelah, dan sisi daun yang rata. Bentuk daun dari planlet dengan konsentrasi EMS 0,075% perendaman 12 jam dan 24 jam (E3T1 dan E3T2) memiliki bentuk daun yang sedikit berbeda, dimana bentuk daun E3T1 tidak simetris antar sisi daunnya dan ujung daunnya runcing, sedangkan bentuk daun E3T2 memiliki bentuk daun membulat telur dan lonjong dengan sisi daun yang rata dan bergelombang.

Kategori	Deskripsi	Jumlah Planlet	Persentase (%)
Ujung daun	Runcing	66	62,85%
	Meruncing	24	22,85%
	Membulat	12	11,42%
	Terbelah	3	2,85%
Tepi daun	Simetris	89	84,76%
	Asimetris	16	15,23%

Tabel 4.3 Kategori Bentuk Daun *Dendrobium Gabriella Suryajaya* Akibat Pemberian EMS selama 12 MST

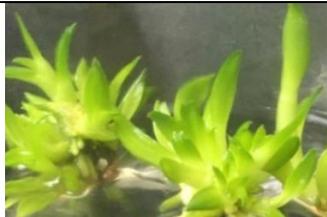
Hasil mutasi menggunakan EMS dapat merubah bentuk morfologi daun anggrek *Dendrobium Gabriella Suryajaya*. Beberapa konsentrasi EMS yang digunakan sebagai bahan mutasi memberikan bentuk yang berbeda-beda pada bagian daun. Morfologi daun paling unik adalah pada konsentrasi EMS 0,075% perendaman 24 jam dengan ujung daun membulat dan terbelah. Kategori ujung daun dengan persentase terbanyak adalah kategori runcing yaitu sebanyak 62,85%. Ujung daun runcing merupakan salah satu karakteristik morfologis daun anggrek *Dendrobium*. Bagian tepi daun juga memiliki tipe yang simetris dan asimetris. Tepi daun yang simetris memiliki persentase sebanyak 84,76% sedangkan pada tepi daun asimetris memiliki persentase sebanyak 15,23%.

4.1.6 Warna Daun

Pengamatan warna daun dilakukan pada 12 minggu setelah tanam dengan cara melihat warna daun tertua pada eksplan. Visual warna daun menggunakan

buku *Munsell Plant Tissue Color Chart* dan didokumentasikan dengan Handphone Iphone 6s. Berdasarkan pengamatan terdapat 8 kategori warna daun dengan visual warna hijau tua, hijau muda, dan putih. Warna daun yang paling mendominasi adalah warna 5GY 5/10 dengan visual warna hijau tua sebanyak 29 eksplan. Hasil warna daun pada *Dendrobium Gabriella Suryajaya* dapat dilihat pada tabel 4.1

Perlakuan (n/jumlah sampel)	Munsell Color	Gambar dan persen populasi
EMS 0% (15/15)	Munsell value: 7.5 GY 6/10 	 100%
EMS 0,05% 12 jam (1/15) EMS 0,025% 24 jam (4/15) EMS 0,05%, 24 jam (1/15) EMS 0,075%, 24 jam (4/15)	Munsell value: 5 GY 5/8 	 16,67%
EMS 0,025%, 12 jam (1/15) EMS 0,05%, 12 jam (2/15) EMS 0,025%, 24 jam (2/15) EMS 0,05%, 24 jam (2/15) EMS 0,075%, 24 jam (2/15)	Munsell value: 5 GY 6/8 	 12%
EMS 0,025%, 12 jam (2/15) EMS 0,05%, 12 jam (1/15) EMS 0,05%, 24 jam (1/15)	Munsell value: 5 GY 7/8 	 8,89%
EMS 0,025%, 12 jam (4/15) EMS 0,05%, 12 jam (4/15) EMS 0,075%, 12 jam (1/11) EMS 0,025%, 24 jam (5/15) EMS 0,05%, 24 jam (7/15) EMS 0,075%, 24 jam (2/15)	Munsell value: 5 GY 5/10 	

EMS 0,025%, 12 jam (5/15) EMS 0,05%, 12 jam (4/15) EMS 0,075%, 12 jam (5/11) EMS 0,025%, 24 jam (3/15) EMS 0,05%, 24 jam (3/15) EMS 0,075%, 24 jam (3/15)	Munsell value: 5 GY 6/10 	26.74%  26,74%
EMS 0,025%, 12 jam (2/15) EMS 0,05%, 12 jam (2/15) EMS 0,075%, 12 jam (2/11) EMS 0,025%, 24 jam (1/15) EMS 0,05%, 24 jam (1/15) EMS 0,075%, 24 jam (1/15)	Munsell value: 5 GY 7/10 	 10,46%
EMS 0,025%, 12 jam (1/15)	Munsell value: 2.5 GY 8/4 	 6,67%

Tabel 4.1 Pengaruh EMS Terhadap Warna Daun *Dendrobium Gabriella* Suryajaya secara *in vitro*

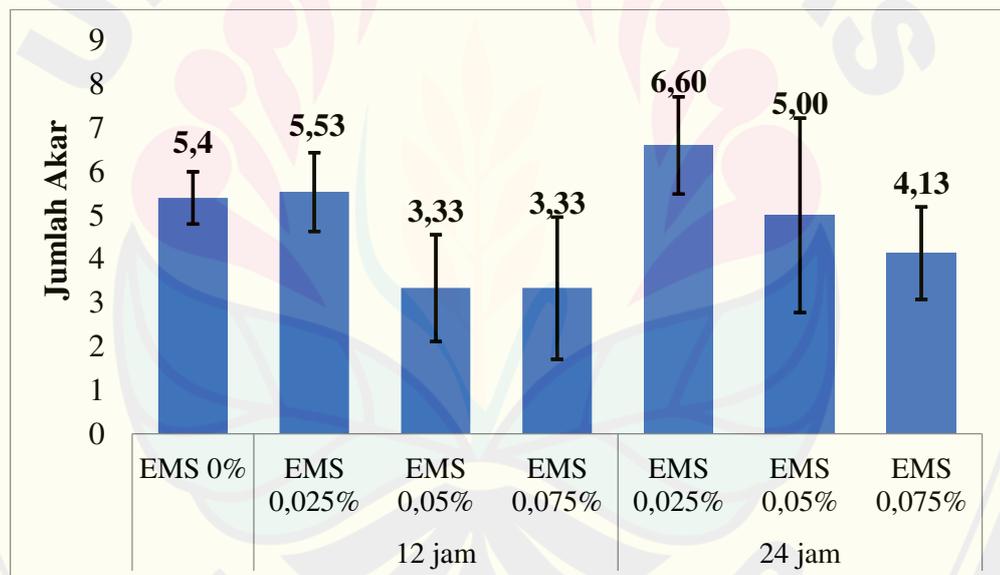
Berdasarkan tabel 4.1, dapat dilihat bahwa warna tunas pada perlakuan kontrol EMS 0% (E0) terlihat berwarna hijau tua dan hijau muda dengan kategori warna 7.5GY 6/10 dan 7.5GY 7/10. Secara visual, terdapat 104 tanaman dengan 8 kategori warna yang berbeda dengan warna daun kontrol (E0) yakni hijau tua dan hijau muda dengan kategori warna 5GY 5/8, 5GY 6/8, 5GY 7/8, 5GY 5/10, 5GY 6/10, 5GY 7/10, dan putih dengan kategori 2.5GY 8/4. Pada setiap perlakuan, tidak semua sampel memberikan warna daun yang sama. Kategori warna daun dengan sampel tanaman terbanyak adalah pada warna hijau muda sebanyak 28 sampel.

Analisis warna daun menunjukkan bahwa konsentrasi EMS 0% menghasilkan warna daun hijau tua yang paling baik dengan nilai 7,5 GY 6/10. Pada perlakuan EMS 0,025%, 0,050%, dan 0,075% menunjukkan warna daun

dengan nilai hue 5 GY dan 2.5 GY dimana terdapat perbedaan pada masing-masing nilai value dan chroma. Warna daun mengindikasikan keberadaan klorofil di dalam jaringan planlet, semakin hijau warna daun menunjukkan semakin banyak mengandung klorofil dan sebaliknya jika warna hijau semakin muda maka kandungan klorofil semakin sedikit. Warna dengan tingkat klorofil paling rendah terdapat pada E1T1 dengan nilai 2.5 GY 8/4.

4.1.7 Jumlah Akar

Pengamatan jumlah akar dilakukan setelah 12 MST dengan menghitung akar yang tumbuh dengan panjang minimal 2 mm. Pertumbuhan jumlah akar pada masing-masing perlakuan menghasilkan jumlah yang berbeda-beda. Pengaruh konsentrasi EMS dan durasi perendaman terhadap jumlah akar dapat dilihat pada Gambar 4.6



Gambar 4.6 Konsentrasi EMS dan Durasi Perendaman Pada Jumlah Akar Anggrek *Dendrobium Gabriella Suryajaya*

Berdasarkan hasil grafik diatas dapat diketahui bahwa konsentrasi optimum untuk memacu pertumbuhan akar adalah pada EMS 0,025% (E1), karena pada konsentrasi tersebut jumlah akar memiliki hasil yang terbanyak. Hal ini didukung dengan menurunnya hasil pada kenaikan konsentrasi selanjutnya yaitu EMS 0,050%. Pada perendaman 12 jam EMS 0,050% dan 0,075% memiliki

jumlah akar yang sama, sedangkan perendaman 24 jam EMS 0,050% dan 0,075% memiliki jumlah akar yang berbeda namun mengalami penurunan. Jumlah akar terendah adalah sebanyak 3,33 pada konsentrasi EMS 0,050% (E2) perendaman 12 jam dimana konsentrasi tersebut memberikan jumlah tunas terendah dan menghasilkan jumlah akar terendah pula. Hal ini diduga bahwa konsentrasi dan durasi perendaman tersebut mampu menghambat pertumbuhan akar dan pertumbuhan tunas pada planlet.

4.2 Pembahasan

Mutasi dapat dikatakan sebagai sebuah proses perubahan materi genetik dari suatu sel yang menyusun organisme dan memiliki sifat permanen, serta dapat diturunkan kepada keturunannya (Arumingtyas, 2019). Proses mutasi dapat terjadi secara alami maupun buatan, dimana mutasi buatan dapat dilakukan dengan menggunakan mutagen. *Ethyl Methane Sulfonate* (EMS) banyak digunakan sebagai mutagen kimia, untuk menginduksi ratusan hingga ribuan basa tunggal yang diwariskan dalam satu garis tanaman dalam proses substitusi basa nitrogen. Akibat adanya proses substitusi basa nitrogen, maka akan mengakibatkan adanya perubahan fenotipik dan molekuler pada sejumlah tanaman (Khalil *et al.* 2018). Proses mutasi yang dilakukan menggunakan mutagen kimia EMS pada anggrek menyebabkan adanya variasi pertumbuhan pada setiap tanaman (Kamila dkk., 2022).

Konsentrasi EMS memberikan pengaruh terhadap tingkat keberhasilan suatu proses mutasi pada tanaman. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, terdapat 98 planlet anggrek mutan yang dapat bertahan hidup dari 105 planlet anggrek mutan yang ditanam. Tingkat letalitas planlet anggrek yang telah dimutasi dipengaruhi seiring bertambahnya konsentrasi mutagen EMS yang digunakan. Konsentrasi EMS sangat berpengaruh pada tingkat keberhasilan proses mutasi pada tanaman, penggunaan konsentrasi EMS yang tinggi dapat meningkatkan proses mutasi tetapi akan berdampak pada tingkat kematian tanaman (Yadav *et al.*, 2016). Penggunaan EMS dengan konsentrasi yang terlalu tinggi dapat mengakibatkan menurunnya tingkat efisiensi dan efektifitas dari

proses mutasi. Menurut (Yoosumran *et al.* 2018) *Lethal Dose* (LD 50) pada tanaman *Dendranthemum* dari EMS adalah sebesar 1,22% EMS selama 60 menit dan 0,72% EMS selama 120 menit. Persentase kelangsungan hidup akan menurun ketika konsentrasi EMS ditingkatkan. Tanaman yang tidak diberi perlakuan EMS menghasilkan kelangsungan hidup 100%.

Perbanyakkan tanaman anggrek dengan teknik kultur jaringan melalui mutasi menghasilkan respon yang berbeda-beda pada setiap tanaman. Teknik mutasi pada anggrek *Dendrobium Gabriella Suryajaya* menggunakan *protocorm like body* yang berumur 3 bulan yang dikulturkan pada media $\frac{1}{2}$ MS dengan penambahan hormon BAP dan NAA. Plb yang paling banyak membentuk tunas adalah pada perlakuan EMS 0,05% pada perendaman selama 24 jam. Jika dibandingkan dengan kontrol, jumlah tunas tidak berbeda nyata yaitu hanya memiliki selisih 0,53. Hasil mutasi plb anggrek didapatkan struktur tanaman yang bervariasi dan memiliki tinggi planlet dengan rentang 1,1 – 4,5 cm. Menurut Siddique *et al.* (2020) hasil mutasi dengan menggunakan bahan mutagen EMS memiliki kategori dimana jumlah mutan terbanyak terdapat pada bentuk tanaman dan variasi warna daun. EMS dapat menyebabkan perubahan fenotipe akibat mutasi pada gen regulator, salah satu karakter yang berubah adalah tanaman menjadi lebih pendek karena faktor transkripsi dari fungsi gen (G. E. Lestari, 2016).

Berikut merupakan tabel rangkuman hasil kategori variasi pertumbuhan anggrek hasil mutasi.

Kategori	Deskripsi	Jumlah Planlet	Persentase (%)
<i>Tall</i> (tinggi)	> 2 cm	69	65,71%
<i>Dwarf</i> (kerdil)	< 2 cm	30	30,47%
<i>Multiplication</i> (multiplikasi)	Plb mengalami multiplikasi tunas	8	6,67%

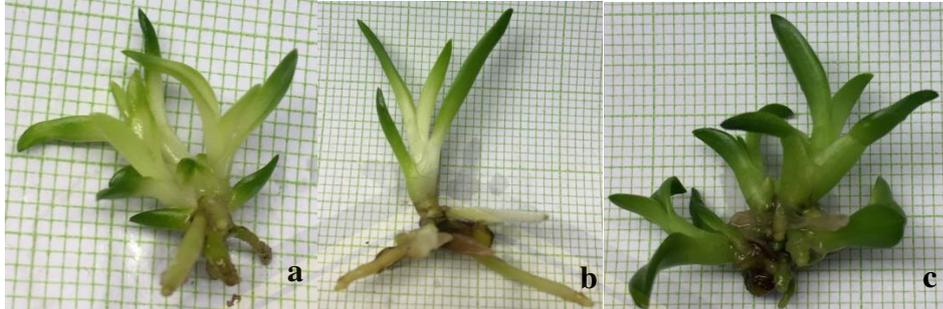
Tabel 4.4 Variasi Pertumbuhan Anggrek *Dendrobium Gabriella Suryajaya* Hasil Mutasi

Mutasi dengan menggunakan EMS mengakibatkan perubahan morfologi dan warna daun pada planlet anggrek yang telah diregenerasikan selama 12

minggu. Menurut Espina et al. (2018), perubahan fenotipik yang terjadi pada tanaman akibat mutasi menggunakan EMS dibagi menjadi empat kelas utama yaitu pertumbuhan tanaman, warna dan morfologi daun, karakteristik bunga, dan warna buah dan morfologi. Perubahan tersebut didokumentasikan dan dibandingkan dengan tanaman kontrol untuk mengetahui perbedaan yang terjadi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa planlet anggrek *Dendrobium Gabriella Suryajaya* pada konsentrasi EMS 0,025% yang direndam selama 12 dan 24 jam memiliki tinggi planlet yaitu 4,3 cm dimana termasuk dalam kategori *tall*. Pada penelitian, planlet kontrol lebih tinggi jika dibandingkan dengan tanaman yang diberikan perlakuan EMS dengan konsentrasi yang berbeda. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Pratiwi dkk. (2013) pada tanaman Marigold yang menunjukkan bahwa konsentrasi EMS dapat menghambat pertumbuhan tanaman. Planlet yang kerdil disebabkan oleh EMS yang merupakan senyawa beracun, sehingga menghambat pertumbuhan planlet dan menyebabkan penyimpangan pada kromosom (Rustini & Pharmawati, 2014).

Efektivitas suatu mutagen ditentukan oleh jenis tanaman, kondisi dalam selnya, lama perendaman dan juga konsentrasi mutagen yang digunakan (Sinta dkk., 2018). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa planlet pada perlakuan perendaman EMS dengan konsentrasi paling rendah (0,025%) memiliki daya hidup paling tinggi dibandingkan perlakuan lain (selain kontrol) dengan daya hidup 100%. Sebaliknya, pada konsentrasi tinggi (0,075%), planlet memiliki daya hidup sangat rendah. Salah satu keberhasilan dalam perbanyakan melalui mutasi adalah kesesuaian penggunaan konsentrasi mutagen serta ketepatan teknik mutasi. Penggunaan mutagen dengan konsentrasi 0,075% dapat menyebabkan eksplan berwarna kecoklatan, tidak dapat membentuk tunas dan mati. Menurut (Qosim dkk., 2012) hal tersebut disebabkan adanya pengaruh konsentrasi EMS yang tinggi ($> 0,15\%$) sehingga dapat menghambat pertumbuhan sel-sel pada tanaman. Pada konsentrasi EMS 0,025% mampu memberikan respon daun berwarna putih dan belum menghasilkan tunas pada 12 MST. Hal ini disebabkan bahwa daun yang terbentuk mengalami mutasi akibat adanya pemberian EMS karena memiliki

tampilan dan respon yang berbeda jika dibandingkan dengan daun kontrolnya (E0) (Kamila dkk., 2022).



Gambar 4.8 Respon warna daun *Dendrobium Gabriella Suryajaya* a. EMS 0,050% 12 jam b. EMS 0,050% 24 jam c. EMS 0%

Plb yang telah diberi mutagen EMS dan direndam selama 12 dan 24 jam diregenerasikan pada media $\frac{1}{2}$ MS yang merupakan media optimum untuk regenerasi dan perkembangan anggrek yang telah di mutasi. Pada 12 MST, hasil planlet anggrek mengalami respon perbedaan warna daun dimana terdapat daun yang mengalami gradasi warna dari putih hingga hijau tua yaitu pada konsentrasi EMS 0,050% perendaman 12 jam dan 24 jam. Respon perbedaan warna yang terjadi terlihat berbeda jika dibandingkan dengan planlet kontrolnya dimana warna daun pada planlet kontrol berwarna hijau rata dan tidak memiliki gradasi warna putih. Menurut Widiarsih & Dwimahyani (2013), kemunculan daun variegata atau daun dengan campuran warna normal daun yang hijau dengan warna lain, baik yang berwarna putih (*albino*) ataupun kuning (*viridis*) tersebut menandakan terjadinya proses mutasi klorofil. Mutasi klorofil terjadi di dalam kloroplas yang menyebabkan kerusakan gen mutan (*defective mutan genes*) kemudian dapat mengganggu proses fotosintesis pada daun. Dengan demikian, dampak mutasi gen kloroplas ditandai dengan munculnya gejala warna belang pada daun tanaman. Mutasi di luar inti sel menimbulkan gejala pertumbuhan kerdil, perubahan morfologi bunga dan penyimpangan morfologi lainnya yang terjadi pada gen di dalam mitokondria (G. E. Lestari, 2016).

Klorofil merupakan pigmen hijau yang terdapat pada tumbuhan. Eksplan yang mengalami mutasi klorofil akibat EMS menyebabkan tanaman memiliki klorofil yang lebih rendah jika dilihat pada warna daun yang memiliki warna hijau

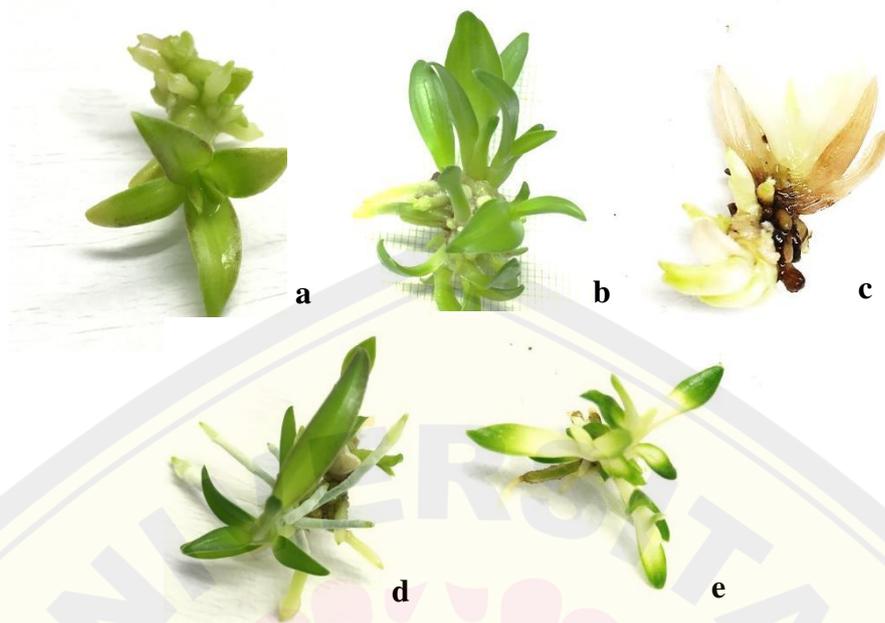
muda dan putih pada *Dendrobium Gabriella Suryajaya*. Tanaman yang tidak mampu membentuk klorofil disebut dengan *variegata*. Kondisi ini dikarenakan adanya penurunan kemampuan tumbuh sekumpulan sel pada daerah meristem akibat dari perubahan struktur DNA atau kerusakan DNA (Suryasari & Martanti, 2009). Menurut (Patia *et al.*, 2017) terdapat beberapa macam spektrum dari mutasi klorofil, berikut merupakan deskripsi singkat mengenai mutan klorofil:

1. *Xantha*: Mutan ini ditandai dengan warna kuning cerah hingga kuning putih, terdapat karotenoid, tetapi tidak ada klorofil.
2. *Chlorina*: Mutan ini ditandai dengan adanya warna hijau kekuningan.
3. *Albino*: Mutan berwarna putih, tidak terdapat klorofil dan karotenoid.
4. *Viridis*: Mutan ini ditandai dengan warna hijau muda ditahap awal pertumbuhan lalu bertahap berubah menjadi warna hijau normal selama periode berikutnya
5. *Albo-viridis*: Mutan ini ditandai dengan warna hijau dengan gradasi putih.

Mutasi klorofil akibat adanya penggunaan EMS pada planlet anggrek menghasilkan beberapa kategori yang menyebabkan perubahan warna daun. Kategori macam spektrum dari mutasi klorofil berdasarkan hasil penelitian dirangkum pada tabel berikut ini:

Kategori	Deskripsi	Jumlah Planlet	Persentase (%)
<i>Xantha</i>	Kuning cerah hingga kuning putih	18	32,4%
<i>Chlorina</i>	Hijau kekuningan	66	86,4%
<i>Albino</i>	Putih	1	0,83%
<i>Viridis</i>	Hijau normal	9	10,8%
<i>Albo-viridis</i>	Hijau dengan gradasi putih	4	4,8%

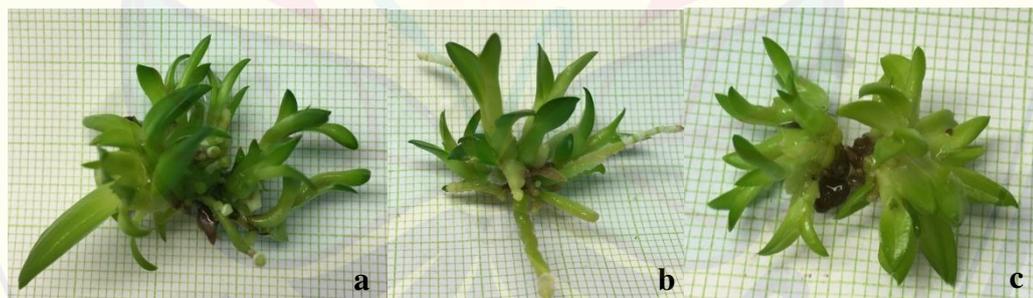
Tabel 4.5 Kategori Macam Spektrum dari Mutasi Klorofil Anggrek *Dendrobium Gabriella Suryajaya*



Gambar 4.9 Macam spektrum warna daun *Dendrobium Gabriella Suryajaya* akibat mutasi klorofil a. *Xantha* b. *Chlorina* c. *Albino* d. *Viridis* e. *Albo-viridis*

Kategori spektrum warna terbanyak pada hasil mutasi planlet anggrek terdapat pada kategori *chlorina* dengan keterangan hijau kekuningan. Planlet yang mengalami mutasi klorofil akibat dari perendaman EMS menyebabkan planlet memiliki klorofil yang lebih rendah jika dilihat dengan warna daun planlet yang memiliki warna hijau muda, hijau kekuningan dan putih pada *Dendrobium Gabriel Suryajaya*. Pada penelitian ini, warna hijau kekuningan pada planlet terdapat pada konsentrasi EMS 0,025%, 0,050%, dan 0,075% dengan perendaman selama 12 dan 24 jam. Menurut Romiyadi dkk. (2018), mutasi dapat terjadi hanya pada bagian lapisan jaringan daun atau pada seluruh lapisan jaringan. Terjadinya defisiensi klorofil berhubungan dengan aberasi kromosom yang terjadi pada sel-sel tanaman yang rusak akibat diberi perlakuan mutagen. Tanaman mutan akibat mutasi klorofil yang memiliki warna putih atau gradasi putih pada daun, dikarenakan adanya penurunan kemampuan tumbuh sekumpulan sel pada daerah meristem akibat dari perubahan struktur DNA atau kerusakan DNA (Poerba & Diah, 2009).

Perendaman eksplan menggunakan larutan EMS berpengaruh terhadap persentase tumbuh eksplan. Pada hasil penelitian, persentase hidup planlet tertinggi adalah pada konsentrasi EMS 0,025% yaitu sebesar 100% dan persentase hidup eksplan terendah adalah pada konsentrasi tertinggi yaitu EMS 0,075% yaitu sebesar 66,67%. Persentase eksplan hidup dipengaruhi oleh konsentrasi EMS dan lama perendaman. Semakin rendah konsentrasi EMS dan semakin pendek waktu perendaman yang diberikan, maka semakin meningkat persentase eksplan yang hidup dan sebaliknya jika semakin tinggi konsentrasi EMS dan semakin lama waktu perendamannya maka persentase kematian eksplan akan tinggi (Manzila dkk., 2010). Namun hal ini berbeda dengan hasil penelitian yang menunjukkan bahwa perendaman 12 jam pada konsentrasi tertinggi EMS 0,075% memberikan persentase hidup eksplan terendah jika dibandingkan dengan perendaman yang lebih lama (24 jam). Perendaman 24 jam menghasilkan persentase sebesar 86,67% pada konsentrasi EMS 0,075%. Hal ini dikarenakan beberapa eksplan pada perlakuan perendaman 24 jam mampu untuk adaptasi dan bertahan hidup pada konsentrasi tertinggi yaitu 0,075%. Peningkatan konsentrasi EMS dan waktu perendaman biasanya akan menghambat pertumbuhan sel-sel dan pada akhirnya akan mengakibatkan kematian pada sel (Sari dkk., 2016).

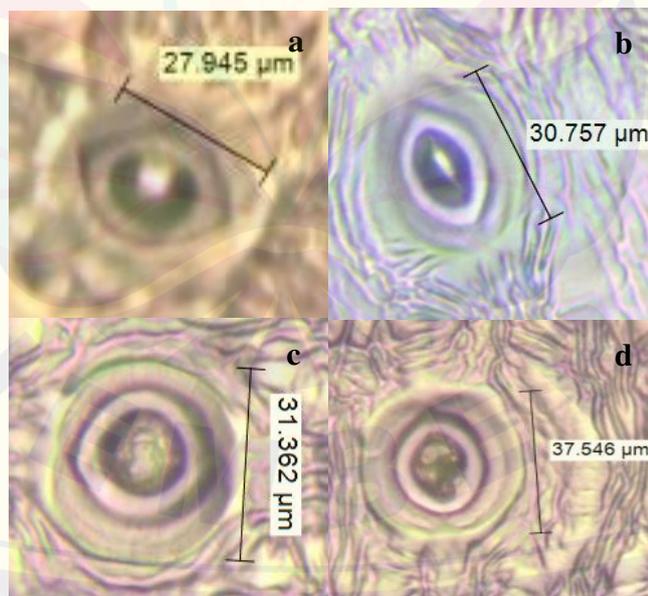


Gambar 4.10 Multiplikasi tunas *Dendrobium Gabriella Suryajaya* a. EMS 0% b. EMS 0,050% 12 jam c. EMS 0,050% 24 jam

Pemberian EMS pada anggrek *Dendrobium Gabriella Suryajaya* pada variabel jumlah tunas memberikan hasil sebagai perangsang tumbuh tunas ataupun sebagai penghambat tunas. Pada 12 MST, jumlah tunas yang dihasilkan paling banyak adalah pada EMS 0%. Hal ini sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Kamila dkk. (2022), bahwa perlakuan yang menghasilkan jumlah

tunas terbanyak pada anggrek *Macodes Petola* adalah dengan tanpa perlakuan EMS 0% yaitu sebanyak 5 tunas. Perbedaan konsentrasi EMS yang diberikan memberikan respon yang berbeda pada masing-masing tanaman terutama dalam karakter jumlah daun dan multiplikasi (Sari dkk., 2016). Menurut (Zhang & Gao, 2020), penggunaan media semi padat dengan kandungan $\frac{1}{2}$ MS basal merupakan media yang efektif untuk regenerasi plb hasil mutasi. Penambahan zat pengatur tumbuh BAP dapat meningkatkan multiplikasi tunas anggrek dan terjadi peningkatan jumlah pada tunas aksilar (Atichart, 2013).

Tingkat regenerasi dari jumlah tunas yang dikembangkan dari plb menunjukkan adanya multiplikasi tunas. Perkembangan tunas yang semakin banyak dipengaruhi secara signifikan oleh adanya peningkatan konsentrasi EMS (Nasri *et al.* 2022). Pada penelitian ini menunjukkan bahwa bentuk multiplikasi tunas pada planlet kontrol dan perlakuan EMS memiliki bentuk yang berbeda. Pada planlet kontrol terlihat bahwa jumlah tunas lebih sedikit dan tidak berkelompok, lalu akarnya memanjang. Sedangkan pada planlet yang diberi perlakuan EMS, jumlah tunasnya lebih banyak dan berkelompok serta saling bersentuhan antar tunas.

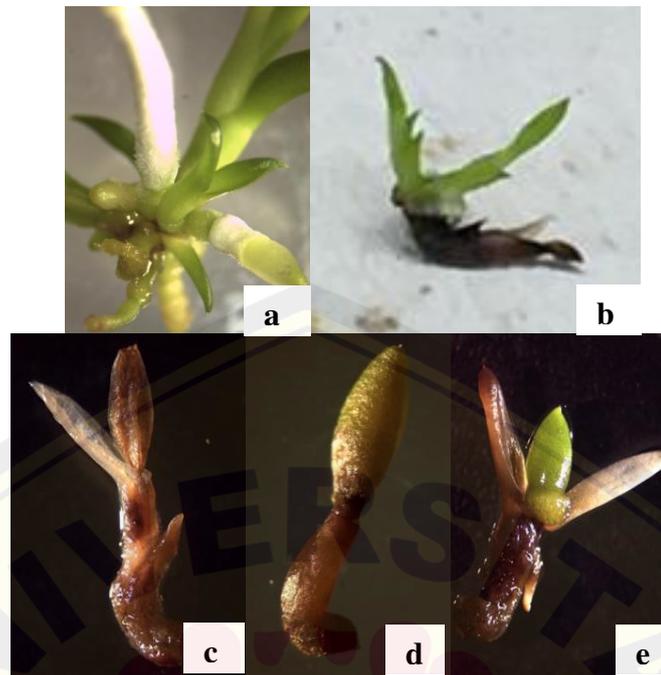


Gambar 4.11 Variasi ukuran dan bentuk stomata anggrek *Dendrobium Gabriella Suryajaya* a. Kontrol (perbesaran 40x) b. EMS 0,025% perbesaran 40x c. EMS 0,050% perbesaran 40x d. EMS 0,075% perbesaran 40x

Panjang stomata terendah diperoleh pada perlakuan kontrol yaitu 27.945 μ m, bentuk stomata terlihat meruncing pada setiap ujungnya. Semakin tinggi konsentrasi EMS, ukuran stomata semakin besar. Bentuk dan variasi pada setiap konsentrasi berbeda-beda. Menurut Sinha (2018), *Ethyl Methane Sulfonate* dapat mempengaruhi karakter stomata pada tanaman. Ukuran stomata dan indeks stomata pada tanaman *Urginea indica* setelah perlakuan menunjukkan sensitivitasnya terhadap EMS, yaitu memunculkan variasi terhadap konsentrasi EMS yang berbeda. Pada konsentrasi tertinggi EMS 0,075% menghasilkan ukuran stomata tertinggi yaitu 37.546 μ m, dapat dilihat bahwa bentuk sel penjaga pada stomata terlihat berbeda jika dibandingkan perlakuan lainnya.

Stomata pada tanaman anggrek *Dendrobium Gabriella Suryajaya* terdapat di permukaan bawah helaian daun. Pada kontrol, dapat terlihat bahwa letak stomata tidak berdekatan antar satu sama lain, sedangkan pada planlet yang telah diberi perlakuan EMS dapat dilihat bahwa letak stomata tersebut berdekatan satu dengan yang lainnya serta dalam barisan yang teratur. Pada stomata kontrol, jumlah yang dihasilkan lebih sedikit daripada yang diberi perlakuan EMS, dimana stomatanya lebih rapat dan jumlahnya lebih banyak. Stomata anggrek *Dendrobium* memiliki sel penjaga dimana dikelilingi oleh sejumlah sel tetangga yang tidak berbeda dengan sel epidermis disekitarnya atau disebut *anomositik*. Kompleks stomata anggrek *Dendrobium* memiliki ukuran dan bentuk sel yang berbeda di setiap jenisnya, tergantung pada besarnya perbandingan panjang lebarnya (Arif & Ratnawati, 2018).

Berdasarkan pengamatan yang telah dilakukan, pertumbuhan *Dendrobium Gabriella Suryajaya* terhadap perlakuan zat mutasi EMS yang diberikan pada penelitian ini memberikan respon yang berbeda-beda terhadap setiap tanaman. Terdapat beberapa kategori morfologi planlet *Dendrobium Gabriella Suryajaya* akibat perlakuan EMS yang diberikan yaitu kategori eksplan yang masih tetap berwarna hijau, kategori eksplan dengan batang yang mengering dan coklat, dan kategori eksplan berwarna putih. Berikut merupakan beberapa morfologi planlet *Dendrobium Gabriella Suryajaya* hasil pemberian EMS yang dapat dilihat pada gambar 4.12



Gambar 4.12 Variasi Morfologi *Dendrobium Gabriella Suryajaya* Akibat Pemberian EMS selama 12 MST a. Kontrol b. EMS 0,075% perendaman 24 jam c. EMS 0,075% perendaman 12 jam d. EMS 0,075% perendaman 12 jam e. EMS 0,050% perendaman 12 jam

Berdasarkan gambar variasi morfologi diatas, dapat dilihat bahwa konsentrasi mutagen EMS menyebabkan respon pertumbuhan dan perkembangan yang berbeda-beda pada eksplan. Pada gambar a, eksplan tumbuh normal yaitu tetap berwarna hijau dan menghasilkan daun serta tunas berwarna hijau. Konsentrasi EMS dan lama perendaman pada seluruh perlakuan E0, E1T1, E2T1, E3T1, E1T2, E2T2, dan E3T2 masih mampu menumbuhkan daun dan tunas berwarna hijau walaupun dengan jumlah yang berbeda-beda. Hal ini berarti, eksplan mampu tahan terhadap adanya mutagen EMS. Kondisi ini terjadi karena tidak terjadinya kerusakan fisiologis dalam tanaman, sehingga tanaman mampu tumbuh secara normal. Dalam penelitian ini, eksplan yang diberi perlakuan EMS menghasilkan berbagai mutan yang merupakan hasil dari efek pleiotropik dari gen yang bermutasi atau mutasi pada lokus yang berbeda dalam genom (Basu *et al.* 2008)

Pada gambar c, diketahui bahwa eksplan berwarna coklat dan daunnya berwarna putih serta tidak menghasilkan tunas. Kategori tersebut terdapat pada

perlakuan konsentrasi EMS tertinggi yaitu 0,075% perendaman 12 jam. Respon eksplan dengan batang berwarna coklat atau mengering dapat terjadi karena rusaknya sel-sel di dalam tanaman akibat EMS serta gen yang bermutasi bersifat letal, sehingga gejala mutasi dapat diamati dikarenakan eksplan tersebut mati sebelum dewasa (G. E. Lestari, 2016). Pada gambar d, dapat dilihat bahwa batang eksplan mengering dan warna daunnya masih terlihat hijau namun tidak menghasilkan tunas. Kategori ini terdapat pada konsentrasi EMS 0,075% perendaman 12 jam (E3T1). Pada hal ini, eksplan mengalami penghambatan tumbuh hingga batang akibat EMS, namun daun masih menunjukkan respon yang normal. Pada gambar b dan e dapat dilihat bahwa eksplan memiliki batang yang berwarna coklat namun tetap mampu memunculkan tunas hijau yang diduga karena respon eksplan yang dapat beradaptasi dengan EMS yang bersifat mutan. Kategori ini terdapat pada konsentrasi EMS 0,075% perendaman 24 jam dan EMS 0,025% perendaman 12 jam. Pada EMS 0,025% perendaman 12 jam, tunas yang tumbuh sebanyak 2 yang berarti lebih banyak jika dibandingkan konsentrasi 0,075% perendaman 24 jam.

Kombinasi dosis dan waktu perendaman yang lebih tinggi untuk tanaman yang diberi mutagen EMS menunjukkan tingkat kematian yang lebih tinggi dan penurunan hasil pada tanaman (Basu *et al.*, 2008). Lama perendaman EMS tidak berpengaruh nyata terhadap persentase hidup planlet anggrek, hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh (Kamila dkk., 2022) bahwa lama perendaman menggunakan EMS tidak berpengaruh nyata dalam menurunkan tinggi tanaman pada anggrek *Macodes petola*. Respon yang diberikan terhadap lama perendaman EMS pada tinggi tanaman *Macodes petola* memberikan hasil yang berbeda-beda. Perbedaan respon ini mungkin terjadi karena faktor genetik per individu tanaman. Mutagen kimia EMS sangat efektif digunakan karena dapat menginduksi banyak mutasi titik dalam genom tanaman. Selain itu, EMS dapat menyebabkan tingkat penyimpangan kromosom yang rendah pada proses mutagenesis (Nasri *et al.*, 2022). Penelitian ini menunjukkan bahwa mutagenesis menggunakan EMS mampu menghasilkan jumlah variabilitas dalam planlet anggrek *Dendrobium Gabriella Suryajaya*. Generasi dari variabilitas dan seleksi

untuk sifat yang diinginkan menghasilkan identifikasi beberapa mutan dengan karakteristik agronomi penting yang dapat digunakan sebagai plasma nutfah untuk perbaikan tanaman ini.



BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Mutasi menggunakan EMS dapat menghasilkan keragaman dalam morfologi daun dan warna daun yang berbeda jika dibandingkan dengan kontrol. Konsentrasi EMS 0,025% menghasilkan jumlah akar tertinggi dan terdapat planlet *albino* yang mengalami defisiensi klorofil. Konsentrasi EMS 0,050% memberikan keragaman warna terbanyak pada daun dan jumlah helai daun tertinggi. Konsentrasi EMS 0,075% menghasilkan persentase hidup planlet terendah, tinggi planlet dan jumlah akar terendah. Persentase multiplikasi planlet tertinggi terdapat pada perlakuan tanpa EMS atau EMS 0% dan EMS 0,050% perendaman 24 jam sebanyak 12 tunas.

5.2 Saran

Mutasi menggunakan EMS dapat menghasilkan keragaman genetik dan perubahan morfologi pada planlet anggrek *Dendrobium Gabriella Suryajaya*. Perlu dilakukannya analisa molekuler sebagai pendugaan awal terhadap variasi tanaman lebih lanjut dengan menggunakan metode ISSR untuk mengetahui tanaman mutan yang unggul.

DAFTAR PUSTAKA

- Akhar, F. K., Khadem, A., Sharifi, A., Nemati, Z., Yazdi, M., & Bagheri, A. (2016). In Vitro Mutation Induction on TCL Explants of Liliun (*Lilium* spp.) with Ethyl Methane Sulfonate (EMS). *Journal of Biology and Today's World*, 5(10), 177–185.
- Arif, A., & Ratnawati. (2018). Hubungan kekerabatan anggrek dendrobium berdasarkan karakteristik morfologis dan anatomis daun the relativity relation of dendrobium based on morphological and anatomical leaf characters. *Jurnal Prodi Biologi*, 7(4), 213–222.
- Arumingtyas. (2019). *Mutasi: Prinsip Dasar dan Konsekuensi*. Malang: UB Press.
- Atichart, P. (2013). Polyploid Induction by Colchicine Treatments and Plant Regeneration of *Dendrobium chrysotoxum*. *Thai Journal of Agricultural Science*, 46(1), 59–63.
- Basu, S. K., Acharya, S. N., & Thomas, J. E. (2008). Genetic improvement of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) through EMS induced mutation breeding for higher seed yield under western Canada prairie conditions. *Euphytica*, 160(2), 249–258. <https://doi.org/10.1007/s10681-007-9545-9>
- Billore, V., Mirajkar, S. J., Suprasanna, P., & Jain, M. (2019). Gamma Irradiation Induced Effects on In Vitro Shoot Cultures and Influence of Monochromatic Light Regimes on Irradiated Shoot Cultures of *Dendrobium sonia* Orchid. *Biotechnology Reports*, 22.
- Broto, B. W. (2015). *Keragaman Jenis dan Sebaran Anggrek Alam di Taman Wisata Alam Candi Sirenreng, Kabupaten Bone, Sulawesi Selatan*.
- Chopra, V. L. (2005). Mutagenesis: Investigating the Process and Processing the Outcome for Crop Improvement. *Current Science*, Vol. 89, pp. 353–359.
- Devy, L., & Dodo R, S. (2006). Pengaruh Radiasi Sinar Gamma Terhadap Kultur in Vitro Tanaman Jahe. *Jurnal Sains Dan Teknologi Indonesia Vol. 8 No 1 April 2016 Hlm. 7-14*, 8(4), 7–14.
- Espina, M. J., Ahmed, C. M. 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.
- Fandani, H. S., Mallomasang, S. N., & Korja, I. N. (2018). Keanekaragaman Jenis Anggrek pada beberapa Penangkaran di Desa Ampera dan Desa Karunia Kecamatan Palolo Kabupaten Sigi. *Jurnal Warta Rimba*, 6(9), 14–20.

- Gunawan, L. W. (2005). *Budidaya Anggrek*. Bogor: Niada Swadaya.
- Hinsley, A., De Boer, H. J., Fay, M. F., Gale, S. W., Gardiner, L. M., Gunasekara, R. S., ... Phelps, J. (2018). A Review of the Trade in Orchids and its Implications for Conservation. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 186(4), 435–455.
- Kamila, N., Purnomo, S. S., Widyodaru, N., & Sandra, E. (2022). Induksi Mutasi Etil Metan Sulfonat (EMS) terhadap Kenampakan Fenotip Anggrek Ki Aksara (*Macodes petola*) Secara In Vitro Mutation Induction of Ethyl Methane Sulfonate (EMS) to Phenotypic Appearance of the Ki Aksara Orchid (*Macodes petola*) In Vitro. *Jurnal Agrohita*, 7(1), 152–162.
- Khalil, F., Naiyan, X., Tayyab, M., & Pinghua, C. (2018). Screening of ems-induced drought-tolerant sugarcane mutants employing physiological, molecular and enzymatic approaches. *Agronomy*, 8(10).
- Lestari, E. P., Yunus, A., & Sugiyarto, S. (2018). Diversity Induction of *Dendrobium sylvanum* Orchid through In Vitro Irradiation of Gamma Ray. *Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education*, 10(3), 691–697.
- Lestari, G. E. (2016). *Pemuliaan Tanaman Melalui Induksi Mutasi dan Kultur In Vitro*. Jakarta: IAARD Press.
- Manzila, I., Hidayat, S. H., Mariska, I., & Sujiprihati, S. (2010). Pengaruh Perlakuan Ethyl Methane Sulfonate pada Tanaman Cabai (*Capsicum annuum* L .) dan Ketahanannya terhadap Chilli Veinal Mottle Virus (ChiVMV) The Effect of Ethyl Methane Sulfonate on Chilli Pepper (*Capsicum annuum* L .) and Their Resistance to Chil. *Jurnal Agron Indonesia*, 38(3), 205–211.
- Miswar. (2015). Mutasi Gen dengan Ethyl Methane Sulfonate (EMS) untuk Memodifikasi KANDUNGAN ASAM Fitat dan *P. Agritop* *Jurnal Ilmu Pertanian*, 1–6.
- Nasri, F., Zakizadeh, H., Vafae, Y., & Mozafari, A. A. (2022). In Vitro Mutagenesis of *Chrysanthemum morifolium* Cultivars Using Ethylmethanesulphonate (EMS) and Mutation Assessment by ISSR and IRAP Markers. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 149(3), 657–673. Retrieved from <https://doi.org/10.1007/s11240-021-02163-7>
- Patia, M., Thakur, S. R., Singh, K. P., & Thakur, A. (2017). Frequency and spectrum of chlorophyll mutations and induced variability in ricebean (*Vigna umbellata* thunb, ohwi and ohashi). *Legume Research*, 40(1), 39–46.
- Poerba, Y. S., Leksonowati, A., & Martanti, D. (2009). Pengaruh Mutagen Etil Metan Sulfonat (EMS) Terhadap Pertumbuhan Kultur In Vitro Iles-iles (*Amorphophallus muelleri* Blume). *Berita Biologi*, 1(1), 1–64.

- Pratiwi, N. made D., Pharmawati, M., & Astarini, I. A. (2013). Pengaruh Ethyl Methane Sulphonate (EMS) Terhadap Pertumbuhan dan Variasi Tanaman Marigold (*Tagetes sp.*). *Agrotrop*, 3(1), 23–28.
- Purente, N., Chen, B., Liu, X., Zhou, Y., & He, M. (2020). Effect of Ethyl Methanesulfonate on Induced Morphological Variation in M3 Generation of *Chrysanthemum indicum* var. *Aromaticum*. *HortScience*, 55(7), 1099–1104.
- Purnama, I., Rusmiyanto, E., Wardoyo, P., & Linda, R. (2016). Jenis-jenis Anggrek Epifit di Hutan Bukit Luncit Kecamatan Anjongan Kabupaten Mempawah. *Protobiont*, 5(3), 1–10.
- Purwati, Rully Dyah, Sudjindro, S., Kartini, E., & Sudarsono, S. (2008). *Keragaman Genetika Varian Abaka Yang Diinduksi Dengan*. 14(1), 16–24.
- PUSPITANINGTYAS, D. M. (2017). Orchid Inventory in Bantimurung-Bulusaraung National Park, South Sulawesi, Indonesia. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 18(1).
- Putra, B. S., & Purwani, K. I. (2017). Pengaruh Mutagen Kimia EMS (Ethyl Methane Sulphonate) Terhadap Daya Berkecambah Benih Tanaman Tembakau var. Marakot. *Jurnal Sains Dan Seni ITS*, 6(2).
- Qosim, W. A., Istifadah, N., Djatnika, I., & -, Y. (2012). Pengaruh Mutagen Etil Metan Sulfonat terhadap Kapasitas Regenerasi Tunas Hibrida Phalaenopsis In Vitro. *Jurnal Hortikultura*, 22(4), 360.
- Qosim, W. A., Yuwariah, Y., Hamdani, J. S., Rachmadi, M., & Perdani, S. M. (2016). Pengaruh Mutagen Etil Metan Sulfonat Terhadap Regenerasi Tunas pada Dua Genotip Manggis Asal Purwakarta dan Pandeglang. *Jurnal Hortikultura*, 25(1), 9.
- 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).
- Rustini, N. K. D., & Pharmawati, M. (2014). Aksi Ethyl Methane Sulphonate terhadap Munculnya Bibit dan Pertumbuhan Cabai Rawit(*Capsicum frutescens L.*) (Ethyl Methane Sulphonate Action on Seed Emergence and Growth of (*Capsicum frutescens L.*)). *Jurnal Bios Logos*, 4(1), 1–8. <https://doi.org/10.35799/jbl.4.1.2014.4836>
- Sari, D. N., Aisyah, S. I., & Damanik, D. M. R. M. (2017). Sensitivitas dan Keragaan Tanaman *Coleus sp.* terhadap Mutasi Induksi Kimia Menggunakan Ethyl Methane Sulfonate (EMS) Aplikasi Cara Rendam dan Tetes. *Jurnal Agronomi Indonesia (Indonesian Journal of Agronomy)*, 45(1), 56–63.
- Sari, L., Purwito, A., Soepandi, D., Purnamaningsih, R., & Sudarmonowati, E. (2016). Induksi Mutasi dan Seleksi In Vitro Tanaman Gandum (*Triticum*

- aestivum L.). *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia (JBBI)*, 3(2), 48.
- Sarmah, D., Kolukunde, S., Sutradhar, M., Singh, B. K., Mandal, T., & Mandal, N. (2017). A Review on: In Vitro Cloning of Orchids. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(8), 1909–1927.
- Shah, S., Kamili, A., Wani, A. A., Sajjad, N., Wani, A. A., Shah, D., ... Parray, J. A. (2016). Mutagenic Action of Ethyl Methanesulphonate (EMS): A Review. *Journal of Research & Development*, 16(3), 63–68.
- Siddique, M. I., Back, S., Lee, J. H., Jo, J., Jang, S., Han, K., ... Kang, B. C. (2020). Development and Characterization of an Ethyl Methane Sulphonate (EMS) Induced Mutant Population in *Capsicum annum* l. *Plants*, 9(3), 1–16.
- Silalahi, M. (2014). *Bahan Ajar Kultur jaringan*. 156–159.
- Sinha, R. (2018). Effects of Ethyl Methane Sulphonate on the stomata of *Urginea indica* Kunth CytotypeII as observed in M1 and M2 Generations. *International Journal of Advanced Life Sciences*, 11(3), 111–116. <https://doi.org/10.26627/ijals/2018/11.03.0056>
- Sinta, M. M., Wiendi, N. M. A., & Aisyah, S. I. (2018). Induksi mutasi *Stevia rebaudiana* dengan perendaman kolkisin secara in vitro. *E-Journal Menara Perkebunan*, 86(1), 1–10.
- Soedjono. (2003). *Aplikasi Mutasi Induksi dan Variasi Somaklonal Dalam Pemuliaan Tanaman*. 1945(2).
- Soeranto, H. (2003). Peran Iptek Nuklir Dalam Pemuliaan Tanaman untuk Mendukung Industri Pertanian. *Teknologi Isotop Dan Radiasi, Badan Tenaga Nuklir*, 308–316.
- Sulichantini, E. D. (2015). *Produksi Metabolit Sekunder Melalui Kultur Jaringan*. 205–212.
- Suryasari, Y., & Martanti, D. (2009). *Induksi Mutasi Curcuma zedoaria (Christm) Roscoe dengan Irradiasi Sinar Gamma Induced Mutation of Curcuma zedoaria (Christm) Roscoe using Gamma Rays Irradiation Pendahuluan Metode Penelitian*. 14(2), 87–93.
- Tadmor, Y., Katzir, N., Meir, A., Yaniv-Yaakov, A., Sa'ar, U., Baumkoler, F., ... Burger, J. (2007). Induced Mutagenesis to Augment the Natural Genetic Variability of Melon (*Cucumis melo* L.). *Israel Journal of Plant Sciences*, 55(2), 159–169.
- Talebi, A. B., Talebi, A. B., & Shahrokhifar, B. (2012). Ethyl Methane Sulphonate (EMS) Induced Mutagenesis in Malaysian Rice (cv. MR219) for Lethal Dose Determination. *American Journal of Plant Sciences*, 3(12),

1661–1665.

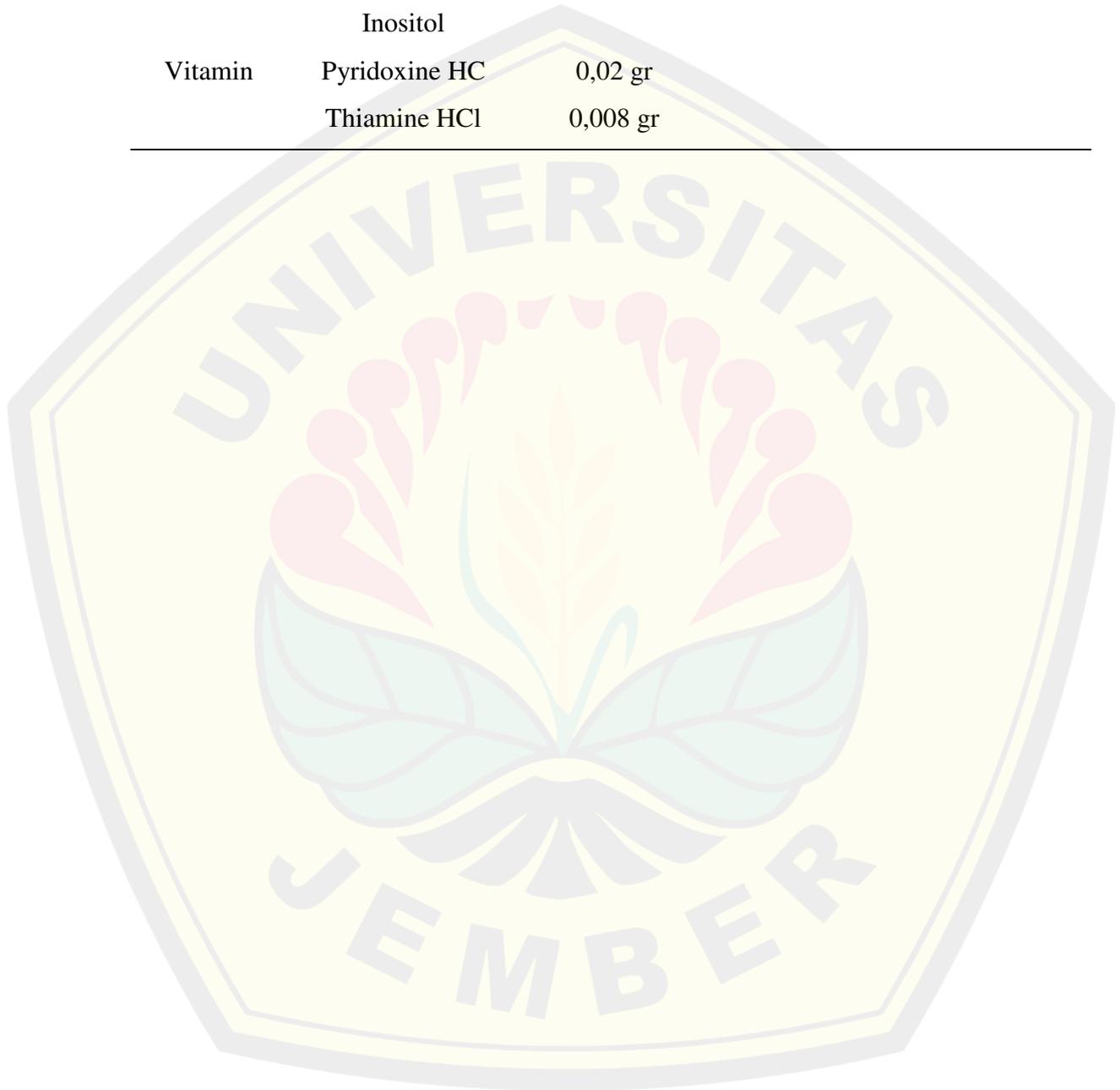
- Tantasawat, T. P., Khairum, A., Tharapreuksapong, A., Poolsawat, O., & Tantasawat, P. A. (2017). *Molecular Characterization of Dendrobium “Earsakul” Mutants from In Vitro Selection for Black Rot Resistance*. 19(2), 130–134.
- Wannajindaporn, A., Kativat, C., & Tantasawat, P. A. (2016). Mutation Induction of Dendrobium “Earsakul” Using Sodium Azide. *HortScience*, 51(11), 1363–1370.
- Widiarsih, S., & Dwimahyani, dan I. (2013). Gamma irradiation application for mutation breeding in early flowering moth orchid (phalaenopsis amabilis Bl.). *Jurnal Ilmiah Aplikasi Isotop Dan Radiasi*, 9(1), 59–66.
- Widiasteoty, D., Solvia, N., & Soedarjo, M. (2016). Potensi Anggrek Dendrobium dalam Meningkatkan Variasi dan Kualitas Anggrek Bunga Potong. *Jurnal Penelitian Dan Pengembangan Pertanian*, 29(3), 101–106.
- Wijayani. (2016). *Anggrek, Budidaya, dan Perbanyakan*. Yogyakarta: LPPM UPN Veteran Yogyakarta.
- Yadav, P., Meena, H. S., Meena, P. D., Kumar, A., Gupta, R., Jambhulkar, S., ... Singh, D. (2016). Determination of LD50 of ethyl methanesulfonate (EMS) for induction of mutations in rapeseed-mustard. *Journal of Oilseed Brassica*, 7(1), 77–82.
- Yasmin, Z. F., Aisyah, S. I., & Sukma, D. (2018). Pembibitan (Kultur Jaringan hingga Pembesaran) Anggrek Phalaenopsis di Hasanudin Orchids, Jawa Timur. *Buletin Agrohorti*, 6(3), 430–439.
- Yoosumran, V., Ruamrungsri, S., Duangkongsan, W., & Kanjana, S. (2018). Induced mutation of dendranthemum grandiflora through tissue culture by Ethyl Methanesulphonate (EMS). *International Journal of Agricultural Technology*, 14(1), 73–82.
- Yunita, R. (2009). Pemanfaatan Variasi Somaklonal dan Seleksi In Vitro Dalam Perakitan Tanaman Toleran Cekaman Abiotik. *Jurnal Litbang Pertanian*, 28(4), 142–148.
- Yusnita. (2010). *Perbanyakan In Vitro Tanaman Anggrek*. Lampung: (ID) Universitas Lampung.
- Zhang, X., & Gao, J. (2020). In Vitro Tetraploid Induction from Multigenotype Protocorms and Tetraploid Regeneration in Dendrobium officinale. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 141(2), 289–298.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Komposisi Media ½ MS

STOK	Nama Bahan	Jumlah yang diambil (gram)	Dilarutkan dalam Aquadest	Pengambilan (ml)
A	Ammonium nitrate (NH ₄ NO ₃)	8,25 gr		1.0
B	Pottasium nitrate (KNO ₃)	9,5 gr		6.0
C	Calcium chloride (CaCl ₂ ·2H ₂ O)	8,8 gr		4.0
	Boric acid (H ₃ BO ₃)	0,124 gr		2.0
	Potassium phosphate (KH ₂ PO ₄)	3,4 gr		
D	Cobalt chloride (CoCl ₂ ·6H ₂ O)	0,00052 gr	100 ml	
	Sodium molybdate (Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O)	0,005 gr		
	Potassium iodide (KI)	0,0166 gr		
	Magnesium sulfat (MgSO ₄ ·7H ₂ O)	7,4 gr		
E	Zinc sulfat (ZnSO ₄ ·7H ₂ O)	0,172 gr		1.0
	Cupric sulfat (CuSO ₄ ·5H ₂ O)	0,00052 gr		

	Manganese sulfate	0,061 gr	
	(MnSO ₄ ·4H ₂ O)		
	Na ₂ EDTA·2H ₂ O	0,744 gr	2.0
F	Ferrous sulfate	0,556 gr	
	(FeSO ₄ ·7H ₂ O)		
	Inositol		
Vitamin	Pyridoxine HC	0,02 gr	
	Thiamine HCl	0,008 gr	



Lampiran 2. Perhitungan Konsentrasi EMS

1. Pembuatan larutan stok 1 gram EMS dalam 10 ml buffer fosfat

$$\begin{aligned}1 \text{ gram}/10 \text{ ml} &= 100 \text{ mg/ml} \\ &= 100.000 \text{ } \mu\text{g/ml} \\ &= 100.000 \text{ ppm}\end{aligned}$$

2. Konsentrasi EMS 0,025%

$$\begin{aligned}0,025\% &= 250 \text{ ppm} \\ \frac{250 \text{ ppm}}{100.000 \text{ ppm}} \times 1000 \times 10 &= 25 \text{ } \mu\text{l} \text{ (dalam 10 ml aquades)}\end{aligned}$$

3. Konsentrasi EMS 0,05%

$$\begin{aligned}0,05\% &= 500 \text{ ppm} \\ \frac{500 \text{ ppm}}{100.000 \text{ ppm}} \times 1000 \times 10 &= 50 \text{ } \mu\text{l} \text{ (dalam 10 ml aquades)}\end{aligned}$$

4. Konsentrasi EMS 0,075%

$$\begin{aligned}0,075\% &= 750 \text{ ppm} \\ \frac{750 \text{ ppm}}{100.000 \text{ ppm}} \times 1000 \times 10 &= 75 \text{ } \mu\text{l} \text{ (dalam 10 ml aquades)}\end{aligned}$$

Lampiran 3. Dokumentasi Penelitian

<p>Persiapan dan sterilisasi alat</p>	<p>Pembuatan Media ½ MS</p>
	
<p>Pengukuran pH Media</p>	<p>Pembuatan larutan EMS</p>
	
<p>Proses mutasi plb</p>	<p>Penanaman</p>
	
<p>Pengamatan variabel tinggi planlet</p>	<p>Pengamatan warna daun</p>



Lampiran 3. Hasil Analisis Data SEM Variabel Pengamatan

1. Tinggi Planlet

Durasi (T)	EMS (E)	Ulangan			Total	Rata- rata	STDEV	\sqrt{n}	SEM
		I	II	III					
T1	E1	2,38	2,48	2,48	7,34	2,45	0,06	1,73	0,03
	E2	2,08	1,96	2,24	6,28	2,09	0,14	1,73	0,08
	E3	1,42	1,94	1,2	4,56	1,52	0,38	1,73	0,22
T2	E1	2,2	3,28	1,62	7,1	2,37	0,84	1,73	0,49
	E2	2,7	2,06	2,66	7,42	2,47	0,36	1,73	0,21
	E3	1,56	2,58	1,7	5,84	1,95	0,55	1,73	0,32

2. Jumlah Helai Daun

Durasi (T)	EMS (E)	Ulangan			Total	Rata- rata	STDEV	\sqrt{n}	SEM
		I	II	III					
T1	E1	6,8	9	10	25,8	8,60	1,64	1,73	0,95
	E2	7,2	8,2	8,2	23,6	7,87	0,58	1,73	0,33
	E3	4,6	6,8	12	23,4	7,8	3,8	1,73	2,19
T2	E1	10,6	7,8	11,6	30	10,00	1,97	1,73	1,14
	E2	12,6	12,6	10,4	35,6	11,87	1,27	1,73	0,73
	E3	11,6	8,4	5	25	8,33	3,30	1,73	1,91

3. Jumlah Tunas

Durasi (T)	EMS (E)	Ulangan			Total	Rata- rata	STDEV	\sqrt{n}	SEM
		I	II	III					
T1	E1	2,2	3,8	3,4	9,4	3,13	0,83	1,73	0,48
	E2	3	2,4	2,2	7,6	2,53	0,42	1,73	0,24
	E3	2	3,2	4	9,2	3,07	1,01	1,73	0,58
T2	E1	3,4	2,4	4,6	10,4	3,47	1,10	1,73	0,64
	E2	3,6	5,2	3,4	12,2	4,07	0,99	1,73	0,57
	E3	5	4,4	2,4	11,8	3,93	1,36	1,73	0,79

4. Jumlah Akar

Durasi (T)	EMS (E)	Ulangan			Total	Rata- rata	STDEV	\sqrt{n}	SEM
		I	II	III					
T1	E1	4,6	5,6	6,4	16,6	5,53	0,90	1,73	0,52
	E2	3,6	2	4,4	10	3,33	1,22	1,73	0,71
	E3	2,2	5,2	2,6	10	3,33	1,63	1,73	0,94
T2	E1	4,6	6,2	9	19,8	6,60	2,23	1,73	1,29
	E2	5,4	3,8	5,8	15	5,00	1,06	1,73	0,61
	E3	3,4	5,2	3,8	12,4	4,13	0,95	1,73	0,55

5. Persentase Hidup Planlet

Perlakuan	Ulangan			Total	Rata- rata	STDEV	\sqrt{n}	SEM
	I	II	III					
E1T1	100	100	100	300	100	0,00	1,73	0,00
E2T1	80	100	100	280	93,33	11,55	1,73	6,67
E3T1	80	60	60	200	66,67	11,55	1,73	6,67
E1T2	100	100	100	300	100	0,00	1,73	0,00
E2T2	100	100	100	300	100	0,00	1,73	0,00
E3T2	80	100	80	260	86,67	11,55	1,73	6,67