

INDUKSI MUTASI KROMOSOM MENGGUNAKAN KOLKISIN TERHADAP PLANLET TEMBESU (*Fragraea fragrans*. Roxb) SECARA IN-VITRO

(*The Mutation of Chromosome Induce Using Colchicine Toward Planlet Tembesu (Fragraea fragrans. Roxbs) In Vitroly*)

Tania Oktavia Herlinda¹, Ratna Uli Damayanti² dan/and Triastinurmiatiningsih¹

¹) Universitas Pakuan Jl. Pakuan, Tegallega, Kecamatan Bogor Tengah, Telp./Fax. (0251) 8312206 Kota Bogor 16129, Jawa Barat, Indonesia

²) Pusat Riset Konservasi Tumbuhan, Kebun Raya, Kehutanan, Kebun Raya Bogor, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN), Jl. Ir. H. Juanda No. 13 Bogor, Jawa Barat, Indonesia
e-mail: taniaoktavia49@gmail.com

Naskah masuk: 14 April 2022; Naskah direvisi: 7 Juli 2022; Naskah diterima: 23 Agustus 2022

ABSTRACT

One of the vegetative breeding techniques that can maintain the sustainability of tembesu plants is using the polyploidization technique to obtain a differentiated genotype, namely by mutation induction using colchicine. The purpose of giving colchicine was to obtain the best concentration and soaking time for the increase in leaf number, plantlet height, and chromosome number. The experimental design used was a completely randomized design (CRD) with different treatments of the colchicine chemical mutagen. The experiment was carried out in the first stages at the immersion time of L1 (24 hours), L2 (48 hours), and L3 (72 hours), and the concentration immersion in colchicine solution K1 (0.1%), K2 (0.2%) and K3 (0.3%). The control treatment was carried out without soaking with colchicine. The results showed that colchicine treatment significantly affected the increase in height and number of plantlet leaves, but not with leaf length and width. The concentration of 0.3% was effective for an increase in plantlet height, and 24-hour immersion was effective for an increase in plantlet height. A concentration of 0,3%; 0.1% and soaking for 24 hours was effective for increasing the number of leaves and planlet height. Colchicine had a significant effect on the increase in the number of chromosomes in tembesu plants with a concentration of 0.3% and soaking time for 72 hours.

Keywords: Colchicine ($C_{22}H_{25}NO_6$), mutation, plant breeding, tembesu

ABSTRAK

Salah satu teknik pembibitan secara vegetatif yang dapat mempertahankan kelestarian tanaman tembesu dapat dilakukan dengan menggunakan teknik poliploidisasi agar mendapatkan genotif yang diferensiasi yaitu dengan induksi mutasi menggunakan kolkisin. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan konsentrasi dan waktu lama perendaman terbaik terhadap penambahan jumlah daun, tinggi planlet dan jumlah kromosom dengan pemberian kolkisin. Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan perlakuan mutagen kimia kolkisin yang berbeda. Percobaan dilakukan dengan lama perendaman L1 (24 jam), L2 (48 jam) dan L3 (72 jam) serta perendaman konsentrasi dalam larutan kolkisin K1 (0,1%), K2 (0,2%) dan K3 (0,3%) sehingga ada 9 kombinasi perlakuan. Untuk kontrol dilakukan tanpa perendaman dengan kolkisin. Hasil penelitian menunjukkan pemberian perlakuan kolkisin berpengaruh nyata terhadap penambahan ukuran tinggi dan jumlah daun planlet, namun tidak berpengaruh terhadap panjang dan lebar daun. Konsentrasi 0,3%; 0,1% dan perendaman 24 jam sama-sama efektif untuk penambahan tinggi planlet dan jumlah daun. Kolkisin sangat berpengaruh nyata terhadap penambahan jumlah kromosom sebanyak 12 pada tanaman tembesu dengan konsentrasi 0,3% dan lama perendaman selama 72 jam.

Kata kunci : kolkisin ($C_{22}H_{25}NO_6$), mutasi, pemuliaan tanaman, tembesu

I. PENDAHULUAN

Tembesu (*Fragraea fragrans*. Roxbs) merupakan tanaman berkayu yang cukup terkenal di wilayah Sumatera (Sofyan, A.,

Lukman, A. H., Junaidah, & Nasrun. 2012).

Ada sekitar 2,01 juta hektar lahan hutan mengalami peningkatan deforestasi setiap tahunnya, hal ini justru berimbas kepada

*Kontribusi penulis: Tania Oktavia Herlinda sebagai kontributor utama

populasi pohon tembesu di hutan alam yang dilindungi semakin berkurang (Istomo, I., Subiakto, A., & Rahmadianto, S. 2014), dan kondisinya saat ini cukup memprihatinkan (Asmaliyah, A., Imanullah, A., & Darwiati, W. 2012). Banyaknya *illegal logging* dan pengelolaan tegakan yang kurang baik (Rosalia, 2008) hal itu justru akan memperburuk kondisi tanaman sehingga perlu adanya pelestarian kelestarian tembesu agar dapat terselamatkan. Dalam rangka mengembangkan jenis tembesu di lapangan, diperlukan penyediaan benih berkualitas, salah satunya dengan teknologi kultur jaringan. Kultur jaringan memiliki keunggulan dibandingkan perbanyakan dengan benih, yakni menghasilkan perbanyakan bibit unggul, cepat dan seragam (Kushairi *et al.*, 2010). Teknik ini digunakan dalam usaha pemuliaan tanaman untuk menghasilkan bibit tembesu yang unggul, dan dapat dilakukan dengan teknik poliploidisasi untuk mendapatkan genotif yang diferensiasi (Pereira *et al.*, 2014). Salah satu cara yang dapat dilakukan guna meningkatkan keragaman tanaman ialah dengan larutan kolkisin. Kolkisin ($C_22H_{25}O_6N$) merupakan alkaloid yang mempengaruhi penyusunan mikrotubula, sehingga salah satu efeknya adalah menyebabkan penggandaan jumlah kromosom tanaman (terbentuk tanaman poliploid) (Haryanti, S., Hastuti, R. B., Setiari, N., &

Banowo, A. (2009). Beberapa penelitian tentang perbanyakan tanaman tembesu secara vegetatif telah banyak dilakukan, yaitu tentang regenerasi tunas adventif dari eksplan daun tembesu pada tahap multiplikasi dengan menggunakan modifikasi media MS (jumlah nitrogen 60 mmol) ditambah BAP 0,1 ppm (Sianturi, 2016) dan Ardiansyah (2015) bahwa pada daun tembesu menggunakan konsentrasi nitrogen yang dinaikkan sampai 80 mmol ditambah *6-benzylaminopurine* (BAP) berpengaruh nyata terhadap multiplikasi tunas eksplan tembesu. Informasi mengenai induksi kolkisin terhadap planlet tembesu secara *in vitro* belum banyak diketahui sehingga perlu dilakukan penelitiannya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi kolkisin yang tepat dan lama waktu perendaman terhadap planlet tembesu secara *in vitro*.

II. BAHAN DAN METODE

A. Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan meliputi planlet tembesu (*Fragrea fragrans*. Roxbs), larutan makro, mikro, FeEDTA, vitamin, gula, agar, pH, ZPT (NAA dan BAP), kolkisin dengan konsentrasi (0,1%;0,2%;0,3%), aquadest, larutan 0,002 M 8-hydroxyquinolin, larutan asam asetat 45%, HCL 1N, DMSO (*Dimethyl Sulfide Oxide*), dan *aceto orcein*.

Alat yang digunakan adalah Gelas becker/gelas piala, kertas label, tutup botol, karet, plastik, corong, oven sterilisasi, autoklaf, *laminar air flow*/enkas, kompor gas, rak pertumbuhan, filter mikro, timbangan analitik, batang pengaduk, pinset, karet gelang, cawan petri, *timer*, alumunium foil, kamera, alat tulis, botol film, gelas arloji, gelas obyek, gelas penutup, pinset, pensil berkaret, waterbath, lampu spirtus, *syringe disposable* dan mikroskop. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli hingga Oktober 2021 di Laboratorium Kultur Jaringan Balai Penelitian dan Pengembangan Teknologi Perbenihan Tanaman Hutan, Kota Bogor.

B. Prosedur Penelitian

a. Pembuatan media inkubasi

Untuk tahap inkubasi menggunakan media tembesu yang dibuat sebanyak 12 L dimulai dari pemberian larutan stok makro, mikro, FeEDTA, Myoinositol, Vit. Melanin, Thyamin, gula dan agar diaduk menggunakan *magnetic stirrer* hingga larutan tersebut homogen. Pengaturan pH menggunakan pH meter sampai dengan pH yang ditentukan. Jika pH melebihi dari ketentuan maka ditetesi oleh HCl 1N, dan jika pH kurang dari ketentuan maka ditetesi oleh KOH 1N. Pengaturan pH tersebut dilakukan hingga didapat pH sekitar 5,8-6. Kemudian media dipanaskan di atas kompor sambil diaduk terus-menerus menggunakan spatula kayu hingga mendidih dan media siap dituang ke dalam botol kultur

sebanyak 25 mL dan ditutup menggunakan plastik yang diikat dengan karet agar tidak ada udara yang masuk. Botol yang sudah ditutup diberi label nama. Media tersebut disterilisasi di dalam autoklaf selama 30 menit dengan temperature 121°C bertekanan 1 atm.

Selanjutnya dibuat larutan stok kolkisin dengan konsentrasi 5% sebanyak 100 ml dengan menimbang 5 mg kolkisin kemudian diberi aquadest sampai 100 ml. Kemudian dilakukan pengenceran larutan kolkisin sesuai perlakuan 3 konsentrasi larutan kolkisin, yaitu 0,1% (2 ml) , 0,2% (4 ml) dan 0,3% (6 ml). Untuk meningkatkan penetrasi larutan kolkisin ke dalam jaringan tanaman, ditambahkan 2-3 tetes DMSO (*Dimethyl Sulfide Oxide*) ke dalam masing-masing larutan (Fauzan *et al.*, 2017), kemudian disterilkan menggunakan filter mikro dan ditambahkan dengan aquadest steril hingga volume 100 ml.

b. Perendaman kolkisin dan penanaman planlet

- Planlet tembesu (*Fragraea fragrans*. Roxbs) disterilisasi menggunakan alkohol 70% selama beberapa saat.
- Kemudian direndam ke dalam larutan kolkisin dengan konsentrasi 0,1%; 0,2% dan 0,3% selama selama 24 jam, 48 jam, dan 72 jam.
- Planlet yang sudah direndam ditanam pada media tembesu dan diinkubasi selama 8 minggu.

c. Parameter penelitian

Parameter pengamatan yang dilakukan yaitu menghitung jumlah planlet yang terkontaminasi dan mati, menghitung jumlah dan panjang daun, mengukur tinggi planlet dan menghitung jumlah kromosom tembesu sesudah direndam kolkisin menggunakan mikroskop dengan metode *squash*.

C. Analisis Data

Data pengamatan merupakan data kuantitatif berupa jumlah kromosom, tinggi planlet dan jumlah daun. Untuk mengetahui pengaruh perlakuan dilakukan *Analysis of variance* (ANOVA) *One Way*. Apabila

perlakuan berpengaruh nyata maka perlu dilanjutkan dengan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) dengan taraf 5% yang didukung dengan perangkat lunak SPSS 24.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

1. Kontaminasi

Kontaminasi jamur dan bakteri pada planlet tembesu (Gambar 1) terbesar adalah terdapat pada konsentrasi 0,1% dengan tingkat persentase sebesar 20,87% dan perendaman selama 24 jam dengan tingkat persentase 21,86% (Tabel 1).

Tabel (Table) 1. Nilai rata-rata presentase tingkat kontaminasi planlet tembesu perendaman 24 jam, 48 jam dan 72 jam pada konsentrasi kolkisin 0,1%; 0,2% dan 0,3% (*The average value of the percentage level of plantlet tembesu contamination by immersion 24 hours, 48 hours, and 72 hours at a colchicine concentration of 0.1%; 0.2%, and 0.3%*)

Konsentrasi (Concentration)	Persentase tingkat kontaminasi (Percentage of contaminate)	Lama perendaman (Time of immersion)	Persentase tingkat kontaminasi (Percentage of contaminate)
0,1%	20,87%	24 jam (24 hour)	21,86%
0,2%	19,96%	48 jam (48 hour)	21%
0,3%	19,76%	72 jam (72 hour)	17,73%



Gambar (Figure) 1. (a) Planlet terkontaminasi jamur (b) Planlet terkontaminasi bakteri
 (a) Plantlet contaminated with fungi (b) Plantlet contaminated with bacteria

2. Tingkat kematian

Tabel (Table) 2. Nilai rata-rata persentase tingkat kematian planlet tembesu perendaman 24 jam, 48 jam dan 72 jam pada konsentrasi kolkisin 0,1%; 0,2% dan 0,3% (*The average value of plantlet tembesu mortality at immersion 24 hours, 48 hours and 72 hours at 0.1% colchicine concentration; 0.2% and 0.3%*)

Konsentrasi (Concentrate)	Persentase tingkat kematian (Percentage of mortality)	Lama perendaman (Time of immersion)	Persentase tingkat kematian (Percentage of mortality)
0,1%	51%	24 jam (24 hour)	28,86%
0,2%	62%	48 jam(48 hour)	58,3%
0,3%	39,7%	72 jam(72 hour)	65,53%



Gambar (Figure) 2. Planlet yang mati (*Mortality of planlet*)

3. Tinggi planlet

Berikut ini adalah hasil analisis sidik ragam ANOVA (tabel 3) untuk tinggi

planlet berdasarkan konsentrasi perendaman dan lama perendaman kolkisin.

Tabel (Table) 3. Hasil analisis sidik ragam ANOVA terhadap tinggi planlet tembesu (*The result of the analysis of variance ANOVA on the height of planlet tembesu*)

		ANOVA				
		Jumlah kuadrat (Sum of square)	df	Rerata kuadrat (The average of square)	F	Sig.
Konsentrasi perendaman (Concentration of immersion)	Antar kelompok	1.489	3	.496	6.192	.018
	Dalam kelompok	.641	8	.080		
	Total	2.130	11			
Lama perendaman (Time of immersion)	Antar kelompok	1.096	3	.365	3.836	.057
	Dalam kelompok	.762	8	.095		
	Total	1.858	11			

Berdasarkan hasil analisis sidik ragam, konsentrasi perendaman dan lama perendaman kolkisin berpengaruh nyata terhadap penambahan tinggi planlet

tembesu. Nilai rata-rata tinggi planlet tembesu terbaik berdasarkan Uji Lanjut Duncan (DMRT) terlihat pada tabel dibawah ini.

Tabel (Table) 4. Hasil uji lanjut duncan (DMRT) tinggi planlet tembesu (*The result Duncan's Advanced Test (DMRT) on tembesu plantlet height*)

Konsentrasi (Concentrate)	Tinggi planlet (Height of planlet)	Lama perendaman (Time of immersion)	Tinggi planlet (Height of planlet)
Kontrol	1,20±0a	Kontrol (Control)	1,20±0a
0,1%	0,70±0,17ab	24 jam(24 hour)	0,78±0,24ab
0,2%	0,2±0,8b	48 jam(48 hour)	0,49±0,63b
0,3%	0,73±0,30ab	72 jam(72 hour)	0,44±0,18b

Berdasarkan uji lanjut, penambahan tinggi planlet tembesu terbaik adalah kontrol (1.20) tetapi tidak berbeda nyata dengan tinggi planlet pada perlakuan konsentrasi perendaman 0.1%, 0.3%, dan lama perendaman 24 jam.

4. Jumlah daun

Berdasarkan hasil analisis sidik ragam, konsentrasi perendaman dan lama perendaman kolkisin berpengaruh nyata terhadap daun planlet tembesu berpengaruh nyata dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel (Table) 5. Hasil analisis ragam terhadap jumlah daun planlet tembesu (*The results of the analysis of variance on the number of tembesu plantlet leaves*)

		ANOVA				
		Jumlah kuadrat (Sum of square)	df	Rerata kuadrat (The average of square)	F	Sig.
Konsentrasi perendaman (Concentrate of immersion)	Antar kelompok	1453.343	3	484.448	5.472	.024
	Dalam kelompok	708.242	8	88.530		
	Total	2161.585	11			
Lama perendaman (Time of immersion)	Antar kelompok	1627.575	3	542.525	17.948	.001
	Dalam kelompok	241.816	8	30.227		
	Total	1869.391	11			

Besarnya pengaruh nyata dari konsentrasi perendaman dan lamanya perendaman dapat dilihat pada uji beda nyata pada nilai rata-rata jumlah daun

planlet tembesu. Nilai rata-rata jumlah daun planlet tembesu terbaik berdasarkan Uji Lanjut Duncan (DMRT) terlihat pada tabel dibawah ini

Tabel (Table) 6. Hasil uji lanjut duncan terhadap jumlah daun planlet tembesu (*The result Duncan's Advanced Test (DMRT) on tembesu plantlet leaves*)

Konsentrasi (Concentrate)	Daun planlet (Leaves of planlet)	Lama perendaman (Time of immersion)	Daun planlet (Leaves of planlet)
Kontrol	0,42±0b	Kontrol(control)	0,42±0c
0,1%	28,74±13,97a	24 jam(24 hour)	30,02±6,89a
0,2%	12,78±11,48ab	48 jam(48 hour)	27,01±10,07a
0,3%	24,40±5,18a	72 jam(72 hour)	15,17±3,74b

Berdasarkan hasil uji lanjut duncan (DMRT), jumlah daun berdasarkan konsentrasi kolkisin terbaik adalah konsentrasi kolkisin 0,1% (28,74) dan 0,3% (24,40) tetapi tidak berbeda nyata dengan konsentrasi 0,2% (12,78). Sedangkan perlakuan lama perendaman kolkisin terbaik adalah 24 jam (30,02) dan 48 jam (27,01).

5. Panjang daun dan lebar daun

Berdasarkan data hasil analisis ragam

ANOVA pemberian perlakuan kolkisin dengan konsentrasi 0,1%; 0,2%; 0,3% dan perendaman selama 24 jam, 48 jam dan 72 jam tidak berpengaruh nyata terhadap panjang dan lebar daun planlet tembesu dengan nilai probability (P) lebih besar dari pada α (0.05). Sehingga pada uji lanjut duncan (DMRT) tidak ada perbedaan nyata antar perlakuan. Hasil analisis ragam dapat dilihat pada tabel dibawah.

Tabel (Table) 7. Hasil analisis ragam ANOVA panjang daun planlet tembesu perendaman 24 jam, 48 jam dan 72 jam pada konsentrasi kolkisin 0,1%; 0,2% dan 0,3% (*The results of the analysis of variance ANOVA length of plantlet tembesu immersion 24 hours, 48 hours and 72 hours at a concentration of 0.1% colchicine; 0.2% and 0.3%*)

		ANOVA				
		Jumlah kuadrat (Sum of square)	df	Rerata kuadrat (The average of square)	F	Sig.
Konsentrasi perendaman (Concentrate of immersion)	Antar kelompok	.154	3	.051	1.695	.245
	Dalam kelompok	.242	8	.030		
	Total	.396	11			
Lama perendaman (Time of immersion)	Antar kelompok	.056	3	.019	1.280	.345
	Dalam kelompok	.118	8	.015		
	Total	.174	11			

Tabel (Table) 8. Rata-rata panjang daun planlet tembesu (*The average leaf length of the tembesu plantlet*)

Konsentrasi (Concentrate)	Panjang daun (Leaf length)	Lama perendaman (Time of immersion)	Panjang daun (Leaf length)
Kontrol	0,87±0,19	Kontrol (control)	0,87±0,19
0,1%	1,05±0,08	24 jam(24 hour)	0,95±0,08
0,2%	1,14±0,25	48 jam(48 hour)	0,96±0,35
0,3%	0,94±0,11	72 jam(72 hour)	0,95±0,08

Tabel (Table) 9. Hasil analisis ragam ANOVA Lebar Daun Planlet Tembesu Perendaman 24 Jam, 48 Jam dan 72 Jam Pada Konsentrasi Kolkisin 0,1%; 0,2% dan 0,3% (*The results of the analysis of variance ANOVA on the width of the tembesu plantlet leaves immersion for 24 hours, 48 hours and 72 hours at a concentration of 0.1% colchicine; 0.2% and 0.3%*)

		ANOVA				
		Jumlah kuadrat (Sum of square)	df	Rerata kuadrat (The average of square)	F	Sig.
Konsentrasi perendaman (Concentrate of immersion)	Antar kelompok	.107	3	.036	1.780	.229
	Dalam kelompok	.160	8	.020		
	Total	.267	11			
Lama perendaman (Time of immersion)	Antar kelompok	.020	3	.007	1.430	.304
	Dalam kelompok	.038	8	.005		
	Total	.058	11			

Tabel (Table) 10. Rata-rata lebar daun planlet tembesu (*The average leaf width of the tembesu plantlet*)

Konsentrasi (Concentrate)	Lebar daun (Width of leave)	Lama perendaman (Time of immersion)	Lebar daun (Widht of leave)
Kontrol	0,28±0,01	Kontrol(control)	0,28±0,01
0,1%	0,37±0,09	24 jam(24 hour)	0,37±0,08
0,2%	0,53±0,07	48 jam(48 hour)	0,38±0,20
0,3%	0,35±0,05	72 jam(72 hour)	0,34±0,08

6. Jumlah kromosom

Berdasarkan data hasil analisis ragam ANOVA pemberian perlakuan kolkisin pada konsentrasi 0,1%; 0,2%; 0,3% dengan perendaman 24 jam, 48 jam dan 72 jam berpengaruh nyata terhadap penambahan

jumlah kromosom planlet tembesu dengan nilai probability (P) lebih kecil dari pada α (0.05) sehingga perlu adanya uji lanjut untuk mengetahui perbedaan pengaruh antar perlakuan. Hasil analisis ragam dapat dilihat pada tabel 11.

Tabel (Table) 11. Hasil analisis ragam ANOVA jumlah kromosom planlet tembesu (*The results of the analysis of variance ANOVA number of plantlet chromosomes tembesu*)

		ANOVA				
		Jumlah kuadrat (Sum of square)	df	Rerata kuadrat (The average of square)	F	Sig.
Konsentrasi perendaman (Concentrate of immersion)	Antar kelompok	38.801	3	12.934	775.582	.000
	Dalam kelompok	.133	8	.017		
	Total	38.934	11			
Lama perendaman (Time of immersion)	Antar kelompok	24.719	3	8.240	842.121	.000
	Dalam kelompok	.078	8	.010		
	Total	24.798	11			

Berdasarkan hasil analisis sidik ragam, konsentrasi perendaman dan lama perendaman kolkisin berpengaruh nyata terhadap jumlah kromosom. Nilai rata-rata jumlah kromosom

planlet tembesu terbaik berdasarkan Uji Lanjut Duncan (DMRT) terlihat pada tabel dibawah ini.

Tabel (Table) 12. Hasil uji lanjut duncan (DMRT) terhadap jumlah kromosom planlet tembesu (*The results of Duncan's Advanced Test (DMRT) on the chromosome number of tembesut plantlets*)

Konsentrasi (Concentrate)	Jumlah kromosom (Sum of chromosome)	Lama perendaman (Time of immersion)	Jumlah kromosom (Sum of chromosome)
Kontrol	.00±0a	Kontrol(<i>control</i>)	.00±a
0,1%	1,83±0,09ab	24 jam(<i>24 hour</i>)	3,10±0,07b
0,2%	3,11±0,24a	48 jam(<i>48 hour</i>)	3,18±1,14a
0,3%	4,92±0,01c	72 jam(<i>72 hour</i>)	3,57±0,15c

Berdasarkan uji lanjut, jumlah kromosom planlet tembesu terbaik adalah konsentrasi 0,3% (4,92) dan perendaman selama 72 jam (3,57). Setelah uji lanjut duncan (DMRT) menghasilkan bahwa setiap perlakuan berbeda nyata dengan kontrol kecuali pada perendaman konsentrasi 0,1% dan pada lama perendaman yaitu perendaman 24 jam dan 48 jam.

B. Pembahasan

Dalam kegiatan kultur jaringan kontaminasi seharusnya tidak terjadi. Kontaminasi terjadi akibat adanya eksplan yang terinfeksi bakteri, cendawan ataupun jamur secara internal maupun eksternal. Usaha yang dilakukan untuk meminimalisir kontaminasi secara eksternal dapat dilakukan dengan sterilisasi pada media, alat maupun eksplan (Indah, 2021). Namun, untuk kontaminasi secara internal cukup sulit dilakukan karena bakteri atau jamur tersebut

sudah mengkontaminasi bagian jaringan ataupun bagian dalam lainnya. Hal ini didukung dengan penjelasan Kartikaningrum *et al.*, (2003) bahwa untuk infeksi internal tidak dapat dihilangkan dengan sterilisasi permukaan.

Terjadinya kontaminasi disebabkan karena adanya pemicu seperti sterilisasi alat dan bahan yang belum maksimal ataupun *human error*. Meskipun pada masa awal tidak terjadi kontaminasi, namun beberapa hari berikutnya mulai terlihat adanya pertumbuhan mikroorganisme. Menurut Hidayat (2008), proses subkultur merupakan peristiwa yang dapat memberikan pengaruh terhadap kontaminasi eksplan.

Kontaminasi jamur terlihat jelas (gambar 1a), terdapat miselium yang berbentuk seperti kapas berwarna putih kegelapan yang menyelimuti media. Jamur dapat menginfeksi

jaringan secara sistematis sehingga lama kelamaan dapat menyebabkan kematian (Maulana, 2020). Jenis jamur yang dapat dijumpai biasanya berasal dari lingkungan laboratorium tersebut. Pernyataan tersebut sesuai dengan Setiyoko, (1995) bahwa jamur yang biasa mengkontaminasi media dan eksplan yaitu jamur yang ada pada laboratorium seperti *Aspergillus sp*, *Monilla sp*, dan *Penicillium sp*.

Sedangkan kontaminasi bakteri (Gambar 1b) terdapat bercak lendir berwarna putih kekuningan yang melekat pada media yang membentuk seperti gumpalan basah. Kontaminasi bakteri diduga berasal dari penanaman eksplan yang kurang diperhatikan seperti tersentuh secara langsung atau karena *human error*. Selain *human error*, kontaminasi juga dapat terjadi pada media yang kurang padat (Maulana, 2020; Maskur, 2015). Kepadatan media dapat terbentuk dari banyaknya zat pematat seperti agar dan nilai pH pada media tersebut. Media dengan tingkat pH yang rendah dapat memicu pertumbuhan bakteri jenis gram positif yang terdapat dalam lingkungan laboratorium, sehingga berakibat pada kontaminasi planlet dan media agar (Suyitno & Henuhili. 2011; Setiyoko, 1995).

Pemberian perlakuan konsentrasi kolkisin yang berbeda dengan waktu perendaman memberikan pengaruh persentase kematian yang berbeda-beda. Secara visual kematian

planlet ditandai dengan perubahan warna menjadi kecoklatan pada seluruh bagian. Hal ini terjadi karena pada saat sebelum direndam kolkisin planlet disterilisasi dengan direndam kedalam alkohol 70% beberapa saat. Penggunaan alkohol 70% yang tidak sesuai dapat mengakibatkan peluruhan klorofil sehingga menyebabkan daun berwarna kecoklatan pada eksplan (Sianturi, 2016). Kolkisin merupakan senyawa mutagenik yang dapat bersifat racun bagi tanaman dan mutasi juga sebagian besar bersifat resesif yang dapat menyebabkan kematian pada organisme, tanaman mutan yang mengalami peluruhan klorofil yang rentan mengalami kematian (Aili *et al.*, 2016). Induksi mutasi juga dapat menghasilkan beberapa tanaman mutan yang memiliki sifat klorofilnya berbeda-beda sehingga terhambatnya pertumbuhan kemudian mengalami kematian karena adanya perubahan sifat pada mutan yang mencapai 95%-98% dari sifat dominan ke resesif (Soedjono, 2003).

Persentase tingkat kematian planlet tembesu dibawah 50% terdapat pada hasil perendaman kolkisin 24 jam dan perendaman konsentrasi 0,3%. Dari data yang didapat persentase kematian terendah terdapat pada perendaman selama 24 jam, perendaman yang tepat akan menghasilkan mutasi atau jumlah kromosom tertinggi dan menyebabkan tingkat kematian yang rendah (Astuti *et al.*, 2015).

Namun ada beberapa penelitian yang menyatakan bahwa mutasi dan jumlah kromosom tertinggi sesuai dengan konsentrasi dan perendaman yang optimal. Menurut Nursalmin *et al.*, (2018) bahwa pengaruh lama perendaman kolkisin pada pertumbuhan planlet krisan varietas pasopati memperlihatkan perendaman yang terlalu lama dapat menyebabkan penghambatan pertumbuhan planlet bahkan sampai mengalami kematian. Menurut Suryo (2007) bahwa pemberian kolkisin dengan konsentrasi dan lama perendaman yang tinggi akan memberikan pengaruh negatif seperti penampilan menjadi tidak bagus, banyak sel-sel yang rusak atau bahkan menyebabkan kematian akibat senyawa mutagen yang dapat menghambat pembentukan benang-benang gelondong. Namun, dengan adanya jumlah kematian tanaman akibat kolkisin dapat dijadikan sebagai indikasi terjadinya mutasi poliploid (Fadilla & Respatijarti, 2018).

Tinggi pada planlet menjadi parameter yang cukup mudah untuk diamati. Adanya pertambahan tinggi pada tanaman merupakan indikasi bahwa tanaman tersebut tumbuh. Pengamatan dilakukan selama 8 minggu, hasil pengamatan adalah selisih antara pengamatan akhir dengan pengamatan awal penambahan tinggi planlet tembesu. Tinggi planlet dengan perlakuan kolkisin (perendaman dan konsentrasi) lebih rendah dibanding dengan kontrol hal tersebut akibat dari

terhambatnya proses fisiologi tanaman dan menyebabkan pengurangan tingkat pembelahan sel sehingga memperlambat proses pertumbuhannya dan menghasilkan pertumbuhan tinggi yang mirip seperti tanaman kontrol (Kamwean *et al.*, 2017).

Dilihat pada Tabel 4, nilai rata-rata pertambahan tinggi planlet semakin lama perendaman maka semakin kecil jumlah pertambahan tinggi. Sehingga semakin tinggi perlakuan yang diberikan maka akan memberikan pengaruh yang kurang baik terhadap morfologi tanaman karena penambahan kelipatan jumlah kromosom memiliki suatu limit yang tidak akan menambah ukuran bagian tanaman (Aili *et al.*, 2016). Tanaman poliploid memiliki tinggi yang lebih rendah dibandingkan dengan tanaman diploid, karena kolkisin berfungsi sebagai hormon pembentukan keragaman genetik tanaman terutama pada peningkatan perubahan ukuran sel yang berpengaruh pada translokasi tanaman. Sehingga berkas pengangkut seperti xylem dan floem akan membesar (Indah, 2021; Pharmawati & Wistiani, 2015; Rosmaiti & Dani, 2015).

Daun merupakan organ tanaman yang berperan penting dalam proses fotosintesis untuk menghasilkan energi bagi tumbuh dan berkembangnya suatu tanaman (Maulana, 2020). Tanaman yang memiliki ukuran daun besar dan luas akan mempercepat proses berlangsungnya fotosintesis (Murti, 2020).

Jumlah daun pada planlet menjadi parameter yang cukup mudah untuk diamati. Adanya penambahan jumlah daun pada tanaman merupakan indikasi bahwa tanaman tersebut tumbuh. Pemberian perlakuan konsentrasi dan perendaman pada kolkisin diduga karena kolkisin dapat menekan pertumbuhan daun (Sri *et al.*, 2014). Pendapat tersebut juga sejalan dengan penelitian (Santoso & Wardani, 2006) tentang kepala sari tembakau dengan perlakuan kolkisin, menyatakan planlet yang diberikan perlakuan kolkisin meningkatkan jumlah daun.

Dari hasil analisis ragam ANOVA perendaman konsentrasi dan lama perendaman tidak berpengaruh nyata terhadap ukuran daun planlet tembesu (panjang dan lebar daun). Hal ini mungkin saja dikarenakan perbedaan ukuran antara kontrol dan pemberian perlakuan tidak jauh berbeda. Jika dilihat pada tabel 8 dan tabel 10, ukuran daun yang diberi perlakuan kolkisin lebih besar dibandingkan dengan tanpa perlakuan kolkisin walaupun angka yang tertera memang tidak berbeda jauh dengan kontrol. Pada perendaman konsentrasi panjang daun terbesar terdapat pada konsentrasi 0,2% (1.14 ± 0.25) sedangkan pada lama perendaman panjang daun terbesar terdapat pada 48 jam ($0.96 \pm 0.35a$). Untuk lebar daun pada perendaman konsentrasi paling besar yaitu konsentrasi 0,2% (0.53 ± 0.07) dan pada lama perendaman lebar daun paling besar

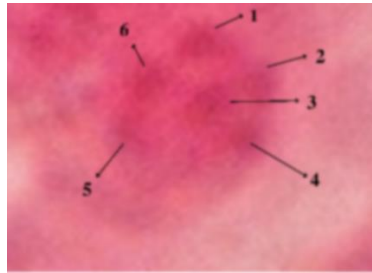
terdapat pada perendaman selama 48 jam ($0.38 \pm 0.20a$). Hal ini diduga karena konsentrasi dan lama perendaman yang terlalu tinggi tidak menghasilkan tanaman dengan sifat poliploidi dan menyebabkan pertumbuhan lebar dan panjang tidak bagus justru menyerupai kontrol. Hal ini sama seperti beberapa penelitian yang telah dilakukan, bahwa konsentrasi dan lama perendaman yang tidak sesuai (terlalu tinggi) menyebabkan ukuran daun tanaman terung tidak begitu berbeda dengan kontrol (Pradana & Hartatik, 2019).

Kolkisin merupakan zat bersifat racun yang dapat mengganggu proses pembelahan mitosis, sehingga akan memberikan perubahan jumlah atau ukuran yang lebih besar dari kontrol, namun juga dapat memberikan pengaruh lain seperti penyusutan ukuran (Herman, 2013). Pada penelitian ini tanaman yang diberikan zat nutagenik justru menunjukkan ukuran yang daun yang tidak berbeda jauh dengan kontrol, ini dikarenakan pemberian kolkisin memberikan perubahan yang bervariasi. Setiap tanaman memiliki respon yang berbeda-beda, karena tidak semua sel dapat menerima pengaruh dari kolkisin. Adanya pengaruh yang diterima oleh tanaman tersebut mungkin saja karena kolkisin akan efektif terhadap sel yang efektif membelah (Aili *et al.*, 2016). Rata-rata jumlah kromosom yang diberi perlakuan kolkisin lebih banyak

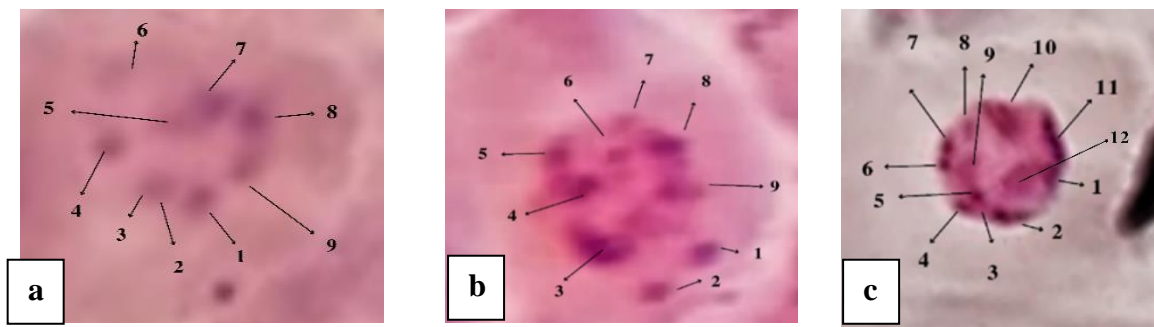
dibandingkan dengan tanpa pemberian perlakuan atau kontrol.

Mengacu pada penelitian Tuwo & Indrianto (2016) pengamatan jumlah kromosom dilakukan dengan menghitung bagian yang berwarna merah pekat dan yang lebih tebal dibanding dengan bagian sel

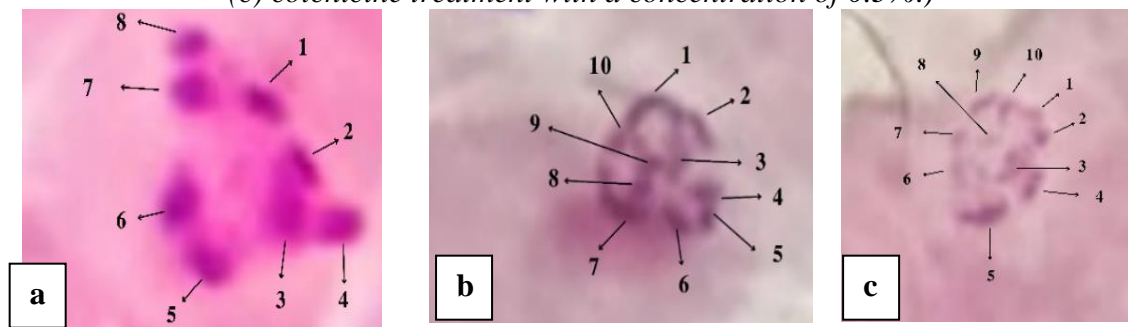
lainnya, hal ini akibat adanya penyerapan dari zat warna *aceto orcein* dengan baik sehingga mempermudah untuk dilakukannya pengamatan. Jumlah kromosom pada planlet tembesu dapat dilihat pada ilustrasi gambar berikut.



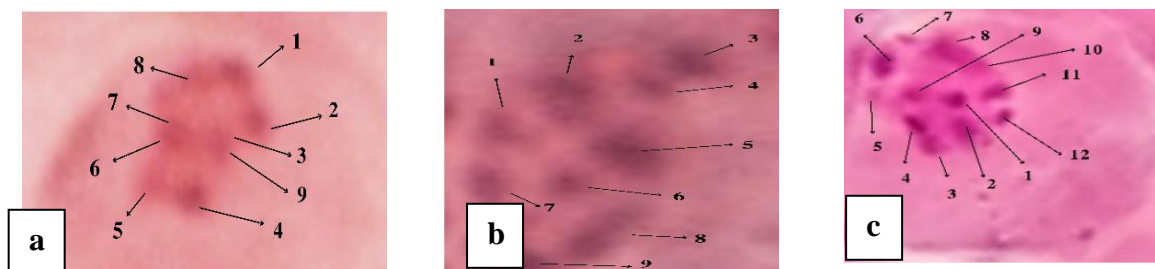
Gambar (Figure) 5. Kontrol (Control)



Gambar (Figure) 6. Perendaman 24 jam (a) perlakuan kolkisin dengan konsentrasi 0,1%; (b) perlakuan kolkisin dengan konsentrasi 0,2%; (c) perlakuan kolkisin dengan konsentrasi 0,3%. (24-hour immersion (a) colchicine treatment with a concentration of 0.1%; (b) colchicine treatment with a concentration of 0.2%; (c) colchicine treatment with a concentration of 0.3%.)



Gambar (Figure). 7 Perendaman 48 jam (a) perlakuan kolkisin dengan konsentrasi 0,1%; (b) perlakuan kolkisin dengan konsentrasi 0,2%; (c) perlakuan kolkisin dengan konsentrasi 0,3%. (48-hour immersion (a) colchicine treatment with a concentration of 0.1%; (b) colchicine treatment with a concentration of 0.2%; (c) colchicine treatment with a concentration of 0.3%.)



Gambar (Figure) 8. Perendaman 72 jam (a) perlakuan kolkisin dengan konsentrasi 0,1%; (b) perlakuan kolkisin dengan konsentrasi 0,2%; (c) perlakuan kolkisin dengan konsentrasi 0,3%. (72-hour immersion (a) colchicine treatment with a concentration of 0.1%; (b) colchicine treatment with a concentration of 0.2%; (c) colchicine treatment with a concentration of 0.3%.)

Pada pengamatan kromosom tembesu bentuk pada kromosom masih belum dapat diidentifikasi karena gambar yang didapat belum terlalu jelas. Sampel yang diambil berasal dari tunas pucuk yang dipotong pukul 06.30-08.30. Pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop binokuler dengan perbesaran 1000x. Perhitungan jumlah kromosom dihitung pada bagian sel yang masih utuh dan terlihat jelas. Pada perlakuan kontrol setelah dilakukan pengamatan terhadap 9 sel utuh terdapat jumlah kromosom masing-masing 6 hal ini sesuai dengan pendapat Hildebrand, *et.al* (1995). Sehingga pada tanaman tembesu setelah diberi perlakuan kolkisin yang memiliki jumlah kromosom lebih dari 6 dapat dikatakan sebagai tanaman yang telah mengalami poliplodisasi. Tidak semua sel memiliki jumlah kromosom yang sama, ini mungkin disebabkan karena pemencetan pada saat metode squash yang kurang merata sehingga mengakibatkan ada beberapa sel yang masih mengalami penumpukan. Selain itu senyawa kolkisin

dapat menginduksi mutasi secara acak sehingga memberikan efek yang berbeda-beda pada masing-masing sel (Hailu *et al.*, 2021). Ini mengacu pada penelitian Sari *et al.*, (2017) pada tanaman Sutra Bombay (*Portulaca grandiflora*) yang dianggap poliploid merupakan tanaman yang memiliki jumlah kromosom lebih dari 9.

Pemberian zat mutagenik kolkisin menyebabkan peningkatan jumlah kromosom tanaman tembesu (*Fragraea fragrans*. Roxbs) karena senyawa yang terdapat pada kolkisin dapat menghambat terbentuknya benang *spindel* pada pembelahan mitosis, sehingga kromosom tetap berserakan di dalam sel (Pharmawati & Wistiani, 2015).

IV. KESIMPULAN

Secara morfologi pemberian perlakuan kolkisin memberikan pengaruh nyata terhadap penambahan ukuran pada tinggi planlet dan jumlah daun. Dimana pemberian perlakuan perendaman konsentrasi kolkisin dengan konsentrasi 0,3% dan pada perlakuan

perendaman selama 24 jam dapat menambah pertumbuhan tinggi planlet tembesu dibanding kontrol. Untuk jumlah daun pemberian perlakuan perendaman konsentrasi 0,1% dan pemberian perlakuan lama perendaman selama 24 jam dapat menambah pertumbuhan jumlah daun dibanding dengan kontrol. Pada ukuran daun (panjang dan lebar) pemberian perlakuan perendaman konsentrasi dan lama perendaman kolkisin tidak berpengaruh nyata namun jika dilihat pada rata-rata, ukuran panjang dan lebar daun dengan perlakuan lebih panjang dibanding kontrol. Panjang daun tertinggi terdapat pada konsentrasi 0,2% untuk perendaman konsentrasi dan 48 jam untuk lama perendaman kolkisin. Sedangkan pada lebar daun konsentrasi terbaik pada 0,2% dan 24 jam untuk lama perendaman.

Secara sitologi pemberian perlakuan zat mutagenik kolkisin sangat berpengaruh nyata terhadap penambahan jumlah kromosom pada tanaman tembesu (*Fragraea fragrans*. Roxbs). Jumlah kromosom terbanyak terdapat pada konsentrasi 0,3% untuk perendaman konsentrasi dan 72 jam untuk lama perendaman.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada dosen pembimbing Universitas Pakuan dan pegawai Balai Penelitian dan Pengembangan Teknologi Perbenihan Tanaman Hutan (BP2TPH) yang telah banyak membantu

dalam pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Afriani, R. (2018). Pengaruh Mutagen Kolkisin Terhadap Karakter Fenotipe Tanaman Cabai Merah Keriting (*Capsicum Annuum* L.). In *Doctoral Dissertation*. Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim Riau.
- Aili, E. N., Respatijarti, & Sugiharto, A. N. (2016). Pengaruh pemberian kolkisin terhadap penampilan fenotip galur inbrida jagung pakan (*Zea mays* L.) pada fase pertumbuhan vegetatif the effect of colchicine treatments on phenotype of yellow corn (*Zea mays* L.) *Inbreed Lines In The Vegetative Growth Phase*. 4(5), 370–377.
- Ardiansyah, R. (2015). *Mikropropagasi Tembesu (Fagraea fragrans ROXBS)*.
- As'adah, M., Rahayu, T., & Hayati, A. (2016). Metode pemberian kolkisin terhadap respon morfologis tanaman zaitun (*Olea Europeae* L.). *Biosaintropis (Bioscience-Tropic)*, 2(1), 46–52. <http://biosaintropis.unisma.ac.id/index.php/biosaintropis/article/view/68/33>
- Asmaliyah, A., Imanullah, A., & Darwiati, W. (2012). Identifikasi dan potensi kerusakan rayap pada tanaman tembesu (*Fagraea Fragrans*) di kebun percobaan Way Hanakau, Lampung Utara. *Jurnal Penelitian Hutan Tanaman*, 9(4), 187–194. <https://doi.org/10.20886/jpht.2012.9.4.187-194>
- Astuti, S. I., Arso, S. P., & Wigati, P. A. (2015). Induksi keragaman genetik dengan kolkisin dan proliferasi dengan kitosan pada *Dendrobium mannii* (Ridl) dan *Dendrobium mirbelianum* (gaudich). *Analisis Standar Pelayanan Minimal Pada Instalasi Rawat Jalan Di RSUD Kota Semarang*, 3, 103–111.
- Aziz, I. R. (2019). Kromosom tumbuhan sebagai marka genetik. *Teknosains: Media Informasi Sains Dan Teknologi*, 13(2). <https://doi.org/10.24252/teknosains.v13i2.9638>
- Bhatia, S. (2015). Plant tissue culture. *Modern Applications of Plant Biotechnology in Pharmaceutical Sciences*, 31–107. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-802221->

4.00002-9

- Carsono, N. (2008). Peran Pemuliaan Tanaman Dalam Meningkatkan Produksi Pertanian Di Indonesia. *Seminar On Agricultural Sciences*, 1–8.
- Ermayanti, T. M., Wijayanta, A. N., & Ratnadewi, D. (2018). Induksi poliploid pada tanaman talas (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) kultivar kaliurang dengan perlakuan kolkisin secara in vitro (in vitro polyploid induction on taro (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) cultivar kaliurang with colchicine treatm. *Biologi Indonesia*, 14(1), 91–102.
- Fadilla, Z. N., & Respatijarti, D. (2018). Induksi poliploid pada bawang putih (*Allium sativum* L.) dengan pemberian kolkisin polyploid. *Jurnal Produksi Tanaman*, 6(5), 783–790.
- Fauzan, Y. S. A., Supriyanto, S., & Tajuddin, T. (2017). Growth and morphological changes as an early indication of in vitro ploidy of teak (*Tectona grandis* L.F). *Jurnal Penelitian Hutan Tanaman*, 14(2), 128–139. <https://doi.org/10.20886/jpht.2017.14.2.128-139>
- Gultom, T. (2016). Pengaruh pemberian kolkisin terhadap jumlah kromosom bawang putih (*Allium sativum*) lokal kultivar doulu. *Jurnal Biosains*, 2(3), 165–172.
- Hailu, M. G., Mawcha, K. T., Nshimiyimana, S., & Suharsono, S. (2021). Garlic micro-propagation and polyploidy induction in vitro by colchicine. *Plant Breeding And Biotechnology*, 9(1), 1–19. <https://doi.org/10.9787/pbb.2021.9.1.1>
- Harahap, F., & Nusyirwan. (2014). Induksi tunas nanas (*Ananas Comosus* L. MERR) in vitro dengan pemberian dosis auksin dan sitokin yang berbeda. *Jurnal Saintika*, 15(2), 124–131. <http://digilib.unimed.ac.id/id/eprint/1392>
- Haryanti, S., Hastuti, R. B., Setiari, N., & Banowo, A. (2009). pengaruh kolkisin terhadap pertumbuhan, ukuran sel metafase dan kandungan protein tanaman kacang hijau (*Vigna radiata* (L) Wilczek). *Jurnal Penelitian Sains & Teknologi*, 10(2), 112–120.
- Herman. (2013). Pengaruh mutagen kolkisin pada biji kacang hijau (*Vigna radiata* L.) terhadap jumlah kromosom dan pertumbuhan. *Prosiding Seminar Nasional Biodiversitas Dan Ekologi Tropika Indonesia (Bioeti) Di Universitas Andalas, Padang, 14 September 2013. September*.
- Hidayat, Y. (N.D.). Keefektifan bahan sterilisasi dalam pengendalian kontaminasi pada pertumbuhan kultur zygotik surian (*Toona Sinensis Roem*). Fakultas Kehutanan Unwim-Jatinangor-Jawa Barat. 1877(2008), 35–44.
- Hildebrand, J.W., Boer, E., Martawijaya, A., Fundter, J.M & Sosef, M. S. M. (1995). *Fragrea Thunb.*. (W. C. Lemmens, R.H.M.J., Soerianegara, I. And Wong (Ed.)). PROSEA Foundation. prota4u.org/prosea
- Indah, E. (2021). Respon pemberian kolkisin terhadap pertumbuhan tanaman alfalfa (*Medicago sativa* l.) Pada kultur jaringan. *Institut Pertanian Bogor (IPB). Bogor. Jawa Barat*
- Istomo, I., Subiakto, A., & Rahmadiano, S. (2014). pengaruh asal bahan dan media stek terhadap keberhasilan stek pucuk tembesu *Fagraea Fragrans* (Roxbs.). *Berita Biologi*, 13(3), 275–281.
- Kamwean, P., Chaisan, T., Thobunluepop, P., Phumichai, C., & Bredemeier, M. (2017). Changing of morphological characteristic and biomass properties in pennisetum purpureum by colchicine treatment. *Journal Of Agronomy*, 16(1), 23–31. <https://doi.org/10.3923/ja.2017.23.31>
- Kartikaningrum, W. D. S., Penelitian, B., Hias, T., & Ciherang, J. R. (2003). Pemanfaatan ekstrak ragi dalam kultur in vitro plantlet media anggrek, 13(2), 82–86. <https://doi.org/10.21082/jhort.v13n2.2003.p82-86>
- Kushairi, A, Tarmizi, A H., Zamzuri, I., R, S. K., Ooi, S. E., Palm, M., Board, O., Institusi, N. P., & Bangi, B. B. (2010). Production, performance and advances in oil palm tissue culture 1. *International seminar on advances in oil palm tissue Culture*, 6, 1–23. Http://www.isopb.org/docs/p1_kushairi mpob.pdf
- Maskur. (2015). Pengaruh konsentrasi medium dan varietas terhadap pertumbuhan murbei melalui teknik kultur jaringan. *Metrologia*, 53(5), 1–

116.
http://publicacoes.cardiol.br/portal/ijcs/portugues/2018/v3103/pdf/3103009.pdf%0ahttp://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=s0121-75772018000200067&lng=en&tlng=en&sid=5bqij3a2mlawuv4oize%0ahttp://scielo.iec.pa.gov.br/scielo.php?script=sci_
- Maulana, I. (2020). *Multiplikasi tunas stroberi (Fragaria ananassa) kultivar earlibrite dengan penambahan iba, bap, dan kinetin*. 21(1), 1–9. Universitas Pakuan. Bogor. Jawa Barat
- Murti, S. Dan Heryanto. (2020) Pengaruh penambahan kompos limbah lumpur kertas dan sekam padi pada media tanam terhadap pertumbuhan dan hasil tanaman bayam merah (*Amaranthus gangeticus* L) Varietas Mira. *Jurnal Ilmiah Wahana Pendidikan*, 6(3), 295–307. <https://doi.org/10.5281/zenodo.3737983>
- Nasir, M. (2002). *Bioteknologi: Potensi dan Bidang, Keberhasilannya dalam Perkasa, Pertanian*. Raja Grafindo.
- Nuraida, D. (2001). Pemuliaan tanaman cepat dan tepat melalui pendekatan marka molekuler. *El-Hayah*, 2(2), 97–103. <https://doi.org/10.18860/elha.v2i2.2210>
- Nursalmin, A., Komariah, A., & Hidayat, O. (2018). Pengaruh lama perendaman kolkisin terhadap pertumbuhan planlet (*Chrysanthemum morifolium* R) krisan varietas pasopati cara in vitro. *Paspalum: Jurnal Ilmiah Pertanian*, 6(2), 124. <https://doi.org/10.35138/paspalum.v6i2.95>
- Nursyamsi, N., Suhartati, S., & T, A. Q. (2007). Pengaruh zat pengatur tumbuh pada perbanyakan jati muna secara kultur jaringan. *Jurnal Penelitian Hutan dan Konservasi Alam*, 4(4), 385–390. <https://doi.org/10.20886/jphka.2007.4.4.385-390>
- Nurwanti, L. (2010). *Induksi mutasi kromosom dengan kolkisin pada anthurium wave of love (Anthurium plowmanii Croat.) secara in vitro*. 1–97.
- Pereira, R. C., Ferreira, M. T. M., Davide, L. C., Pasqual, M., Mittelman, A., & Techio, V. H. (2014). chromosome duplication in *Lolium multiflorum* lam. *Crop Breeding And Applied Biotechnology*, 14(4), 251–255. <https://doi.org/10.1590/1984-70332014v14n4n39>
- Pharmawati, M., & Wistiani, N. L. A. J. (2015). Induksi mutasi kromosom dengan kolkisin pada bawang putih (*Allium Sativum* L.) Kultivar ‘Kesuna Bali’ (Induced chromosome mutation using colchicine in garlic (*Allium Sativum* Linn.) cultivar ‘Kesuna Bali’). *Jurnal Bios Logos*, 5(1). <https://doi.org/10.35799/jbl.5.1.2015.9317>
- Pradana, D., & Hartatik, S. (2019). *Pengaruh kolkisin terhadap karakter morfologi tanaman terung (Solanum melongena L.) Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Univers. 2(November), 155–158.*
- Purmadewi, G. C. (2017). Pengaruh waktu pengakaran dan media aklimatisasi terhadap keberhasilan aklimatisasi tembesu (*Fagraea Fragrans* (Roxbs.) Miq.). *Institut Pertanian Bogor (IPB). Bogor. Jawa Barat.*
- Riza Aristya, G., & Setiadi Daryono, B. (2014). Karakter fenotipik tanaman stroberi festival (*Fragaria x Ananassa d.*) hasil induksi kolkisin pada konsentrasi 0,05% dan 0,01%. *Biogenesis: Jurnal Ilmiah Biologi*, 2(2), 70–78. <https://doi.org/10.24252/bio.v2i2.470>
- Rosalia, N. (2008). *Penyebaran dan karakteristik tempat tumbuh pohon tembesu (Fragraea Fragrans Roxbs.) Sekolah Pascasarjana Imtitut Pertanian Bogor (IPB). Bogor. Jawa Barat.*
- Rosmaiti, & Dani, J. (2015). Pengaruh konsentrasi dan lama perendaman kolkisin pada benih semangka (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. Et Nankai) terhadap keragaan tanaman, *Jurnal Penelitian AGROSAMUDRA*, 2(2), 61–70.
- Rottman, R. W., Shireman, J. V., & Chapman, R. (1991). Manipulasi poliploidi untuk memperoleh jenis baru yang unggul. *Oseana*, XXXII(4), 1–11. www.oseanografi.lipi.go.id
- Rottmann, R. W., Shireman, J. V., & Chapman, F. A. (1991). Introduction to hormone-induced spawning of fish. *Institute of Food and Agriculture Sciences, University of Florida*, 421, 1–4.
- Santosa, B. (2016). Status pemuliaan tanaman kelapa dalam penyediaan benih unggul di Indonesia, 13 (2), 99–110. <https://doi.org/10.21082/p.v13n2.2014>

- Santoso, B., & Wardani, B. W. (2006). Variasi pertumbuhan jati muna hasil okulasi. *Jurnal Penelitian Hutan Tanaman*, 3(3), 165–173. <https://doi.org/10.20886/jpht.2006.3.3.165-173>
- Sari, B. P., Karno, K., & Anwar, S. (2017). Karakteristik morfologi dan sitologi tanaman sutra bombay (*Portulaca grandiflora* Hook) hasil poliploidisasi dengan kolkisin pada berbagai konsentrasi dan frekuensi aplikasi. *Journal Of Agro Complex*, 1(2), 39. <https://doi.org/10.14710/joac.1.2.39-48>
- Setiyoko, A. (1995). *Pedoman Pelaksanaan Teknik Kultur Jaringan Tanaman*. Penebar Swadaya.
- Sianturi, R. U. D. (2016). *Induksi tunas adventif dari daun tembesu (Fagraea Fragrans Roxbs)*. Institut Pertanian Bogor (IPB). Bogor. Jawa Barat.
- Soedjono, S. (2003). Aplikasi mutasi induksi dan variasi somaklonal dalam pemuliaan tanaman. *Jurnal Litbang Pertanian*, 22(2), 70–78.
- Soeranto, H. (2003). Peran IPTEK nuklir dalam pemuliaan tanaman untuk mendukung industri pertanian. *Teknologi Isotop Dan Radiasi, Badan Tenaga Nuklir*, 308–316. <http://blog.ub.ac.id/fahriansyahnurafandi/files/2013/03/peran-iptek-nuklir-dalam-pemuliaan-tanaman.pdf>
- Sofyan, A., Lukman, A. H., Junaidah, & Nasrun. (2012). Peningkatan riap pertumbuhan tanaman tembesu melalui beberapa perlakuan silvikultur. *Integrasi Iptek Dalam Kebijakan Dan Pengelolaan Hutan Tanaman di Sumatera Bagian Selatan, Prosiding Seminar Hasil Penelitian Balai Penelitian Kehutanan Palembang*, 53–59.
- Sri, Y., Istiyono, R., Andrys, K. P., & Riada, U. (2014). Pengaruh penggunaan kolkisin terhadap pertumbuhan vegetatif tanaman sedap malam (*Polianthes tuberosa* L.) di dataran medium. *Agromix*, 5(1). <https://doi.org/10.35891/agx.v5i1.719>
- Suryo, I. H. (2007). *Sitogenetika* (Cetakan Ke). Universitas Gajah Mada Press. <https://doi.org/979-365-3>
- Sutapa, G. N., & Kasmawan, I. G. A. (2016). Efek induksi mutasi radiasi gamma 60co pada pertumbuhan fisiologis tanaman tomat (*Lycopersicon esculentum* L.). *Jurnal Keselamatan Radiasi Dan Lingkungan*, 1(2), 5–11.
- Suyitno, & Henuhili, V. (2011). Induksi kalus dan organogenesis tanaman ngukilo (*Gynura procumbens* (Lour.)Merr.) dengan 2,4 D dan kombinasi NAA-Air kelapa secara invitro. *Biology And Local Wisdom*, 56–67.
- Tuwo, M., & Indrianto, A. (2016). Improvement of orchid vanda hybrid (*Vanda limbata* Blume X *Vanda tricolor* Lindl. Var. Suavis) by colchicines treatment in vitro. *Modern Applied Science*, 10(11), 83. <https://doi.org/10.5539/mas.v10n11p83>
- Unlu, M., Daferera, D., Donmez, E., Polissiou, M., Tepe, B., & Sökmen, A. (2002). Compositions and the in vitro antimicrobial activities of the essential oils of *Achillea setacea* and *Achillea teretifolia* (compositae). *Journal of Ethnopharmacology*, 83(1–2), 117–121. [https://doi.org/10.1016/s0378-8741\(02\)00218-0](https://doi.org/10.1016/s0378-8741(02)00218-0)
- Wulansari, A., Marthin, A. F., & Ermayanti, T. M. (2016). Induksi tanaman poliploid talas (*Colocasia esculenta* L.) dengan perlakuan orizalin secara in vitro. *Jurnal Biologi Indonesia*, 12(2), 297–305.
- Yunita, R. (2009). Pemanfaatan variasi somaklonal dan seleksi in vitro dalam perakitan tanaman toleran cekaman abiotik. *Jurnal Litbang Pertanian*, 28(4), 142–148.