

Induksi Poliploid menggunakan Kolkisin pada Tanaman Bawang Putih (*Allium sativum* L.) Varietas Lumbu Kuning dan Lumbu Hijau

*Induction of Polyploidy Using Colchicine on Garlic (*Allium sativum* L.) var. Lumbu Kuning and Lumbu Hijau*

Adin Novitasari^{1*}, Damanhuri², Lita Soetopo², Afifuddin Latif Adiredjo²

¹Postgraduate, Faculty of Agriculture, Brawijaya University, Malang, Indonesia

²Department of Agricultural Cultivation, Faculty of Agriculture, Brawijaya University, Malang, Indonesia

*Corresponding author email: damanhuri.fp@ub.ac.id

Article history: submitted: June 14, 2023; accepted: November 7, 2023; available online: November 30, 2023

Abstract. Garlic is a plant that is cultivated through its tubers because it is unable to produce flowers. This resulted in low garlic plant diversity. Plant breeding techniques are carried out to obtain the desired characters and improve existing characters. One of the breeding techniques is mutation breeding using the mutagen colchicine. The aim of this study was to determine the effect of colchicine concentration on growth, physiological characters, number of chromosomes, and obtain a lethal concentration of 50% (LC₅₀) from Lumbu Kuning and Lumbu Hijau. The research was conducted from May to September 2021 in Ngroto Village, Pujon District, Malang Regency. The research method used was the treatment method on single plants arranged in rows with the treatment of two varieties of Lumbu Kuning and Lumbu Hijau which were given colchicine solution (0, 750, 1000, 1250 and 1500 ppm). The results of the t-test analysis showed that colchicine concentrations of 0-1500 ppm had a significant effect on plant length, stem diameter, number of leaves, leaf length and leaf width. Triploid plants (2n=3x=24) have lower number and density of stomata than diploid plants, but stomata are larger in size. The Yellow Lumbu variety was 698.055 ppm and the Green Lumbu variety was 1383.041 ppm.

Keywords: abnormal; LC₅₀; triploid

Abstrak. Bawang putih merupakan tanaman yang dibudidayakan melalui umbinya karena tidak mampu menghasilkan bunga. Hal tersebut mengakibatkan keragaman tanaman bawang putih rendah. Teknik-teknik pemuliaan tanaman dilakukan untuk memperoleh karakter yang diinginkan dan memperbaiki karakter yang telah ada. Salah satu teknik pemuliaan adalah pemuliaan mutasi menggunakan mutagen kolkisin. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh konsentrasi kolkisin terhadap pertumbuhan, karakter fisiologi, jumlah kromosom, dan memperoleh nilai *lethal concentration* 50% (LC₅₀) dari varietas Lumbu Kuning dan Lumbu Hijau. Penelitian dilaksanakan bulan Mei-September 2021 di Desa Ngroto Kecamatan Pujon Kabupaten Malang. Metode penelitian yang digunakan adalah metode perlakuan pada tanaman tunggal yang disusun dalam barisan dengan perlakuan dua varietas Lumbu Kuning dan Lumbu hijau yang diberi larutan kolkisin (0, 750, 1000, 1250 dan 1500 ppm). Hasil analisis uji t memperlihatkan bahwa kolkisin konsentrasi 0-1500 ppm memberikan pengaruh nyata pada panjang tanaman, diameter batang, jumlah daun, panjang daun dan lebar daun. Tanaman triploid (2n=3x=24) memiliki jumlah dan kerapatan stomata lebih rendah dibandingkan tanaman diploid, namun ukuran stomata lebih besar. Varietas Lumbu Kuning adalah 698,055 ppm dan varietas Lumbu Hijau adalah 1383,041 ppm.

Kata kunci: abnormal; LC₅₀; triploid

PENDAHULUAN

Tanaman bawang putih (*Allium sativum* L.) merupakan tanaman hortikultura yang umbinya dimanfaatkan untuk kebutuhan sehari-hari yaitu sebagai bumbu. Kegunaan bawang putih antara lain sebagai bumbu masak, mengobati penyakit kronis seperti infeksi pernafasan dan meningkatkan vitalitas tubuh. Bawang putih tidak dapat lepas dari kebutuhan sehari-hari manusia. Bawang putih mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu *allicin*. *Allicin* dapat mempengaruhi aroma, rasa dan sifat

farmakologi. Sifat farmakologi antara lain adalah antibakteri, antijamur, antioksidan, antikanker (Moulia *et al.*, 2018).

Berdasarkan data Badan Pusat Statistik (BPS), produksi bawang putih di Indonesia pada tahun 2020 yaitu 81,80 ribu ton. Jumlah tersebut turun 7,89% dibandingkan pada tahun 2019 yang mencapai 88,82 ribu ton. Luas lahan panen bawang putih seluruh Indonesia sebesar 4271 ha pada tahun 2022.

Menurut (Wijaya *et al.*, 2014) selisih produksi dan kebutuhan tanaman bawang putih di Indonesia masih cukup tinggi

sehingga kebutuhan dalam negeri belum dapat terpenuhi. Oleh sebab itu Indonesia melakukan impor bawang putih terbesar dari Cina. Penyebab Indonesia impor bawang putih adalah lahan yang terbatas, biaya produksi tinggi, pasar yang tidak menentu, kualitas yang tidak sesuai minat masyarakat dan syarat tumbuh bawang putih yang spesifik.

Kendala yang dialami pada produksi bawang putih antara lain agroklimat harus sesuai yaitu di dataran tinggi-medium yang akan mempengaruhi kualitas umbi seperti ukuran umbi. Saat ini, ukuran umbi varietas bawang putih di Indonesia masih tergolong rendah akan tetapi memiliki aroma yang kuat hingga sangat kuat. Bawang putih impor memiliki ukuran umbi yang besar akan tetapi aromanya tidak sekuat bawang putih Indonesia. Oleh sebab itu diperlukan upaya pemuliaan tanaman bawang putih dengan tujuan umbi yang besar dan aroma yang kuat. Keragaman genetik bawang putih yang rendah mengakibatkan perbaikan varietas sulit untuk dilakukan. Oleh sebab itu perlu peningkatan keragaman genetik.

Pemuliaan mutasi merupakan salah satu metode yang dapat digunakan untuk meningkatkan keragaman genetik. Hal ini juga dikemukakan oleh (Syukur *et al.*, 2015) pada tanaman bawang merah karena karakter bawang merah yang tidak dapat menghasilkan bunga, sehingga proses hibridisasi sulit dilakukan yang mengakibatkan keragaman menjadi rendah. Meningkatkan keragaman genetik dengan mutasi dapat secara alami dan induksi.

Kolkisin adalah mutagen kimia yang banyak digunakan dalam induksi hewan dan tanaman poliploid (Urwin *et al.*, 2007). Kolkisin dapat menyebabkan perubahan bentuk, warna, ukuran dan jumlah kromosom. Tanaman yang diberi perlakuan kolkisin dapat mengalami poliploidisasi yang mengakibatkan jumlah kromosom berlipat ganda sehingga secara morfologi ukurannya lebih besar. Menurut (Frieska & Daryono, 2017) tanaman yang diinduksi kolkisin pada konsentrasi optimal dapat menghasilkan

tanaman poliploid namun konsentrasi yang terlalu tinggi atau lama perendaman yang terlalu lama akan mengakibatkan tanaman mati.

Pengaplikasian kolkisin lebih efektif dengan metode perendaman atau menetasakan larutan kolkisin pada sel yang membelah. Hal ini dikarenakan sel-sel yang membelah akan lebih mudah menyerap larutan yang diberikan. Penelitian Heo *et al.* (2016), menunjukkan hasil tanaman poliploid meningkat 60% dengan tingkat kematian 33,3% pada konsentrasi kolkisin 0,2% dengan lama perendaman 9 jam selanjutnya tingkat kematian 0% diperoleh pada konsentrasi kolkisin 0,05% dan lama perendaman 1 jam namun menghasilkan tanaman poliploid hanya 3,3%.

Hasil penelitian (Pharmawati and Wistiani, 2015), induksi poliploidi menggunakan kolkisin cair dengan konsentrasi 10% dan lama perendaman 12 jam dapat menghasilkan tanaman bawang putih kultivar Kesuna Bali yang poliploid. Peningkatan tinggi tanaman, volume umbi, bobot siung dan diameter batang diperoleh pada konsentrasi kolkisin 0,1%. Konsentrasi 0,1% dapat meningkatkan karakter tersebut meskipun tidak berpengaruh nyata pada jumlah siung yang dihasilkan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh konsentrasi kolkisin terhadap pertumbuhan, karakter fisiologi, jumlah kromosom, dan memperoleh nilai lethal concentration 50% (LC₅₀).

METODE

Penelitian dilaksanakan pada bulan Mei-September 2021. Larutan kolkisin dibuat di Laboratorium Kultur Jaringan Departemen Budidaya Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya. Penanaman di Desa Ngroto, Kecamatan Pujon, Kabupaten Malang.

Penelitian ini menggunakan bahan umbi bawang putih varietas Lumbu Hijau dan Lumbu Kuning siap tanam. Benih umbi bawang putih diperoleh dari Balai Penerapan Standar Instrumen Pertanian Jawa Timur.

Bahan lainnya yaitu bubuk kolkisin, DMSO untuk melarutkan kolkisin dan aquades untuk mengencerkan kolkisin.

Metode penelitian yang digunakan adalah Rancangan Petak Tunggal dan pengambilan data menggunakan *single plant* yaitu pengamatan dilakukan pada seluruh individu di lapang. Umbi bawang putih varietas Lumbu Kuning (LK) dan Lumbu Hijau (LH) direndam pada larutan kolkisin selama 12 jam, yang terdiri atas 5 taraf konsentrasi kolkisin yaitu kontrol, 750 ppm (K1), 1000 ppm (K2), 1250 ppm (K3) dan 1500 ppm (K4). Benih yang telah direndam kemudian dikeringanginkan selama 24 jam. Benih umbi bawang putih ditanam di lahan yang telah diolah dan diberikan pupuk kandang dan SP-36 pada 21 hari sebelum tanam. Jarak tanam yang digunakan adalah 10 x 15 cm untuk benih dengan berat sekitar 1,5 gram. Jumlah tanaman yang ditanam adalah 40 tanaman untuk setiap perlakuan sehingga jumlah tanaman varietas Lumbu Kuning adalah 200 tanaman dan jumlah tanaman varietas Lumbu Hijau adalah 200 tanaman. Pengamatan dilakukan pada semua tanaman yaitu 400 tanaman.

Beberapa karakter pertumbuhan yang diamati pada varietas Lumbu Kuning dan Lumbu Hijau, yaitu: 1) Panjang tanaman (cm). Diamati dengan menyatukan daun lalu diukur mulai dari permukaan tanah sampai ujung daun tertinggi 2) Diameter batang (cm). 3) Jumlah daun (helai). Jumlah daun diamati pada daun yang sudah membuka sempurna dan sehat, tidak terkena penyakit atau dimakan hama; (4) Panjang daun (cm). Panjang daun diukur dengan memilih salah satu daun terpanjang dari satu tanaman dan diukur menggunakan penggaris 5) Lebar daun (cm). Lebar daun diukur dengan memilih salah satu daun terlebar dari satu tanaman dan diukur menggunakan penggaris 6) Rata-rata jumlah stomata. Jumlah stomata diamati pada umur 10 MST pada 3 tanaman setiap perlakuan; 7) Kerapatan stomata, adalah perbandingan rata-rata jumlah stomata dengan luas bidang pandang (μm^2); 8) Panjang stomata (μm), diukur menggunakan

aplikasi ImageJ pada tiga stomata yang telah dipilih secara acak; 9) Lebar stomata (μm), Pengukuran lebar stomata sama seperti pengukuran panjang stomata; 10) Penentuan LC_{50} yang ditentukan dari perbandingan jumlah tanaman hidup per dosis dengan jumlah tanaman hidup pada kontrol. 11) Kandungan klorofil, dengan menyiapkan 2 g daun (3-5 helai) yang sehat, segar dan membuka penuh. Selanjutnya sampel dihaluskan menggunakan mortal dan pistil sampai menjadi pasta disertai dengan penambahan aseton 10 ml dan dimasukkan dalam file film, ditutup dan dimasukkan ke dalam lemari pendingin. Kemudian saring larutan tersebut dengan kertas saring Whatmann 42. Ekstrak ditampung ke dalam file film. Bila diperlukan (masih pekat), ambil tabung reaksi. Ambil 1 ml ekstrak dan ditambahkan aseton 9 ml lalu dihomogenkan. Masukkan ke dalam cuvet dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 645 nm dan 663 nm. Karakter selanjutnya adalah 12) Jumlah kromosom, dilakukan setelah usia tanaman 4 bulan dengan kriteria tanaman yaitu, memiliki daun dan akar yang tumbuh setelah perlakuan, memiliki ujung akar yang masih muda hasil dari induksi kolkisin. Pengamatan jumlah kromosom dilakukan dengan metode *squashing*. Data kuantitatif dilakukan analisis uji t pada taraf kepercayaan 5%. Jika t hitung lebih besar daripada t tabel ($t > \alpha; 0,05$) menunjukkan ada perbedaan yang nyata (Mattjik & Sumertajaya, 2013). Perhitungan koefisien variasi dihitung untuk menentukan keragaman dalam populasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakter Pertumbuhan

Karakter rata-rata panjang tanaman, diameter batang, jumlah daun, panjang daun dan lebar daun bawang putih varietas Lumbu Kuning dan Lumbu Hijau mutan harapan M1 menunjukkan hasil berpengaruh nyata berdasarkan hasil analisis uji t pada konsentrasi kolkisin 750 ppm – 1500 ppm. (Tabel 1 dan Tabel 2). Respon pertumbuhan

tanaman bawang putih dengan konsentrasi yang diberikan menyebabkan pertumbuhan terhambat. Setelah umbi direndam selama 12 jam lalu umbi dikeringanginkan untuk menurunkan kadar air umbi. Hal ini dimaksudkan agar umbi tidak cepat busuk ketika ditanam di lapang. Umbi yang sehat dan bebas hama juga akan mempengaruhi pertumbuhan. Umbi yang tidak sehat seperti terserang hama gudang juga akan mempengaruhi tinggi tanaman. Hal tersebut dikarenakan tanaman tidak dapat menyerap nutrisi secara optimal dan fungsi metabolismenya sudah terganggu. Kerusakan sel yang mengakibatkan tanaman menjadi kerdil bahkan mati merupakan salah satu reaksi tanaman yang diinduksi kolkisin (Prabawa & Purba, 2019). Hal tersebut menunjukkan bahwa larutan kolkisin mampu mempengaruhi pertumbuhan tanaman bawang putih. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian (Herman & Roslim, 2013) yang menyatakan bahwa kemungkinan mutasi akan semakin besar dengan perendaman kolkisin dengan dosis semakin besar pula, terutama pada karakter pertumbuhan vegetatif. Penurunan rerata panjang tanaman, diduga akibat kerusakan pada sel-sel tanaman sehingga menghambat pertumbuhan (Prabawa, 2017). Berdasarkan penelitian (Azizan *et al.*, 2020) menunjukkan bahwa konsentrasi kolkisin 0,5-2,50% mempengaruhi panjang tanaman dibandingkan kontrol. Konsentrasi 2,0% memberikan hasil paling tinggi dibandingkan perlakuan lainnya pada tanaman *Stevia rebaudiana*. Pada penelitian lain yang dilakukan oleh (Yunus *et al.*, 2018), konsentrasi kolkisin 0,1% menunjukkan panjang tanaman *Artemisia annua* L. paling tinggi dibandingkan perlakuan kontrol; 0,05% dan 0,2%. Penelitian (Frieska & Daryono, 2017) menunjukkan hasil tanaman jahe merah pada umur 1-3 bulan mengalami pertumbuhan yang terhambat akibat perlakuan konsentrasi kolkisin 0,05%-0,2%. Berdasarkan penelitian (Fadilla & Respatijarti, 2018) pada bawang putih varietas Lumbu Hijau menunjukkan bahwa

konsentrasi kolkisin 250, 500, dan 750 ppm dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman pada fase vegetatif seperti tinggi tanaman.

Berdasarkan hasil analisis uji t memperlihatkan bahwa konsentrasi mutagen kolkisin 750-1500 ppm berpengaruh nyata terhadap rata-rata diameter batang bawang putih. Hasil penelitian menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi mutagen kolkisin maka diameter batang tanaman akan semakin rendah. Hal tersebut sesuai dengan hasil penelitian (Aili *et al.*, 2016) pada tanaman jagung, konsentrasi kolkisin 400 ppm dan 600 ppm memiliki lingkaran batang lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan kontrol. Namun menurut (Yulia *et al.*, 2022) tanaman yang diinduksi kolkisin dengan level 25 ppm selama 12 jam mengalami peningkatan ukuran diameter batang sehingga diduga mengalami penggandaan kromosom menjadi tanaman poliploid. Tanaman poliploid yang telah diberikan kolkisin biasanya tanaman menjadi lebih kekar dilihat dari ukuran daun, batang, akar, bunga dan buah. Tidak semua tanaman yang diinduksi kolkisin dapat menghasilkan tanaman poliploid. Misalnya tanaman yang memiliki diameter kecil setelah diinduksi kolkisi, diduga hal tersebut dikarenakan terdapat sel-sel yang tidak termutasi atau mungkin penampilan sel termutasi belum terlihat pada populasi M1. Penampilan akibat mutasi sering kali muncul pada generasi M2 atau kelanjutannya.

Pada karakter jumlah daun, panjang daun dan lebar daun hasil analisis uji t menunjukkan bahwa konsentrasi mutagen 750 ppm-1500 ppm berpengaruh nyata pada varietas Lumbu Kuning dan Lumbu Hijau. Mutasi dapat berdampak pada penyusutan ukuran daun (Herman & Roslim, 2013). Rata-rata jumlah daun semakin menurun dengan meningkatnya konsentrasi kolkisin. Perkembangan dan pembentukan primordia daun dapat terhambat dan menjadi lambat karena adanya pembelahan sel yang lambat (Haryanti dkk, 2009). Konsentrasi kolkisin 3% dapat meningkatkan luas daun pada tanaman nilam (Zuyasna *et al.*, 2021). Daun

merupakan organ fotosintesis yang menentukan jumlah *source* untuk mendukung pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Apabila jumlah daun, panjang dan lebar daun akibat perlakuan kolkisin menurun

maka akan mempengaruhi asimilat yang dihasilkan. Oleh sebab itu, respon masing-masing tanaman akan berbeda meskipun konsentrasi sama.

Tabel 1. Uji t perlakuan kontrol dengan K1LK, K2LK, K3LK, K4LK pada karakter pertumbuhan

Variabel	Kontrol	K1LK	Uji t	K2LK	Uji t	K3LK	Uji t	K4LK	Uji t
PT	46,98	18,77	33,78*	20,75	31,52*	21,87	21,24*	15,74	39,47*
DB	1,32	0,47	13,90*	0,61	11,95*	0,67	11,74*	0,49	14,48*
JD	6,02	4,05	8,36*	4,15	7,04*	3,62	8,26*	2,52	14,57*
PD	31,53	13,31	14,74*	16,49	11,57*	14,87	10,75*	9,74	17,80*
LD	1,11	0,46	13,23*	0,40	11,51*	0,39	14,10*	0,29	17,02*

Keterangan: (*) = nyata dalam taraf kepercayaan 5%.

Tabel 2. Uji t perlakuan kontrol dengan K1LH, K2LH, K3LH, K4LH pada karakter pertumbuhan

Variabel	Kontrol	K1LH	Uji t	K2LH	Uji t	K3LH	Uji t	K4LH	Uji t
PT	37,39	16,48	13,28*	22,15	7,96*	11,76	16,74*	9,71	19,16*
DB	0,69	0,49	5,88*	0,44	8,31*	0,43	8,84*	0,36	10,42*
JD	5,7	3,55	9,54*	3,65	7,72*	3,3	9,90*	2,82	11,94*
PD	30,39	11,78	11,72*	18,15	6,39*	8,26	14,45*	5,49	17,79*
LD	1,05	0,55	12,29*	0,51	11,84*	0,46	11,99*	0,41	14,50*

Keterangan: (*) = nyata dalam taraf kepercayaan 5%.

Karakter Stomata

Berdasarkan hasil analisis uji t memperlihatkan bahwa konsentrasi mutagen kolkisin 1500 ppm berpengaruh secara nyata dibandingkan kontrol pada rata-rata jumlah

stomata dan kerapatan stomata varietas Lumbu Kuning (Tabel 3). Selanjutnya pada varietas Lumbu Hijau, kolkisin tidak menunjukkan pengaruh nyata pada konsentrasi 750 ppm-1500 ppm apabila dibandingkan dengan kontrol (Tabel 4).

Tabel 3. Uji t perlakuan kontrol dengan K1LK, K2LK, K3LK, K4LK pada karakter stomata

Variabel	Kontrol	K1LK	Uji t	K2LK	Uji t	K3LK	Uji t	K4LK	Uji t
JS	54,33	67,67	-1,31tn	47,67	1,88tn	50,33	0,68tn	44,67	6,65*
KS	276,84	344,81	-1,31tn	242,89	1,88tn	256,48	0,68tn	227,60	6,65*
PS	21,57	20,70	0,62tn	19,62	0,81tn	21,24	0,43tn	23,86	-23,05tn
LS	7,77	6,64	1,13tn	6,60	2,90tn	8,75	-1,58tn	7,96	-0,31tn

Keterangan: (*) = nyata; tn= tidak nyata dalam taraf kepercayaan 5%.

Tabel 4. Uji t perlakuan kontrol dengan K1LH, K2LH, K3LH K4LH pada karakter stomata

Variabel	Kontrol	K1LH	Uji t	K2LH	Uji t	K3LH	Uji t	K4LH	Uji t
JS	43,33	53,33	-3,5tn	42	0,30tn	46,33	-2,59tn	49,00	-1,47tn
KS	220,81	256,48	-3,5tn	214,01	0,30tn	236,09	-2,69tn	249,68	-1,47tn
PS	20,11	18,81	1,05tn	18,09	1,81tn	19,98	0,11tn	23,56	-6,92tn
LS	7,50	6,60	1,56tn	8,75	-0,71tn	7,96	-0,61tn	8,00	-1,08tn

Keterangan: (*) = nyata; tn= tidak nyata dalam taraf kepercayaan 5%.

Secara umum, perlakuan kolkisin menurunkan jumlah dan kerapatan stomata akan tetapi meningkatkan panjang dan lebar stomata pada varietas Lumbu Kuning (Gambar 1). Pada varietas Lumbu Hijau, perlakuan kolkisin justru meningkatkan jumlah stomata meskipun tidak berpengaruh nyata. Panjang stomata dapat menjadi indikator tingkat ploidi dan telah digunakan pada tanaman yang berbeda jenis untuk menentukan tingkat ploidi (Huang *et al.*, 2014). Hal tersebut disebabkan adanya penggandaan kromosom.

Berdasarkan hasil penelitian (Normasiwi dkk., 2021) menunjukkan bahwa tanaman tetraploid memiliki ukuran stomata lebih besar sehingga kerapatan stomatanya lebih rendah. Hal tersebut juga sesuai dengan hasil penelitian (Herawati *et al.*, 2023) bahwa kerapatan stomata rendah namun panjang dan lebar stomata yang lebih besar pada tanaman *Artemisia cina* tetraploid. Stomata dengan ukuran besar mengakibatkan jumlah stomata dalam satuan luas daun menurun karena ukuran yang besar mengakibatkan kerapatan menjadi rendah. Penelitian (Rohmah *et al.*, 2017) menyatakan bahwa ukuran stomata dan kerapatan stomata pada tanaman *Olea europaea* L. yang diinduksi kolkisin konsentrasi 0,75% berpengaruh dibandingkan kontrol. Hasil lain dari penelitian (Yunus *et al.*, 2018) menunjukkan bahwa tanaman poliploid mempunyai kerapatan stomata yang lebih rendah daripada tanaman diploid karena ukuran stomata yang semakin besar per satuan luas daun. Stomata adalah jalur keluar masuknya air dan udara bagi tanaman. Sel-sel stomata dapat menjadi indikasi tanaman poliploid. Selain karena sel mengganda sehingga mengakibatkan ukuran stomata menjadi lebih besar, ketika tanaman diinduksi menggunakan kolkisin maka tanaman akan menjadi stress dan berupaya untuk dapat tetap bertahan hidup. Ukuran stomata yang besar namun tidak membuka juga mengindikasikan bahwa hanya sedikit air yang dapat diserap oleh tanaman sehingga pertumbuhan tanaman tidak optimal. Ukuran stomata yang besar meningkatkan peluang

tanaman bisa menyerap oksigen dan air sehingga membantu mengoptimalkan pertumbuhan. Waktu pengambilan sampel juga akan mempengaruhi membuka/menutupnya stomata. Waktu yang tepat untuk pengambilan sampel stomata adalah pagi hari sekitar pukul 08.00 WIB. Hal tersebut dimaksudkan agar saat pengambilan sampel, banyak diperoleh stomata yang membuka ketika pagi hari. Karena jika siang hari stomata akan lebih banyak menutup, hal tersebut dikarenakan tanaman mencoba untuk mengurangi penguapan.

Kandungan Klorofil

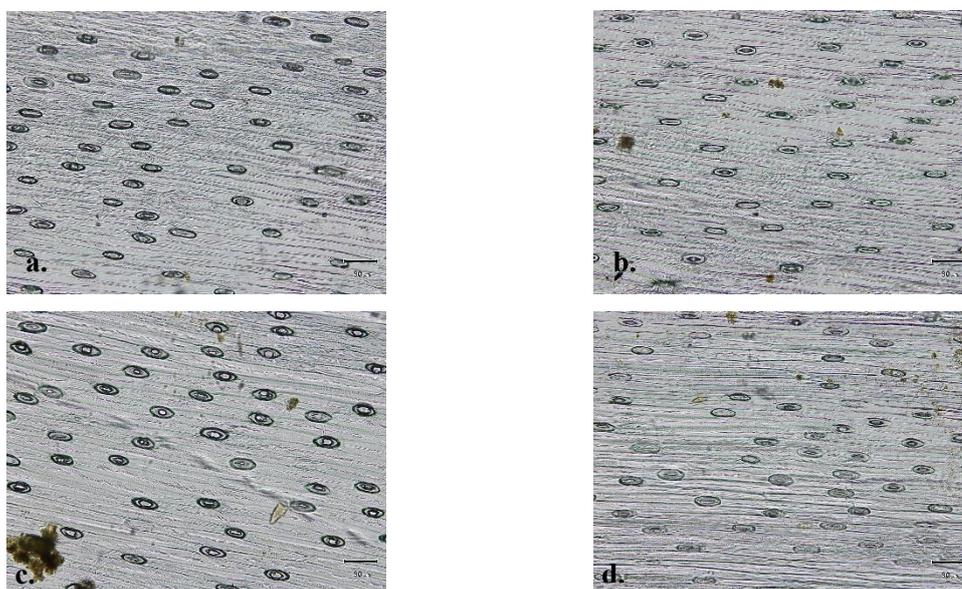
Berdasarkan hasil analisis kandungan klorofil, memperlihatkan bahwa konsentrasi mutagen kolkisin 1250 ppm pada varietas Lumbu Kuning menunjukkan kandungan klorofil tertinggi dan kandungan klorofil terendah pada perlakuan mutagen kolkisin 1500 ppm pada varietas Lumbu Hijau (Tabel 5).

Kandungan klorofil perlakuan kontrol varietas Lumbu Kuning ($0,654 \text{ mg g}^{-1}$) lebih rendah daripada varietas Lumbu Hijau ($0,871 \text{ mg g}^{-1}$). Perbedaan kandungan klorofil disebabkan karena adanya variasi konsentrasi kolkisin sehingga efek dari kolkisin pada tanaman menunjukkan perbedaan. Hasil penelitian (Suliman & Asander, 2020) menunjukkan tanaman *C. siliquastrum* yang diberi perlakuan kolkisin 1500 ppm memiliki kandungan klorofil yang lebih tinggi dibandingkan perlakuan kontrol. Menurut (Majdi *et al.*, 2010) pada tanaman *Tanacetum parthenium* yang diinduksi perlakuan kolkisin 0,1 ppm dapat memengaruhi peningkatan kadar klorofil. Menurut (Friska & Daryono, 2017) tanaman jahe (*Zingiber officinale* var. *rubrum*) yang diinduksi poliploidi dengan kolkisin 0,1 ppm menghasilkan kadar klorofil lebih tinggi dan berbeda signifikan dengan kontrol. Klorofil adalah zat yang memberikan warna pada daun. Tanaman hasil induksi kolkisin yang memiliki warna daun lebih hijau tua memungkinkan adalah tanaman poliploid yang memiliki kandungan klorofil lebih

tinggi (Sartika *et al.*, 2020). Peningkatan jumlah kromosom berkorelasi positif dengan jumlah DNA tanaman poliploidi (Amiri *et al.*, 2010). Hal tersebut yang mendukung sintesis klorofil menjadi lebih cepat pada tanaman poliploidi.

Ketika benih diberi perlakuan kolkisin, proses mitosis sel embrio terhambat sehingga kromosom yang telah mengganda menjadi gagal berpisah karena terjadi kerusakan dalam pembentukan benang yang mengakibatkan kandungan klorofil meningkat. Terdapat dua jenis klorofil yaitu

klorofil a dan klorofil b. klorofil a berwarna hijau tua dan klorofil b berwarna hijau muda. Klorofil a bertugas untuk menyerap cahaya dan klorofil b bertugas untuk mengumpulkan cahaya lalu diteruskan ke klorofil a. Kandungan klorofil bisa digunakan menjadi salah satu indikator penentu tanaman poliploid. Penggandaan kromosom ini menyebabkan diferensiasi proplastid menjadi meningkat sehingga menghasilkan tanaman dengan kandungan klorofil yang tinggi (Pharmawati & Wistiani, 2015).



Gambar 1. Stomata hasil induksi kolkisin. a). Kontrol varietas Lumbu Kuning; b). Kontrol varietas Lumbu Hijau; c). Varietas Lumbu Kuning + Kolkisin 1500 ppm; dan d). Varietas Lumbu Hijau + Kolkisin 1500 ppm.

Tabel 5. Kandungan Klorofil

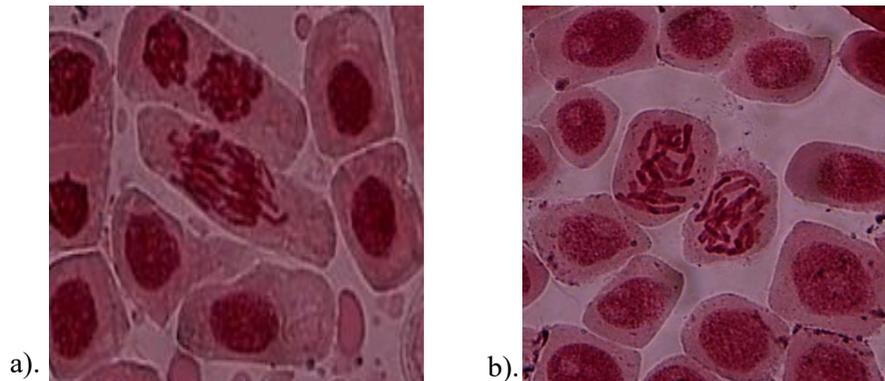
Perlakuan	Klorofil a	Klorofil b	Total
Kontrol LK	0,524	0,130	0,654
K1LK	0,693	0,190	0,882
K2LK	0,557	0,141	0,698
K3LK	0,844	0,312	1,156
K4LK	0,697	0,180	0,877
Kontrol LH	0,684	0,188	0,871
K1LH	0,727	0,192	0,919
K2LH	0,665	0,175	0,840
K3LH	0,577	0,146	0,723
K4LH	0,523	0,122	0,645

Keterangan : K1LK: Lumbu kuning 750 ppm; K2LK: Lumbu kuning 1000 ppm; K3LK: Lumbu kuning 1250 ppm; K4LK: Lumbu kuning 1500 ppm; K1LH: Lumbu hijau 750 ppm; K2LH: Lumbu hijau 1000 ppm; K3LH: Lumbu hijau 1250 ppm; K4LH: Lumbu hijau 1500 ppm; nilai klorofil dalam satuan (mg g^{-1}).

Analisis Kromosom

Berdasarkan hasil analisis kromosom menunjukkan hasil bahwa mutagen kolkisin mempengaruhi jumlah kromosom pada varietas Lumbu Kuning dan Lumbu Hijau. Konsentrasi kolkisin 1250 ppm dan 1500 ppm menghasilkan tanaman euploid. Euploid

adalah jumlah kromosom merupakan kelipatan dari kromosom dasar (x). Varietas Lumbu Kuning dan Lumbu Hijau yang diberi perlakuan kolkisin 1250 ppm dan 1500 ppm memiliki jumlah kromosom triploid ($2n=3x=24$). Jumlah kromosom dasar bawang putih adalah $2n=2x=16$. (Gambar 2).



Gambar 2. Kromosom dari ujung akar bibit *Allium sativum* (a). diploid $2n=2x=16$ dan (b) triploid $2n=3x=24$. Perbesaran 1000x, bar = 30 μ m

Fase pembelahan mitosis hasil perendaman kolkisin berbeda dengan fase pembelahan mitosis tanpa perendaman kolkisin. Hal ini disebabkan karena kolkisin pada konsentrasi yang tinggi dan tidak optimal akan bersifat racun. Sifat racun tersebut dapat terlihat pada nukleus yang sedang aktif membelah, pembelahannya menjadi terganggu. Proses mitosis Ketika diinduksi dimodifikasi menjadi C-mitosis. Ketika sel-sel meristem haploid diinduksi kolkisin maka akan terjadi mitosis, kromosom akan membelah jadi dua seperti pada umumnya, tetapi metafase dan anafase tidak terjadi. Apabila daya kolkisin sudah habis, maka pembelahan mitosis akan berlangsung seperti pada normalnya dan akan menghasilkan tanaman diploid.

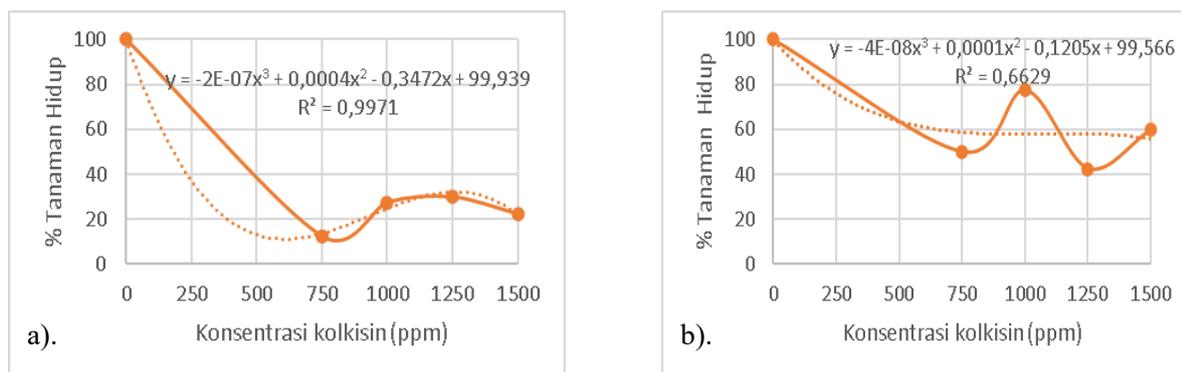
Tanaman poliploid dapat terbentuk secara alami maupun induksi sehingga mengakibatkan kromosom gagal berpisah di tahap anafase maupun akibat dari benang-benang spindel yang gagal dibentuk saat proses pembelahan (Arumingtyas, 2016). Hal tersebut dapat dilakukan dengan induksi poliploid kolkisin. Induksi kolkisin bisa diberikan dengan berbagai konsentrasi dan

respon masing-masing individu akan berbeda.

Nilai LC_{50}

Lethal concentration adalah konsentrasi yang dapat menyebabkan kematian 50% populasi. Tanaman mutan biasanya dapat diperoleh pada konsentrasi disekitar konsentrasi LC_{50} . Kisaran LC_{20} - LC_{50} atau LD_{20} - LD_{50} adalah konsentrasi yang menghasilkan keragaman genetik terbesar (Sari *et al.*, 2019). Pada kisaran LC_{50} diharapkan muncul keragaman sifat terbesar yang dapat diwariskan dan tidak menurunkan performa pertumbuhan dan perkembangan tanaman.

Nilai LC_{50} pada penelitian ini ditentukan berdasarkan perbandingan jumlah tanaman hidup per dosis dengan jumlah tanaman hidup pada kontrol. Gambar 3 memperlihatkan hubungan pengaruh konsentrasi kolkisin terhadap jumlah benih abnormal (%) untuk menentukan nilai perbandingan jumlah tanaman hidup per dosis dengan jumlah tanaman hidup pada kontrol.



Gambar 3. a). LC50 varietas Lumbu Kuning; b). LC50 varietas Lumbu Hijau

Berdasarkan pada gambar 3, dapat diketahui bahwa kurva yang sesuai untuk menggambarkan LC adalah Polynomial Regression. Nilai LC₅₀ varietas Lumbu Kuning sebesar 698,055 ppm dengan nilai $r^2 = 0,9971$. Selanjutnya nilai LC₅₀ varietas lumbu hijau adalah 1383,041 ppm dengan nilai $r^2 = 0,6629$. Nilai r^2 yang semakin mendekati 1 menunjukkan model persamaan yang digunakan semakin baik sehingga bisa merepresentasikan batas konsentrasi dan dosis yang dapat mengakibatkan kematian pada populasi tanaman. Menurut hasil penelitian Mahajen *et al.*, (2015), menunjukkan umbi bawang putih yang direndam kolkisin selama 12 jam memiliki nilai LC₅₀ sebesar 0,058%. Dengan demikian, dapat diketahui LC₅₀ yang dapat digunakan untuk penelitian selanjutnya sehingga akan lebih banyak mutan harapan M1 yang didapatkan.

SIMPULAN

Larutan kolkisin konsentrasi 0-1500 ppm mempengaruhi penampilan tanaman bawang putih varietas Lumbu Kuning dan Lumbu Hijau pada panjang tanaman, diameter batang, jumlah daun, panjang daun dan lebar daun. Konsentrasi kolkisin 1250 ppm dan 1500 ppm mampu menghasilkan tanaman triploid ($2n=3x=24$) pada varietas Lumbu Kuning dan Lumbu Hijau. Nilai LC₅₀ tanaman bawang putih varietas Lumbu

Kuning adalah 698,055 ppm dan varietas Lumbu Hijau adalah 1383,041 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

- Aili, N. E., Respatijarti, & Sugiharto, A. N. 2016. Pengaruh Pemberian Kolkisin terhadap Penampilan Fenotipe Galur Inbrida Jagung Pakan (*Zea Mays* L.) pada Fase Pertumbuhan Vegetatif. *Jurnal Produksi Tanaman*, 4(5), 370–377.
- Amiri, S., Kazemitabaar, S. K., Ranjbar, G., & Azadbakht, M. 2010. The Effect Of Trifluralin And Colchicine Treatments On Morphological Characteristics Of Jimsonweed (*Datura stramonium* L.). *Trakia Journal of Sciences*, 8(4), 47–61. <http://www.uni-sz.bg>
- Arumingtyas, E. L. 2016. *Genetika Mendel: Prinsip Dasar Pemahaman Ilmu Genetika*. Universitas Brawijaya Press.
- Azizan, N. I., Shamsiah, A., Hasan, N. A., & Hussein, S. 2020. Morphological characterization of Colchicine-induced Mutants in *Stevia rebaudiana*. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*.
- Eng, W. H., & Ho, W. S. 2019. Polyploidization using colchicine in horticultural plants: A review. In *Scientia Horticulturae* (Vol. 246, pp. 604–617). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.11.010>

- Fadilla, Z. N., & Respatijarti. 2018. Induksi Poliploid di pada Bawang Putih (*Allium sativum* L.) dengan Pemberian Kolkisin. *Jurnal Produksi Tanaman*, 6(5), 783–790.
- Friska, M., & Daryono, B. S. 2017. Karakter Fenotip Jahe Merah (*Zingiber officinale* Roxb. var. *rubrum* Rosc.) Hasil Poliploidisasi dengan Kolkisin. *Al-Kaunyah: Jurnal Biologi*, 10(2). <https://doi.org/10.15408/kaunyah.v10i2.4813>
- Haryanti, S. R., Hastuti, R. B., Setiari, N., & Banowo, A. 2009. Pengaruh Kolkisin Terhadap Pertumbuhan, Ukuran Sel Metafase Dan Kandungan Protein Biji Tanaman Kacang Hijau (*Vigna radiata* (L) Wilczek). *Jurnal Penelitian Sains & Teknologi*, 10(2), 112–120.
- Heo, J. Y., Jeong, S. H., Choi, H. R., & Park, S. M. 2016. Polyploid production in *Lilium leichtlinii* var. *Maximowiczii* using colchicine. *Journal of Animal and Plant Sciences*, 26(4), 1111–1116.
- Herman, I. N. M., & Roslim, D. I. 2013. Pengaruh Mutagen Kolkisin pada Biji Kacang Hijau (*Vigna radiata* L.) terhadap Jumlah Kromosom dan Pertumbuhan. *J. BioETI*, 13–20.
- Huang, H., Gao, S., Wang, D., Huang, P., & Li, J. 2014. Autotetraploidy induced in *Nianmaohuangqin* (*Radix Scutellariae viscidulae*) with colchicine in vitro. *J Tradit Chin Med*, 34(2), 199–205. <http://www.journaltcm.com>
- Majdi, M., Karimzadeh, G., Malboobi, M. A., Omidbaigi, R., & Mirzaghaderi, G. 2010. Induction of tetraploidy to feverfew (*Tanacetum parthenium* Schulz-Bip.): Morphological, physiological, cytological, and phytochemical changes. *HortScience*, 45(1), 16–21. <https://doi.org/10.21273/hortsci.45.1.16>
- Mattjik, A. A., & Sumertajaya, I. M. 2013. *Perancangan Percobaan Jilid I*. IPB Press.
- Mensah, J. K., Obadoni, B. O., Akomeah, P. A., Ajibolu, & Janet. 2007. The effects of sodium azide and colchicine treatments on morphological and yield traits of sesame seed (*Sesame indicum* L.). *African Journal of Biotechnology*, 6(5), 534–538. <http://www.academicjournals.org/AJB>
- Moulia, M. N., Syarief, R., Iriani, E. S., Kusumaningrum, H. D., & Suyatma, N. E. 2018. *Antimikroba Ekstrak Bawang Putih*.
- Normasiwi, S., Efendi, M., Rahman, W., Hafizh, E. A., Ermayanti, T. M., Lelono, R. A., & Yunarto, N. 2021. Growth, stomata and trichome characteristics of diploid and tetraploid *Artemisia annua* L. plants. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 762(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/762/1/012022>
- Pharmawati, M., & Wistiani, N. L. A. J. 2015. Induksi Mutasi Kromosom dengan Kolkisin Pada Bawang Putih (*Allium sativum* L.) Kultivar ‘Kesuna Bali’ *Jurnal Bios Logos*, 5(1). <https://doi.org/10.35799/jbl.5.1.2015.9317>
- Prabawa, P. S. 2019. *Keragaman Genetik Padi Hitam (Oryza sativa L.) Hasil Mutasi Kolkisin*. Thesis. Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya.
- Prabawa, P. S. ., & Purba, J. H. 2019. Identifikasi Perubahan Fenotip Padi Beras Hitam (*Oryza sativa* L.) Var Cempo Ireng Hasil Perlakuan Kolkisin. *Agro Bali : Agricultural Journal*, 2(1), 1–7.
- Rohmah, A., Rahayu, T., & Hayati, A. 2017. Pengaruh Pemberian Kolkisin terhadap Karakter Stomata Daun Zaitun (*Olea europaea* L.). *Jurnal Ilmiah BIOSAIN TROPIS (BIOSCIENCE-TROPIC)*, 2.
- Sari, Y., Sobir, Syukur, M., & Dinarti, D. 2019. Induksi Poliploid TSS (True Shallot Seed) Bawang Merah Varietas

- Trisula menggunakan Kolkisin. *Jurnal Hortikultura Indonesia*, 10(3), 145–153. <https://doi.org/10.29244/jhi.10.3.145-153>
- Sartika, D., Agustrina, R., Ernawati, E., & Irawan, B. 2020. *The Role of Kolkisin in Multiplication of Planlet Banana Kepok Abu Poliploidi in Vitro Peran Kolkisin dalam Multiplikasi Planlet Pisang Kepok Abu Poliploidi Secara In Vitro*.
- Suliman, H. H., & Asander, H. S. 2020. Polyploidy Induced By Colchicine In *Robinia Pseudoacacia* L. And It's Effects On Morphological, Physiological And Anatomical Seedling Traits . *Iraqi Journal of Agricultural Sciences*, 51(3), 829–847.
- Syukur, M., Sujiprihati, S., & Yuniarti, R. 2015. *Teknik Pemuliaan Tanaman Penebar Swadaya*.
- Trojak-Goluch, A., & Skomra, U. 2013. Artificially induced polyploidization in *Humulus lupulus* L. and its effect on morphological and chemical traits. *Breeding Science*, 63(4), 393–399. <https://doi.org/10.1270/jsbbs.63.393>
- Urwin, N. A. R., Horsnell, J., & Moon, T. 2007. Generation and characterisation of colchicine-induced autotetraploid *Lavandula angustifolia*. *Euphytica*, 156(1–2), 257–266. <https://doi.org/10.1007/s10681-007-9373-y>
- Wijaya, M. A., Anindita, R., & Setiawan, B. 2014. Analisis Volatilitas Harga, Volatilitas Spillover, Dan Trend Harga Pada Komoditas Bawang Putih (*Allium sativum* L.) Di Jawa Timur. *AGRISE*, 14(2), 127–143.
- Wu, F. H., Yu, X. D., Zhuang, N. S., Liu, G. D., & Liu, J. P. 2015. Induction and identification of *Stylosanthes guianensis* tetraploids. *Genetics and Molecular Research*, 14(4), 12692–12698. <https://doi.org/10.4238/2015.October.19.13>
- Yulia, N., Prihantoro, I., & Karti, P. D. M. H. 2022. Optimasi Penggunaan Mutagen Kolkisin untuk Peningkatan Produktivitas Tanaman Stylo (*Stylosanthes guianensis* (Aubl.) Sw.). *Jurnal Ilmu Nutrisi Dan Teknologi Pakan*, 20(1), 19–24. <https://doi.org/10.29244/jintp.20.1.19-24>
- Yunus, A., Parjanto, Samanhudi, Hikam, M. P., & Widyastuti, Y. 2018. Polyploid response of *Artemisia annua* L. to colchicine treatment. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 142(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/142/1/012020>
- Zuyasna, Marliah, A., Rahayu, A., Hayati, E., & Husna, R. 2021. Pertumbuhan Tanaman Nilam MV1 Varietas Lhokseumawe Akibat Konsentrasi dan Lama Perendaman Kolkisin. *Agro Bali : Agricultural Journal* , 4(1), 23–33.