

Induksi Poliploidi *True Shallot Seed (TSS)* Bawang Merah (*Allium ascalonicum* L.) Dengan Kolkisin Yang Ditanam Secara *In Vitro*

Polyploidy Induction Of *True Shallot Seed (TSS)* Grown *In Vitro* By *Colchicine*

Wardani*) dan Damanhuri

Departemen Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya
 Jl. Veteran, Malang 65145 Jawa Timur
 *)Email : wardani@student.ub.ac.id

ABSTRAK

Bawang merah (*Allium ascalonicum* L.) merupakan salah satu komoditas penting bagi masyarakat Indonesia dan terus mengalami peningkatan permintaan. Upaya untuk meningkatkan produksi bawang merah dapat dilakukan dengan perbaikan karakter tanaman melalui induksi poliploidi menggunakan mutagen. Kolkisin dapat mengakibatkan terjadinya penggandaan kromosom sehingga diharapkan dapat menghasilkan tanaman poliploid dengan ukuran yang lebih besar. TSS merupakan biji botani bawang merah yang mempunyai beberapa kelebihan dibandingkan umbi, seperti masa penyimpanan lebih lama, biaya penyediaan benih lebih murah, serta bebas hama dan penyakit. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kombinasi konsentrasi kolkisin dan lama perendaman yang efektif untuk menghasilkan bawang merah tetraploid. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL), terdiri dari 8 kombinasi perlakuan antara konsentrasi kolkisin (0%, 0,25%, 0,50%, 0,75%) dan lama perendaman (24 jam dan 48 jam) dengan 3 ulangan. Variabel pengamatan terdiri dari daya kecambah, persentase kematian, LC_{50} , pertumbuhan planlet (tinggi planlet, jumlah daun, jumlah akar, dan panjang akar), dan sitologi (kerapatan stomata dan jumlah kromosom). Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan kombinasi konsentrasi kolkisin dan lama perendaman berpengaruh nyata terhadap

semua variabel pengamatan, kecuali pada variabel jumlah daun dan jumlah akar. Peningkatan konsentrasi dan lama perendaman kolkisin menurunkan daya kecambah dan menaikkan persentase kematian. Perlakuan K3P1 (0,75%, 24 jam) menunjukkan pertumbuhan tinggi planlet dan panjang akar terbaik dari perlakuan lainnya. Kombinasi konsentrasi kolkisin dan lama perendaman yang digunakan tidak menghasilkan tanaman tetraploid namun menghasilkan tanaman pentaploid.

Kata Kunci: *In Vitro*, Jumlah Kromosom, Kolkisin, Poliploidi, TSS.

ABSTRACT

Shallot (*Allium ascalonicum* L.) is one of important commodities in Indonesia and has a high demand. Increasing shallot production can be done by improving the size of bulb through polyploidy induction by mutagen. The application of colchicine can double the number of chromosome, so that it is expected to produce polyploid plants with a larger size. TSS is botanical seed that has several advantages compared to bulbs, such as a longer storage period, lower seed supply costs, pest and disease free. This study aims to determine the effective combination of colchicine concentration and immersion time to produce tetraploid plant. This study used completely randomized design (CRD), consisted of 8 treatment combinations of colchicine concentration (0%, 0,25%, 0,50%, 0,75%) and immersion

time (24 jam dan 48 jam) with 3 replications. The observation variables were germination, percentage of mortality, LC₅₀, plantlet growth (plantlet height, number of leaves, number of roots, and root length), and cytology (stomatal density and number of chromosomes). The result showed that the treatment combination of colchicine concentration and immersion time has a significant effect on all observed variables, except the number of leaves and number of roots. Increasing the colchicine concentration and immersion time decreased the germination and increased the percentage of mortality. K3P1 (0.75%, 24 hours) population showed the best plantlet height and root length. All combinations of colchicine concentration and immersion time did not produce tetraploid plant, but produce pentaploid plant.

Kata Kunci: Chromosome Number, Colchicine, *In Vitro*, Polyploid, TSS.

PENDAHULUAN

Bawang merah (*Allium ascalonicum* L.) merupakan salah satu komoditas penting bagi masyarakat Indonesia yang tergolong dalam famili *Liliaceae*. Bawang merah termasuk salah satu komoditas yang terus mengalami peningkatan permintaan dan berkontribusi terhadap inflasi karena mempunyai nilai ekonomi yang tinggi (Bakhtiar, 2019). Tingkat produksi bawang merah di Indonesia terus mengalami peningkatan dalam 5 tahun terakhir. Indonesia mampu mencapai hasil produksi bawang merah sebanyak 1,82 juta ton pada tahun 2020 dan mengalami peningkatan pada tahun 2021 sebesar 10,42%. Peningkatan produksi bawang merah tersebut masih belum merata di seluruh wilayah Indonesia. Sebanyak 24 provinsi di Indonesia masih mengalami defisit bawang merah yang didasarkan atas perhitungan angka produksi bawang merah dengan angka konsumsi rumah tangga setahun di wilayah tersebut (Adhiwibowo *et al.*, 2022). Menurut Sari *et al.* (2019), selain meningkatkan produktivitas bawang merah, tantangan lain komoditas ini yaitu

meningkatkan ukuran umbi bawang merah lokal Indonesia.

Upaya untuk meningkatkan produksi bawang merah dapat dilakukan dengan perbaikan karakter tanaman melalui kegiatan pemuliaan tanaman. Salah satu teknik pemuliaan tanaman yang dapat dilakukan yaitu induksi mutasi menggunakan mutagen. Penggunaan mutagen seperti kolkisin dapat mengakibatkan terjadinya penggandaan kromosom sehingga diharapkan dapat menghasilkan tanaman poliploid dengan ukuran yang lebih besar. Poliploidi merupakan teknik penting yang dapat menghasilkan tanaman unggul secara genetik (Pillai *et al.*, 2021). Tanaman yang bersifat poliploid, khususnya tetraploid mempunyai ukuran morfologi yang lebih besar dibanding tanaman diploid. Hasil penelitian Ren *et al.* (2018) menunjukkan bawang merah yang berhasil terinduksi tetraploid menghasilkan umbi lebih besar dan meningkatkan produksi. Kondisi demikian dapat terjadi secara alami ataupun buatan dengan memanfaatkan kolkisin. Menurut Darmawan dan Damanhuri (2019), kolkisin berpengaruh terhadap keanekaragaman fenotip dan genotip tanaman. Tingkat konsentrasi dan durasi perendaman yang tepat pada kolkisin dapat menghasilkan tanaman poliploidi.

Umumnya masyarakat menggunakan umbi sebagai bahan tanam. Penggunaan umbi sebagai bahan tanam memiliki beberapa kelemahan, seperti biaya yang dibutuhkan untuk penyediaan lebih banyak, rentan terhadap penyakit busuk umbi, dan penurunan produksi karena penanaman dari generasi ke generasi (Sitepu *et al.*, 2013). Penelitian terkait induksi poliploidi pada biji botani (TSS) bawang merah masih minim dilakukan, baik secara *in vitro* maupun *ex vitro*. TSS merupakan biji botani bawang merah. Penggunaan TSS sebagai benih mempunyai beberapa kelebihan dibandingkan umbi, seperti masa penyimpanan yang lebih lama yaitu lebih dari setahun, tingkat produksi yang tinggi sekitar 20 ton.ha⁻¹, bentuk dan ukuran umbi yang dihasilkan relatif homogen, biaya penyediaan benih lebih murah, serta bebas hama dan penyakit (Prayudi *et al.*, 2015).

Induksi poliploid melalui kultur *in vitro* memiliki beberapa kelebihan, seperti tidak terbatas oleh musim, dapat menghasilkan bibit yang bebas hama dan penyakit, serta tidak membutuhkan tempat yang luas.

Penelitian terkait induksi poliploid pada umbi bawang merah menggunakan kolkisin telah banyak dilakukan. Hasil penelitian Setyowati *et al.* (2013) terhadap tingkat konsentrasi kolkisin (0 g.L^{-1} , $0,5 \text{ g.L}^{-1}$, 1 g.L^{-1} , $1,5 \text{ g.L}^{-1}$) pada kultur meristem batang bawang wakegi beberapa kultivar (lembah palu, palasa, sumenep) menghasilkan tanaman tetraploid pada kultivar palasa dengan perlakuan kolkisin 0,05% dan kultivar sumenep dengan perlakuan kolkisin 0,1%. Namun penelitian terkait induksi poliploid pada TSS bawang merah masih terbatas. Hasil penelitian Sari *et al.* (2019) menunjukkan bahwa tingkat konsentrasi 0%, 0,25%, 0,5%, 0,75%, 1% dengan lama perendaman 24 jam menghasilkan populasi yang bersifat mixoploid pada semua generasi pertama, kecuali pada konsentrasi 0% dengan jumlah kromosom normal ($2n = 16$). Tanaman dengan jumlah kromosom mixoploid seringkali tidak stabil sehingga dapat kembali menjadi ploid aslinya (Touchell *et al.*, 2020). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh kombinasi konsentrasi dan lama perendaman kolkisin terhadap pertumbuhan planlet dan ploidi *True Shallot Seed* (TSS), serta memperoleh tingkat konsentrasi dan lama perendaman kolkisin yang efektif menghasilkan tanaman tetraploid.

BAHAN DAN METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan bulan Februari sampai Juli 2023. Pelaksanaan penelitian kultur *in vitro* dilakukan di laboratorium kultur jaringan *rareplantlabs*, Kediri, Jawa Timur. Uji sitologi untuk menghitung jumlah kromosom dilakukan di Laboratorium Pemuliaan Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang. Alat yang digunakan yaitu *Laminar Air Flow* (LAF), autoklaf, mikroskop, oven, kaca preparat dan kaca penutup, timbangan analitik, spatula kaca, gelas *beaker*, pinset, cawan petri, pH meter, *sprayer*, pipet, kaca preparat, lampu UV, bunsen, selotip,

aluminium foil, plastik *wrapping*, botol selai, botol saos, botol vial, plastik bening, karet gelang, label. Bahan-bahan yang digunakan yaitu *True Shallot Seed* (TSS) bawang merah varietas sanren, kolkisin, *Murashige and Skoog* (MS), akuades, alkohol 70%, fungisida, agar, gula, tisu, deterjen, fungisida, pemutih komersial, hidroksi kuinolin, HCl, aseto orsein, asam asetat glasial, gliserin, dan cat kuku bening.

Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL), terdiri dari 8 kombinasi perlakuan antara konsentrasi kolkisin dan lama perendaman, yaitu K0P1 (0%, 24 jam), K0P2 (0%, 48 jam), K1P1 (0,25%, 24 jam), K1P2 (0,25%, 48 jam), K2P1 (0,50%, 24 jam), K2P2 (0,50%, 48 jam), K3P1 (0,75%, 24 jam), dan K3P2 (0,75%, 48 jam) dengan 3 ulangan, sehingga terdapat 24 satuan percobaan. Variabel pengamatan terdiri dari daya kecambah (%), persentase kematian (%), LC_{50} , tinggi planlet (cm), jumlah daun (helai), jumlah akar (helai), panjang akar (cm), kerapatan stomata (mm^2), dan jumlah kromosom.

Data yang diperoleh diolah dengan analisis ragam (ANOVA) dengan taraf kepercayaan 95%. Jika hasil analisa ragam berbeda nyata, dilanjutkan dengan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) dengan tingkat signifikansi sebesar 5%. Penentuan nilai LC_{50} ditentukan dengan analisis regresi probit.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Konsentrasi dan Lama Perendaman Kolkisin terhadap Daya Kecambah dan LC_{50} *True Shallot Seed*

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terjadi penurunan daya kecambah benih setelah diberi perlakuan kolkisin. Peningkatan konsentrasi kolkisin menurunkan daya kecambah benih seperti yang ditunjukkan pada Tabel 1. Semakin tinggi konsentrasi kolkisin dan semakin lama perendaman, daya kecambah benih semakin menurun. Kolkisin menyebabkan terjadinya degradasi pati sehingga menurunkan daya kecambah. Selain itu, tidak hanya disebabkan kolkisin menghambat pembentukan sel dan sintesis DNA, namun juga karena kolkisin

Tabel 1. Rerata daya kecambah dan persentase kematian TSS pada beberapa kombinasi tingkat konsentrasi kolkisin dan lama perendaman

Perlakuan	Σ Benih	Σ Kecambah	Σ Benih Tumbuh	Daya Kecambah (%)	Persentase Kematian (%)
K0P1 (0%, 24 jam)	150	147	134	98,00 g	8,82 a
K0P2 (0%, 48 jam)	150	144	129	96,00 g	10,43 a
K1P1 (0,25%, 24 jam)	150	122	81	81,33 f	33,62 b
K1P2 (0,25%, 48 jam)	150	101	57	67,33 d	43,75 c
K2P1 (0,50%, 24 jam)	150	110	65	73,33 e	40,93 c
K2P2 (0,50%, 48 jam)	150	75	27	50,00 b	64,18 e
K3P1 (0,75%, 24 jam)	150	87	42	58,00 c	51,73 d
K3P2 (0,75%, 48 jam)	150	59	20	39,33 a	66,05 f

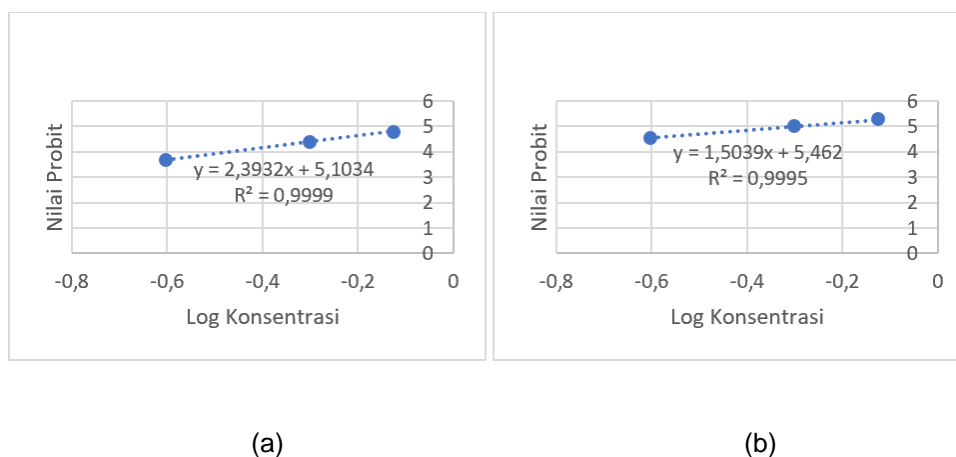
Keterangan : angka yang didampingi huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji DMRT 5%.

menghambat degradasi sukrosa yang berakibat pada proses pembesaran sel dan sintesis dinding sel (Lv *et al.*, 2021).

Data daya kecambah (Tabel 1.) dapat digunakan untuk menghitung nilai LC_{50} . LC_{50} (*Lethal Concentration 50*) merupakan nilai konsentrasi yang dapat mengakibatkan kematian tanaman sebanyak 50% dari populasi yang ada. Menurut (Holguín *et al.*, 2019), LD_{50} merupakan parameter yang digunakan untuk menentukan dosis iradiasi yang sesuai untuk induksi mutasi dalam program pemuliaan tanaman. LD_{50} ditentukan sebagai dosis dimana 50% objek yang diiradiasi akan mati dan memiliki frekuensi tertinggi untuk mengalami mutasi (Albokari *et al.*, 2012). Berdasarkan hasil perhitungan LC_{50} yang didapatkan pada data daya kecambah, maka diperoleh persamaan $y = 2,3932x + 5,1034$ untuk perendaman 24 jam dan $y = 1,5039x + 5,462$ untuk perendaman 48 jam (Gambar 1.), sehingga hasil regrasi didapatkan nilai LC_{50} untuk perendaman 24 jam yaitu sebesar 0,91% dan 0,49% untuk perendaman 48 jam.

Penambahan lama perendaman akan meningkatkan kematian seperti yang ditunjukkan pada Tabel 1.

Penelitian lain yang dilakukan Sari *et al.* (2019) terhadap TSS bawang merah varietas trisula yang ditanam di lahan dengan konsentrasi kolkisin 0%, 0,25%, 0,5%, dan 1% dengan lama perendaman 24 jam menghasilkan nilai LC_{50} sebesar 0,65%. Perbedaan konsentrasi tersebut dapat terjadi karena perbedaan varietas yang digunakan. Perbedaan tersebut diduga akibat kondisi sel pada setiap tanaman yang berbeda sehingga memiliki sensitivitas sel yang berbeda dalam merespon kolkisin (Ermayanti *et al.*, 2018). Selain itu, dapat juga disebabkan sifat-sifat mutagen yang digunakan (masa paruh waktu, penetrasi, kelarutan, toksisitas atau reaktivitas), jenis dan kondisi bahan yang dilakukan sebelum hingga setelah diaplikasikan ke bahan tanam, pH media pertumbuhan, dan perawatan tanaman setelah diaplikasikan mutagen (Hailu *et al.*, 2021)



Gambar 1. Grafik Regresi Linear: perendaman 24 jam (a); untuk perendaman 48 jam (b)

Pengaruh Konsentrasi dan Lama Perendaman Kolkisin terhadap Pertumbuhan Planlet *True Shallot Seed*

Pertumbuhan tanaman merupakan salah satu indikator yang dapat dijadikan acuan dalam mengevaluasi keberhasilan induksi poliploidi. Pemberian kolkisin pada bahan tanam dapat memberikan pengaruh dalam meningkatkan atau menurunkan pertumbuhan tanaman. Menurut Ermayanti *et al.* (2018), tanaman poliploid biasanya memiliki sifat yang lebih unggul dibandingkan dengan tanaman diploid. Hasil

penelitian menunjukkan bahwa tingkat konsentrasi dan lama perendaman kolkisin memberikan pengaruh nyata terhadap beberapa variabel pengamatan pertumbuhan, seperti tinggi planlet (Tabel 2.) dan panjang akar (Tabel 3.). Hal yang sama terjadi pada hasil penelitian Abello *et al.* (2021) yang menunjukkan tingkat konsentrasi kolkisin berpengaruh terhadap tinggi tanaman dan panjang akar planlet tomat.

Tabel 2. Rerata tinggi planlet pada beberapa tingkat konsentrasi kolkisin dan lama perendaman

Perlakuan	Tinggi Planlet (cm) pada MSS Ke-					
	1	2	3	4	5	6
K0P1 (0%, 24 jam)	9,00 c	10,47 c	13,30 d	15,20 c	17,80 d	18,77 d
K0P2 (0%, 48 jam)	8,57 bc	10,47 c	12,47 cd	14,47 c	16,10 d	17,97 d
K1P1 (0,25%, 24 jam)	7,67 bc	8,67 bc	11,57 bcd	14,00 c	15,70 d	17,37 d
K1P2 (0,25%, 48 jam)	7,60 bc	7,60 ab	8,67 b	9,53 b	10,87 b	11,60 b
K2P1 (0,50%, 24 jam)	7,60 bc	10,17 bc	11,87 cd	14,07 c	16,20 d	17,30 d
K2P2 (0,50%, 48 jam)	7,07 b	7,53 ab	9,63 bc	11,47 b	13,33 c	14,70 c
K3P1 (0,75%, 24 jam)	10,57 d	11,00 c	13,50 d	15,90 c	17,87 d	21,17 e
K3P2 (0,75%, 48 jam)	4,67 a	5,00 a	5,23 a	3,87 a	4,70 a	5,47 a

Keterangan : angka yang didampingi huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji DMRT 5%; MSS = Minggu Setelah Subkultur.

Tabel 3. Rerata panjang akar planlet pada beberapa tingkat konsentrasi kolkisin dan lama perendaman

Perlakuan	Panjang Akar (cm) pada MSS Ke-					
	1	2	3	4	5	6
K0P1 (0%, 24 jam)	1,50 ab	1,60 abc	1,62 ab	1,72 b	1,83 b	1,88 b
K0P2 (0%, 48 jam)	1,48 ab	1,57 abc	1,59 ab	1,72 b	1,80 b	1,90 b
K1P1 (0,25%, 24 jam)	1,40 ab	1,45 ab	1,52 ab	1,63 ab	1,75 b	1,77 b
K1P2 (0,25%, 48 jam)	1,38 ab	1,42 ab	1,49 ab	1,58 ab	1,63 ab	1,63 ab
K2P1 (0,50%, 24 jam)	1,59 ab	1,67 bc	1,72 bc	1,80 b	1,85 b	1,93 b
K2P2 (0,50%, 48 jam)	1,38 ab	1,42 ab	1,48 ab	1,55 ab	1,68 ab	1,68 ab
K3P1 (0,75%, 24 jam)	1,73 b	1,80 c	1,93 c	2,10 c	2,23 c	2,45 c
K3P2 (0,75%, 48 jam)	1,33 a	1,33 a	1,35 a	1,38 a	1,42 a	1,42 a

Keterangan : angka yang didampingi huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji DMRT 5%; MSS = Minggu Setelah Subkultur.

Hasil pengamatan menunjukkan pada konsentrasi yang sama, peningkatan lama perendaman berdampak terhadap tinggi planlet. Seperti yang disajikan pada Tabel 2, terjadi penurunan tinggi planlet pada 4 MSS hingga 6 MSS seiring bertambahnya waktu perendaman. Selain itu, panjang akar perlakuan K3P1 (0,75%, 24 jam) berbeda nyata dengan perlakuan lain pada 3 MSS hingga 6 MSS seperti yang ditunjukkan pada Tabel 3. Hasil penelitian Wiendra dan Pharmawati (2019) terhadap tingkat konsentrasi kolkisin dan lama perendaman

berpengaruh terhadap tinggi tanaman akibat penurunan pembelahan sel dan pemanjangan sel (elongasi). Auksin yang diproduksi oleh sel meristem mengalami penurunan akibat penghambatan pembelahan sel oleh kolkisin. Wu *et al.* (2015) menyatakan bahwa penggandaan kromosom memiliki keunggulan dalam menghasilkan karakteristik tanaman yang lebih unggul, salah satunya yaitu peningkatan tinggi tanaman.

Tabel 4. Rerata jumlah daun planlet pada beberapa tingkat konsentrasi kolkisin dan lama perendaman

Perlakuan	Jumlah Daun (helai.planlet ⁻¹) pada MSS Ke-					
	1	2	3	4	5	6
K0P1 (0%, 24 jam)	1,67	2,00	2,33	3,00	3,33	3,33
K0P2 (0%, 48 jam)	2,00	2,33	3,00	3,00	4,00	4,00
K1P1 (0,25%, 24 jam)	2,33	2,33	3,00	3,00	4,00	4,00
K1P2 (0,25%, 48 jam)	2,00	2,33	2,67	3,00	4,00	4,00
K2P1 (0,50%, 24 jam)	1,67	1,67	2,67	2,67	3,67	3,67
K2P2 (0,50%, 48 jam)	1,67	1,67	2,33	2,67	3,33	3,33
K3P1 (0,75%, 24 jam)	2,33	2,33	3,33	3,33	4,33	4,33
K3P2 (0,75%, 48 jam)	1,33	1,33	1,67	2,00	2,33	2,67
DMRT 5%	tn	tn	tn	tn	tn	tn

Keterangan : tn = tidak nyata; MSS = Minggu Setelah Subkultur.

Tabel 5. Rerata jumlah akar planlet pada beberapa tingkat konsentrasi kolkisin dan lama perendaman

Perlakuan	Jumlah Akar (helai.planlet ⁻¹) pada MSS Ke-					
	M1	M2	M3	M4	M5	M6
K0P1 (0%, 24 jam)	3,00	3,67	4,33	4,67	5,67	6,00
K0P2 (0%, 48 jam)	3,00	3,33	4,00	4,67	5,00	5,67
K1P1 (0,25%, 24 jam)	2,33	3,00	4,00	4,33	5,00	5,33
K1P2 (0,25%, 48 jam)	2,33	2,33	2,67	3,33	3,67	4,67
K2P1 (0,50%, 24 jam)	2,67	3,33	3,67	4,67	4,67	5,67
K2P2 (0,50%, 48 jam)	2,00	2,67	3,00	3,67	4,00	4,00
K3P1 (0,75%, 24 jam)	3,67	4,00	4,33	6,00	6,67	6,67
K3P2 (0,75%, 48 jam)	1,67	2,00	2,33	3,33	3,33	3,67
DMRT 5%	tn	tn	tn	tn	tn	tn

Keterangan : tn = tidak nyata; MSS = Minggu Setelah Subkultur.

Beberapa variabel pengamatan tidak menunjukkan adanya pengaruh akibat konsentrasi kolkisin dan lama perendaman pada semua perlakuan, seperti jumlah daun (Tabel 4.) dan jumlah akar (Tabel 5.). Hal yang sama terjadi pada penelitian Rahayu *et al.* (2015), beberapa perlakuan tingkat konsentrasi kolkisin tidak berbeda nyata terhadap jumlah daun dan jumlah akar bibit anggrek bulan. Berbagai tingkat konsentrasi dan lama perendaman tidak menghambat pertumbuhan daun dan akar baru.

Pengaruh konsentrasi dan lama perendaman kolkisin terhadap karakter sitologi

Identifikasi keberhasilan induksi poliploid dapat dilakukan dengan mengetahui kerapatan stomata dan jumlah kromosom. Stomata biasanya ditemukan pada bagian tumbuhan yang terdapat pada permukaan daun, baik permukaan atas maupun permukaan bawah. Stomata memiliki fungsi sebagai jalan masuk CO₂ dari udara pada proses fotosintesis, sebagai jalan penguapan (transpirasi), dan sebagai jalan pernapasan (respirasi) (Rohmah *et al.*, 2017). Hasil penelitian menunjukkan tingkat konsentrasi dan lama perendaman dalam kolkisin berpengaruh terhadap kerapatan stomata (Tabel 6.). Pemberian kolkisin akan

menurunkan kerapatan stomata. Kecuali pada perlakuan K2P2 (0,50%, 48 jam) yang mempunyai kerapatan sama dengan perlakuan kontrol. Menurut Rohmah *et al.* (2017), induksi poliploid dengan tingkat konsentrasi kolkisin yang tinggi dapat mengakibatkan ukuran stomata menjadi lebih besar sehingga jumlah stomata pada suatu bidang pandang akan menurun. Hal ini dibuktikan dengan hasil penelitian pada perlakuan K3P1 (0,75%, 24 jam) memiliki rerata kerapatan stomata yang rendah dibandingkan dengan perlakuan lain kecuali perlakuan K1P1 (0,25%, 24 jam).

Penggandaan kromosom berpengaruh terhadap kerapatan stomata. Hal tersebut disebabkan stomata tanaman poliploid mempunyai ukuran lebih besar (Sari *et al.*, 2017), sehingga akan membuat jumlah stomata dalam satu bidang akan lebih sedikit dan menurunkan nilai kerapatan stomata. Hasil penelitian Setyowati *et al.* (2013) menunjukkan perlakuan konsentrasi kolkisin pada kultur meristem batang bawang wakegi (*Allium x wakegi* Araki) menghasilkan tanaman poliploidi dengan kerapatan stomata yang lebih sedikit dibandingkan dengan tanaman kontrol.

Tabel 6. Rerata kerapatan stomata dan jumlah kromosom pada beberapa tingkat konsentrasi kolkisin dan lama perendaman

Perlakuan	Kerapatan Stomata (mm ²)	Jumlah Kromosom
K0P1 (0%, 24 jam)	81,78 bc	$2n = 2x = 16$
K0P2 (0%, 48 jam)	90,17 c	$2n = 2x = 16$
K1P1 (0,25%, 24 jam)	54,52 a	$2n = 2x = 16$; $2n = 3x = 24$
K1P2 (0,25%, 48 jam)	73,39 b	$2n = 3x = 24$; $2n = 5x = 40$
K2P1 (0,50%, 24 jam)	68,15 ab	$2n = 2x + 4 = 20$
K2P2 (0,50%, 48 jam)	90,17 c	$2n = 2x = 16$
K3P1 (0,75%, 24 jam)	54,52 a	$2n = 5x = 40$
K3P2 (0,75%, 48 jam)	72,34 b	$2n = 3x + 3 = 27$

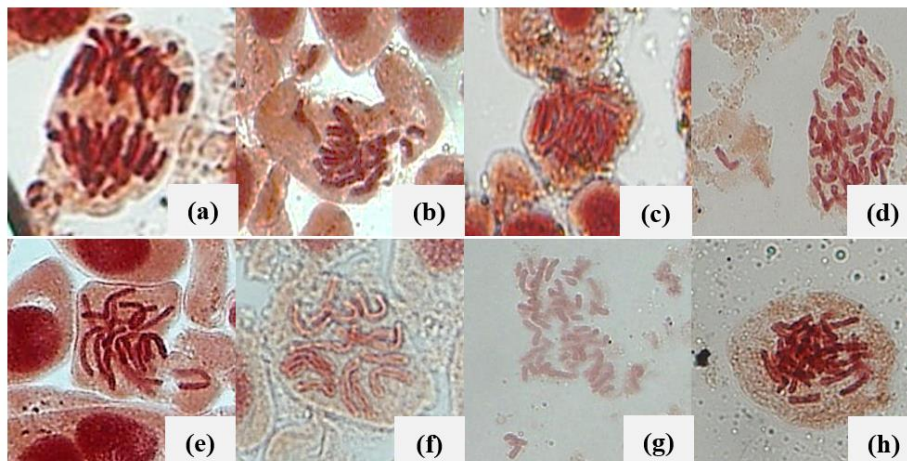
Keterangan : angka yang didampingi huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji DMRT 5%.

Tanaman poliploidi memiliki jumlah kromosom lebih banyak dari jumlah kromosom dasar. Hasil penelitian menunjukkan tingkat konsentrasi dan lama perendaman dalam kolkisin berpengaruh terhadap jumlah kromosom seperti yang dapat dilihat pada Tabel 6. Perlakuan kontrol menunjukkan jumlah yang normal, yaitu 16 kromosom. Perlakuan dengan jumlah kromosom terbanyak yaitu perlakuan K3P1 (0,75%, 24 jam) sebanyak 40 kromosom. Terdapat dua perlakuan yang menghasilkan ploidi mixoploid. Artinya, dalam tanaman tersebut terdapat sel dengan jumlah kromosom yang beragam. Seperti pada perlakuan K1P1 (0,25%, 24 jam) yang mempunyai jumlah kromosom $2x$ (diploid) dan $3x$ (triploid) dan perlakuan K1P2 (0,25%, 48 jam) mempunyai jumlah kromosom $3x$ (triploid) dan pentaploid ($5x$). Selain itu, juga terdapat jumlah kromosom yang lebih dari kelipatan jumlah kromosom dasar, seperti pada perlakuan K2P1 (0,50%, 24 jam) dan K3P2 (0,75%, 48 jam).

Jumlah kromosom yang bervariasi tersebut diakibatkan oleh tingkat konsentrasi kolkisin dan lama perendaman yang diaplikasikan. Menurut Suminah *et al.* (2002), bertambahnya jumlah kromosom tersebut

terjadi karena pemberian kolkisin dengan konsentrasi yang kritis dapat mencegah pembentukan benang-benang mikrotubuli dari gelondong inti (benang-benang spindel) sehingga pemisahan kromosom yang menandai perpindahan dari tahap metaphase ke anafase tidak berlangsung dan mengakibatkan penggandaan kromosom. Perlakuan K1P1 (0,25%, 24 jam) dan K1P2 (0,25%, 48 jam) mempunyai kromosom mixoploid. Tanaman dengan jumlah kromosom mixoploid seringkali tidak stabil sehingga dapat kembali menjadi ploid aslinya (Touchell *et al.*, 2020).

Mahyuni *et al.* (2015) menyatakan bahwa poliploid dibedakan atas euploid dan aneuploid. Pada kondisi euploid, kromosom berjumlah kelipatan kromosom dasar (x), sedangkan pada kondisi aneuploid perubahan kromosom hanya melibatkan sebagian dari jumlah kromosom dasar dimana satu atau beberapa kromosom dari genom ditambah atau dikurangi. Seperti pada perlakuan K2P1 (0,50%, 24 jam) dan K3P2 (0,75%, 48 jam) terjadi penambahan jumlah kromosom melebihi kelipatan jumlah dasar. Hal tersebut diduga terjadi duplikasi kromosom atau delesi (Pharmawati dan Wistiani, 2015).



Gambar 2. Kromosom pada perlakuan : K0P1 (a); K0P2 (b); K1P1 (c); K1P2 (d); K2P1 (e); K2P2 (f); K3P1 (g); K3P2 (h).

KESIMPULAN

Perlakuan kombinasi konsentrasi kolkisin 0,75% dan lama perendaman 24 jam memberikan hasil yang lebih baik terhadap peningkatan tinggi planlet dan panjang akar dibandingkan dengan semua kombinasi perlakuan lain. Selain itu konsentrasi kolkisin dan lama perendaman yang digunakan pada penelitian ini tidak menghasilkan tanaman tetraploid namun menghasilkan tanaman pentaploid .

DAFTAR PUSTAKA

- Abello, N.F.H., J.H. Ruiz, J.U. Rio, dan P.R.L. Pascual. 2021. In vitro chromosome doubling of tomato var. improved pope (*Lycopersicon esculentum* Mill) via colchicine. *Thai Journal of Agricultural Science*. 54(1):14–21.
- Adhiwibowo, K., G. Aurora, dan R.R. Sood. 2022. Distribusi perdagangan komoditas bawang merah di Indonesia. Badan Pusat Statistik. Jakarta.
- Albokari, M.M.A., S.M. Alzahrani, dan A.S. Alsalman. 2012. Radiosensitivity of some local cultivars of wheat (*Triticum aestivum* L.) to gamma irradiation. *Bangladesh Journal of Botany*. 41(1):1–5. doi:10.3329/bjb.v41i1.11075.
- Bakhtiar, H. 2019. Pengaruh pemberian unsur hara mikro boron terhadap pertumbuhan dan produksi bawang (*Allium cepa* L.). *Jurnal Agroristek*. 2(1):1–6.
- Darmawan, R.T dan Damanhuri. 2019. Keragaman genetik padi hitam (*Oryza sativa* L.) populasi M2 hasil mutasi kolkisin. *Jurnal Produksi Tanaman*. 7(2):291–297.
- Ermayanti, T.M., A.N. Wijayanta, dan D. Ratnadewi. 2018. Induksi poliploidi pada tanaman talas (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) kultivar kaliurang dengan perlakuan kolkisin secara *in vitro*. *Jurnal Biologi Indonesia*. 14(1):91–102.
- Hailu, M.G., K.T. Mawcha, S. Nshimiyimana, dan S. Suharsono. 2021. Garlic micro-propagation and polyploidy induction *in vitro* by colchicine. *Plant Breeding and Biotechnology*. 9(1):1–19. doi: 10.9787/PBB.2021.9.1.1.
- Holguin, A.A., C.R. Morales-Nieto, C.H. Avendaño-Arrazate, R. Corrales-Lerma, F. Villarreal-Guerrero, et al. 2019. Mean lethal dose (DL₅₀) due to gamma irradiation in Wilman lovegrass (*Eragrostis superba*). *Revista Mexicana Ciencias Pecuarias*. 10(1):227–238. doi:10.22319/rmcp.v10i1.4327.
- Lv, Z., F. Zhu, D. Jin, Y. Wu, dan S. Wang. 2021. Seed germination and seedling growth of *dendrocalumus brandisii* *in vitro*, and the inhibitory mechanism of colchicine. *Frontiers in Plant Science*. 12:1–14. doi:10.3389/fpls.2021.784581.

- Mahyuni, R., E.S.B. Girsang, dan D.S. Hanafiah. 2015.** Pengaruh pemberian kolkisin terhadap morfologi dan jumlah kromosom tanaman binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis). *Jurnal Agroteknologi*. 4(1):1815–1821.
- Pharmawati, M., dan N.L.A.J. Wistiani. 2015.** Induksi mutasi kromosom dengan kolkisin pada bawang putih (*Allium sativum* L.) kultivar 'Kesuna Bali'. *Jurnal Bios Logos*. 5(1):18–25. doi: 10.35799/jbl.5.1.2015.9317.
- Pillai, P., A. Ahmed, J. Ambika, A. Sailas, M. Anthima, et al. 2021.** Polyploidy induction by colchicine treatment in garlic (*Allium sativum* L.), and effects of polyploidy on some traits. *International Journal of Current Research in Biosciences and Plant Biology*. 8(6):23–28. doi:10.20546/ijcrbp.2021.806.002.
- Prayudi, B., R. Pangestuti, dan A.C. Kusumasari. 2015.** Produksi umbi mini bawang merah asal *True Shallot Seed* (TSS) in Jatnika, M.J.A. Syah, D. Widiastoety, M.P. Yudfy, et al. (eds) Inovasi hortikultura pengungkit peningkatan pendapatan rakyat. IAARD Press. Jakarta.
- Rahayu, E.M.D., D. Sukma, M. Syukur, S.A. Aziz, dan Irawati. 2015.** Induksi poliploidi menggunakan kolkisin secara *in vivo* pada bibit angrek bulan (*Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume). *Buletin Kebun Raya*. 18(1):41–48.
- Ren, J., X. Wu, C. Song, Y. Liang, W. Gao, dan Y. Wang. 2018.** Induction of polyploid tillered onion using colchicine and pendimethalin. *Sains Malaysiana*. 47(11): 2617–2624. doi: 10.17576/jsm-2018-4711-04.
- Rohmah, A., T. Rahayu, dan A. Hayati. 2017.** Pengaruh pemberian kolkisin terhadap karakter stomata daun zaitun (*Olea europaea* L.). *Jurnal Ilmiah Biosainstropis*. 2(2):10–17.
- Sari, B.P., Karno, dan S. Anwar. 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):39–48. doi: 10.14710/joac.1.2.39–48.
- Sari, Y., Sobir, M. Syukur, dan D. Dinarti. 2019.** Induksi poliploid TSS (*True Shallot Seed*) bawang merah varietas trisula menggunakan kolkisin. *Jurnal Hortikultura Indonesia*. 10(3):145–153. doi: 10.29244/jhi.10.3.145–153.
- Setyowati, M., E. Sulistyaningsih, dan A. Purwantoro. 2013.** Induksi poliploidi dengan kolkisina pada kultur meristem batang bawang wakegi (*Allium x wakegi* Araki). *Ilmu Pertanian*. 16(1):58–76.
- Sitepu, B.H., S. Ginting, dan Mariati. 2013.** Respon pertumbuhan dan produksi bawang merah (*Allium ascalonicum* L. Var. Tuktuk) asal biji terhadap pemberian pupuk kalium dan jarak tanam. *Jurnal Online Agroekoteknologi*. 1(3):711–724.
- Suminah, Sutarno, dan A.D. Setyawan. 2002.** Induksi poliploidi bawang merah (*Allium ascalonicum* L.) dengan pemberian kolkisin. *Biodiversitas*. 3(1): 174–180. doi:10.13057/biodiv/d030102.
- Touchell, D.H., I.E. Palmer, dan T.G. Ranney. 2020.** *In vitro* ploidy manipulation for crop improvement. *Frontiers in Plant Science*. 11(722):1–11. doi: 10.3389/fpls.2020.00722.
- Wiendra, N.M.S. dan M. Pharmawati. 2019.** Morphological and anatomical changes by colchicine in seedling of *Impatiens balsamina* L. *Advances in Tropical Biodiversity and Environmental Sciences*. 3(2):33–36. doi: 10.24843/atbes.v03.i02.p04.
- Wu, F.H., X.D. Yu, N.S. Zhuang, G.D. Liu, dan J.P. Liu. 2015.** Induction and identification of *Stylosanthes guianensis* tetraploids. *Genetics and Molecular Research*. 14(4):12692–12698. doi:10.4238/2015.October.19.13.