

The Effect of Colchicine Concentration and Immersion Time on Growth and Morphological Characters of *Acacia crassicarpa* A. Cunn. Ex Benth *In-vitro* Explants

Frederika Sinuraya^{1,2*}, Dewi Indriyani Roslim¹, Deviona¹, Suharyanto²

¹Program Studi Pascasarjana Ilmu Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Riau, Jl. HR Soebrantas Km 12,5, Kampus Binawidya, Pekanbaru, Indonesia;

²Departemen Bioteknologi, R&D Genetics, Sinarmas Forestry, Jl. Raya Minas-Perawang Km. 26, Desa Pinang Sebatang, Kecamatan Tualang, Kabupaten Siak, 28772, Indonesia;

Article History

Received : March 18th, 2023

Revised : May 15th, 2023

Accepted : June 11th, 2023

*Corresponding Author: **Frederika Sinuraya,**

Program Studi Pascasarjana Ilmu Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Riau, Jl. HR Soebrantas Km 12,5, Kampus Binawidya, Pekanbaru, Indonesia;

Email:

frederika.sinuraya6722@grad.unri.ac.id

Abstract: The production of polyploidy with a chemical mutagen such as colchicine is one strategy that can be applied to improve the genetic traits and wood properties of acacia trees. The aim of this study was to determine the effects of colchicine at various concentrations and immersion times on the percentage of surviving explants, percentage of rooted explants, and morphological traits of shoot and root *A. crassicarpa in-vitro*. A completely randomized design (CRD) with two factors was used in this study. The first factor was the concentration of colchicine solution with five levels (0,00%, 0,02%, 0,04%, 0,06%, and 0,08%), and the second factor was the immersion time with three levels (24, 48, and 72 hours). There were fifteen treatment combinations with each treatment repeated three times. Data were analyzed by ANOVA and Duncan's multiple range test at 5% significance level. The results showed that the treatment combination of colchicine concentration with immersion time showed a significant effect on the percentage of surviving explants, number of leaves, number of shoots and height of *A. crassicarpa* explants, but did not significantly affect on the number of roots, length of the root and percentage of rooted *A. crassicarpa* explants.

Keywords: *Acacia crassicarpa*, chromosome, colchicine, *in-vitro*, polyploidy.

Pendahuluan

Acacia crassicarpa merupakan salah satu jenis tanaman hutan cepat tumbuh (*fast growing species*) yang mampu beradaptasi dan toleran terhadap kondisi lingkungan yang ekstrim. *A. crassicarpa* menunjukkan pertumbuhan yang sangat cepat dan merupakan jenis tanaman hutan yang mempunyai masa panen lebih kurang 5 tahun. Tanaman ini mampu tumbuh pada lahan yang miskin hara (*marginal*), tanah berbatu serta tanah yang telah terdegradasi. Tanaman *A. crassicarpa* bahkan mampu tumbuh dengan baik pada tanah yang basah (rawa, terendam secara berkala) dengan kandungan bahan

organik yang tinggi dan pH rendah (3,5 – 6,0) (Thomson, 1994). Pohon akasia menguntungkan secara ekonomi dan bisa dimanfaatkan kayunya untuk diolah menjadi bubur kayu (*wood pulp*), kertas, dan bahan bakar (*fuel*) yang potensial untuk produksi *charcoal*. Pohon ini juga menguntungkan untuk lingkungan karena mampu memperbaiki sifat kimia, biologi, dan fisik tanah (*soil improver*), potensial untuk mengontrol erosi, dan sebagai *revegetator* (Eldoma dan Awang, 1999).

Poliploidi merupakan suatu proses penggandaan jumlah set kromosom sehingga menghasilkan organisme yang mempunyai jumlah set kromosom berlipat (lebih dari 2n)

(Chahal dan Gosal, 2002; Suryo, 1995; Hetharie, 2003). Kolkisin merupakan bahan kimia antimitotik yang menghambat proses pembelahan mitosis sel, sehingga menyebabkan penggandaan jumlah kromosom. Kolkisin apabila diberikan pada tanaman dapat menyebabkan poliploid pada individu tersebut (Suryo, 1995; Sofia, 2007; Chahal dan Gosal, 2002). Morfologi tanaman poliploid secara alami berukuran lebih besar dibandingkan dengan tanaman diploidnya, seperti ukuran daun lebih lebar, diameter batang lebih besar, bunga dan buah yang lebih besar dan tanaman lebih tinggi (Kuckuck *et al.*, 1991).

Beberapa hasil penelitian pada tanaman hutan menunjukkan bahwa tanaman poliploid mempunyai kandungan serat yang lebih tinggi dan panjang dibandingkan tanaman diploid. Menurut Griffin *et al.* (2015), serat dari sampel kayu tetraploid *Acacia mangium* dan *Acacia hybrid* secara signifikan lebih panjang (883 μm) dan lebih lebar (20,0 μm) dari tanaman diploidnya (683 μm dan 15,6 μm), dinding sel kayu tetraploid yang lebih tebal menghasilkan bubur kayu yang lebih baik dan kekuatan sobek yang lebih tinggi, karakteristik bubur kayu yang dihasilkan dari tanaman tetraploid menyerupai bubur kayu yang berasal dari jenis kayu lunak. Souza *et al.* (2020) melaporkan bahwa hasil analisa sampel kayu tanaman tetraploid *Eucalyptus hybrid* (*E. grandis* × *E. urophylla*) mempunyai *basic density* 13% lebih rendah dibandingkan tanaman diploidnya dan mempunyai panjang serat rata-rata 18% lebih panjang dibandingkan klon diploid.

Penelitian tentang induksi poliploidi pada tanaman *A. crassicaarpa* sudah banyak dilakukan dan terus mengalami perkembangan. Lam *et al.* (2014) melakukan induksi penggandaan kromosom pada benih *A. crassicaarpa* dengan perendaman menggunakan kolkisin berkonsentrasi 0,02% dan diperoleh 12,87% bibit tetraploid. Keberhasilan induksi tanaman tetraploid dari diploidnya secara *in-vitro* dipengaruhi oleh banyak faktor, diantaranya adalah sumber eksplan, jenis eksplan dan jenis mutagen dan konsentrasi senyawa mutagen yang digunakan, lama perlakuan dan waktu penetrasi dari senyawa mutagen tersebut

(Allum *et al.* 2007). Jika konsentrasi larutan kolkisin dan lamanya waktu yang digunakan saat perlakuan kurang tepat, maka tanaman poliploidi belum dapat diperoleh. Sebaliknya jika konsentrasinya terlalu tinggi atau waktunya perlakuan terlalu lama, maka kolkisin memberikan pengaruh negatif, yaitu penampilan tanaman menjadi abnormal, sel-sel banyak yang rusak (*browning*) atau bahkan menyebabkan tanaman menjadi mati (Suryo, 1995).

Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui pengaruh perlakuan kolkisin dengan tingkat konsentrasi dan lama perendaman berbeda terhadap persentase eksplan hidup dan karakter morfologi, seperti tinggi eksplan, jumlah tunas dan jumlah daun serta kemampuan berakar eksplan *A. crassicaarpa*. Hasil penelitian ini diharapkan bisa menjadi dasar dalam aplikasi pemuliaan poliploidi pada *A. crassicaarpa* menggunakan kolkisin.

Bahan dan Metode

Waktu dan tempat penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Juli 2022 - Desember 2022 di Laboratorium Bioteknologi, R&D Genetics, Sinarmas Forestry.

Bahan dan alat

Bahan tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tunas pucuk kultur *A. crassicaarpa* klon A pada tahap multiplikasi. Media multiplikasi menggunakan MS (Murashige dan Skoog, 1962) dengan 1 mg/l hormon 6-Benzilaminopurin (BAP; (Sigma Aldrich, USA), dimana untuk perlakuan perendaman plantlet dengan kolkisin, media tersebut digunakan dalam bentuk cairan. Sedangkan untuk tahap subkultur, digunakan media MS semi padat + 1 mg/L BAP dengan penambahan 30 g/l gula dan 5 g/l BioAgar (Agarindo Bogatama, Indonesia). pH larutan media diatur pada 5,8 dengan penambahan kalium hidroksida (KOH) atau asam klorida (HCl). Alat pH meter (Eutec pH700, USA) dikalibrasi sebelum digunakan dengan menggunakan buffer standar pH 7 dan pH 4.

Peralatan laboratorium yang digunakan meliputi: pipet mikro, timbangan digital, pH

meter, *magnetic stirrer*, *erlenmeyer*, *beaker*, pengaduk, pipet volumetrik, autoklaf, *shaker*, gelas ukur, *laminar air flow cabinet (LAF)*, *sterilizer*, wadah alkohol, *hand sprayer*, botol kultur, rak kultur, oven, *petridish*, *scalpel*, gunting, pinset, bunsen, korek api, tissue steril, *plastic wrap*, botol pyrex, *micro tube*, filter membran 0,22 μm , label, spidol, penggaris, *refrigerator*, laptop, buku, pulpen, dan kamera.

Rancangan percobaan

Rancangan acak lengkap (RAL) dengan 2 faktor digunakan dalam penelitian ini. Faktor pertama adalah konsentrasi kolkisin dengan 5 taraf: 0,00%, 0,02%, 0,04%, 0,06%, dan 0,08%, dan faktor kedua adalah lama perendaman dengan 3 taraf: 24 jam, 48 jam, dan 72 jam. Setiap perlakuan diulang 3 kali, dengan setiap ulangan terdiri dari lima botol kultur, berisi masing-masing satu tunas, sehingga terdapat total 225 individu tunas sebagai satuan percobaan yang diamati.

Pembuatan larutan kolkisin

Larutan stok kolkisin 2% disiapkan dengan melarutkan 1 g kolkisin (Sigma Aldrich, USA) dalam beberapa tetes larutan DMSO 5% (Sigma Aldrich, USA) dan ditambahkan air steril hingga mencapai total volume 50 ml. Sterilisasi larutan kolkisin dilakukan dengan metode filtrasi menggunakan filter membran 0,22 μm (Merck Millipore, USA) di dalam LAF. Larutan stok kolkisin kemudian diencerkan untuk mendapatkan konsentrasi kolkisin sesuai dengan perlakuan.

Induksi poliploidi dan inkubasi

Tunas *A. crassicaarpa in-vitro* digunting sekitar 0,5 cm dari kultur, kemudian dilakukan perendaman dalam larutan MS cair + konsentrasi kolkisin sesuai dengan masing-masing perlakuan. Pelaksanaan perendaman dilakukan di dalam LAF dan peralatan yang dipergunakan dalam keadaan steril. Untuk memaksimalkan proses perendaman, botol perlakuan dikocok dengan menggunakan *shaker* pada kecepatan 100 rpm selama 24-72 jam. Setelah perlakuan, tunas di tanam pada media MS semi padat + hormon BAP 1 mg/l. Suhu ruang inkubasi diatur pada 26 \pm 2 $^{\circ}\text{C}$ dan penyinaran selama 16 jam/hari dengan intensitas 2.000-3.000 lumen. Tunas

diinkubasi selama 16 minggu setelah perlakuan (MSP).

Pengamatan dan analisis data

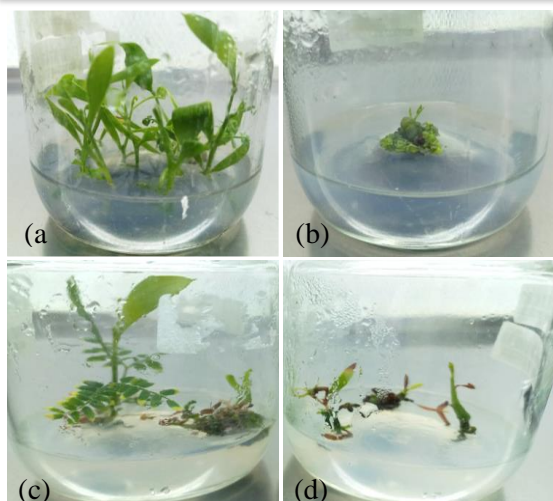
Pengamatan variabel meliputi: persentase eksplan hidup, tinggi eksplan, jumlah tunas, jumlah daun, jumlah tunas, jumlah akar, panjang akar, dan persentase tanaman berakar dilakukan pada umur 20 hari setelah dimasukkan ke media perakaran. Data yang diperoleh dianalisis dengan analisis sidik ragam untuk mengetahui interaksi antara konsentrasi kolkisin dengan lama waktu perendaman. Apabila sidik ragam yang diperoleh berpengaruh nyata, selanjutnya dilakukan uji DMRT pada taraf nyata 5%. Pengolahan data menggunakan program SAS[®] on demand for academics (SAS institute Inc, USA).

Hasil dan Pembahasan

Persentase eksplan hidup

Analisis ANOVA menunjukkan konsentrasi kolkisin, lama perendaman, dan interaksi antar perlakuan memberikan pengaruh sangat nyata ($P < 0.01$; Tabel 1) terhadap persentase eksplan hidup tunas *A. crassicaarpa in vitro*. Peningkatan konsentrasi kolkisin menyebabkan penurunan persentase eksplan hidup. Pada perlakuan kolkisin 0,00%, persentase eksplan hidup mencapai 100%, dan menurun dengan semakin meningkatnya konsentrasi kolkisin yang digunakan, dimana kolkisin konsentrasi 0,08% menghasilkan rata-rata eksplan hidup terendah (68,89%).

Hasil penelitian ini, memiliki kesamaan dengan penelitian-penelitian sebelumnya yaitu pada eksplan tunas stevia (Rodiansyah, 2006), benih *A. crassicaarpa* (Lam et al., 2014), tunas pucuk jeruk Siam Simadu (Yulianti, 2015). Kolkisin bersifat toksik sehingga pertumbuhan tunas setelah diberikan perlakuan kolkisin terhambat dibandingkan tanpa perlakuan. Interaksi antara perlakuan konsentrasi kolkisin dan lama perendaman menunjukkan respon berbeda pada persentase eksplan hidup untuk setiap kombinasi perlakuan. Perbedaan ini disebabkan kondisi internal sel pada setiap tanaman yang berbeda sehingga sensitivitas sel dalam merespon kolkisin berbeda menyebabkan persentase hidup eksplan tunas juga bervariasi (Ermayanti, 2018).



Gambar 1. Kondisi tunas *A. crassicarpa in-vitro* menunjukkan pertumbuhan normal pada kombinasi perlakuan 0,00% × 24 jam (a), dan pertumbuhan abnormal pada kombinasi perlakuan 0,08% × 72 jam (b, c, dan d).

Penampakan morfologi dari tunas *A. crassicarpa in-vitro* pada perlakuan konsentrasi kolkisin tertinggi (0,08%) menunjukkan adanya abnormalitas, dimana eksplan membentuk kalus, batang berwarna hijau gelap, pendek, daun tebal, dan ukuran daun lebih kecil dibandingkan perlakuan kolkisin 0,00% (Gambar 1), sedangkan pada perlakuan yang lain tidak terlihat adanya gejala abnormalitas. Sel dalam jaringan yang diberi perlakuan konsentrasi kolkisin yang lebih tinggi mengalami keracunan, konsentrasi kolkisin yang tinggi dan lama waktu perendaman yang lebih lama, mengakibatkan proses difusi kolkisin lebih jauh masuk ke dalam jaringan eksplan tunas sehingga kolkisin yang masuk ke dalam jaringan tanaman lebih banyak dan merusak sel, sehingga sel banyak yang mati dan eksplan menjadi cokelat (*browning*) (Rodiansyah, 2007).

Tabel 1. Pengaruh konsentrasi kolkisin dan lama perendaman terhadap jumlah daun, jumlah tunas, tinggi pada eksplan tunas *A. crassicarpa in vitro*

Perlakuan	Persentase eksplan hidup (%)	Jumlah daun	Jumlah tunas	Tinggi tunas (cm)
<i>Konsentrasi kolkisin</i>	<i>P=0,00</i>	<i>P=0,00</i>	<i>P=0,00</i>	<i>P=0,00</i>
0,00%	100,00±00,00a	10,37±2,15a	2,06±0,40a	2,44±0,32a
0,02%	95,56±13,33a	6,68±3,66b	1,44±0,49cd	1,72±0,67b
0,04%	82,22±18,56b	6,18±2,72bc	1,56±0,49bc	1,64±0,36b
0,06%	84,44±16,67b	4,91±2,24c	1,25±0,26cde	1,64±0,46b
0,08%	68,89±17,64c	3,02±1,32d	1,14±0,15ef	1,14±0,21c
<i>Lama perendaman</i>	<i>P=0,00</i>	<i>P=0,00</i>	<i>P=0,00</i>	<i>P=0,00</i>
24 jam	94,66±9,15a	8,03±2,83a	1,82±0,44a	2,03±0,44a
48 jam	84,00±21,65b	5,98±3,44b	1,38±0,37b	1,63±0,62b
72 jam	80,00±18,52b	4,69±3,37c	1,28±0,49b	1,49±0,67b
<i>Konsentrasi kolkisin × Lama perendaman</i>	<i>P=0,00</i>	<i>P=0,00</i>	<i>P=0,00</i>	<i>P=0,00</i>
0,00% × 24 jam	100,00±00,00a	8,67±1,86bc	2,20±0,35a	2,19±1,02ab
0,00% × 48 jam	100,00±00,00a	11,80±1,91a	1,93±0,31a	2,68±1,31a
0,00% × 72 jam	100,00±00,00a	10,63±2,01ab	2,05±0,61a	2,45±1,12a
0,02% × 24 jam	100,00±00,00a	11,13±0,64ab	2,00±0,35a	2,51±1,14a
0,02% × 48 jam	100,00±00,00a	5,47±2,21de	1,27±0,31b	1,46±0,57de
0,02% × 72 jam	86,67±23,09a	3,43±0,74ef	1,07±0,12b	1,18±0,74de
0,04% × 24 jam	100,00±00,00a	9,47±0,76abc	2,13±0,23a	1,96±0,75bc
0,04% × 48 jam	80,00±00,00ab	4,67±0,99def	1,27±0,23b	1,37±0,44de
0,04% × 72 jam	66,67±23,09b	4,40±1,93def	1,27±0,31b	1,65±0,92cd
0,06% × 24 jam	93,33±11,55a	6,87±2,39cd	1,47±0,12b	2,01±0,93bc
0,06% × 48 jam	93,33±11,55a	4,90±1,49def	1,28±0,30b	1,65±0,75cd
0,06% × 72 jam	66,67±11,55b	2,97±0,85ef	1,00±0,00b	1,19±0,18de
0,08% × 24 jam	80,00±0,00ab	4,00±1,20def	1,28±0,10b	1,41±0,44de
0,08% × 48 jam	46,67±11,55c	3,07±1,60ef	1,13±0,12b	1,05±0,39e
0,08% × 72 jam	80,00±0,00ab	2,00±0,00f	1,00±0,00b	0,97±0,22e

Keterangan: Angka yang di ikuti huruf berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata berdasarkan uji DMRT pada tingkat kepercayaan $\alpha=5\%$.

Jumlah daun

A. crassicaarpa mempunyai dua jenis daun, yaitu daun asli (*compound*) daun semu (*phyllode*). Bentuk daun semu *A. crassicaarpa* panjang seperti pita dari pangkal daun runcing kemudian ditengah melebar sampai ujung meruncing, dan daun berwarna hijau. Menurut Nurwanti (2010), tunas yang berasal dari *in-vitro* mempunyai ketebalan daun yang tipis, karena proses fotosintesis yang sangat minimal. Konsentrasi kolkisin dan lama perendaman berpengaruh sangat nyata ($P<0.01$) terhadap jumlah daun (Tabel 1). Jumlah daun tertinggi (11,80) diperoleh pada kombinasi perlakuan 0,00% \times 48 jam. Jumlah daun cenderung menurun dengan peningkatan konsentrasi kolkisin. Pertambahan jumlah daun kelihatannya terhambat dengan adanya perlakuan konsentrasi kolkisin yang semakin tinggi.

Hasil yang berbeda ditunjukkan oleh penelitian Permatasari (2007) dimana rerata jumlah daun tunas *Stevia rebaudina* tertinggi terdapat pada perlakuan kolkisin 0,04% dengan lama perendaman 24 jam. Kolkisin memberikan pengaruh yang berbeda untuk setiap jenis tanaman. Terhambatnya pertumbuhan daun diduga karena proses pembelahan sel yang abnormal akibat pengaruh kolkisin. Penelitian yang dilakukan Wang dan Xu (1992) menunjukkan lamanya pemunculan daun pertama yang tumbuh lama merupakan indikasi terjadinya penggandaan kromosom pada benih kapas (*Gossypium sp.*). Pemberian kolkisin dapat mengakibatkan penundaan pertumbuhan akibat jaringan yang rusak dan memerlukan waktu lama untuk tumbuh (Damayanti dan Mariska, 2003).

Pembelahan sel menjadi lambat disebabkan jumlah kromosom yang mengganda (Suryo, 2007). Terhambatnya pertambahan jumlah daun setelah perlakuan kolkisin di awal pertumbuhan sebagai indikator terjadinya penggandaan kromosom juga dikonfirmasi oleh beberapa hasil penelitian pada jenis tanaman berbeda seperti pada tunas tanaman jahe *in-vitro* (Ariyanto, 2010), sirsak (Maryati, 2012), tunas eksplan binahong (Maryuni *et al.*, 2015), benih kacang hijau (Sinaga *et al.*, 2014), dan benih jagung (Aili *et al.*, 2016). Perubahan morfologi pada tanaman akibat pemberian kolkisin sangat

beragam, setiap tanaman memiliki respon yang berbeda-beda apabila diberi perlakuan kolkisin, dan kolkisin yang diberikan pada tanaman tidak mempengaruhi semua sel tanaman, tetapi hanya sebagian sel saja dan masuknya zat kimia kolkisin ke dalam sel tanaman tidak dalam waktu yang bersamaan (Aili *et al.*, 2016).

Adanya pengaruh yang berbeda pada sel tanaman disebabkan kolkisin hanya efektif pada sel tanaman yang sedang aktif membelah. Mutasi akibat kolkisin pada benih kacang hijau tidak hanya memberikan dampak perubahan jumlah dan ukuran daun yang lebih besar dibandingkan kontrolnya, namun juga dapat berdampak pada penyusutan ukuran daun (Herman *et al.*, 2013). Mengacu pada hasil penelitian ini perlakuan kolkisin pada eksplan tunas *A. crassicaarpa* menyebabkan pertumbuhan daun yang abnormal dan jumlah yang menurun dengan semakin tinggi konsentrasi yang digunakan dan berbeda nyata dibandingkan konsentrasi kolkisin 0,00%. Parameter ini dipertimbangkan dapat dijadikan penanda awal terjadinya poliploidisasi menggunakan kolkisin pada eksplan tunas *A. crassicaarpa*.

Jumlah tunas

Konsentrasi kolkisin, lama perendaman dan interaksi antara konsentrasi dan lama perendaman dengan kolkisin berpengaruh sangat nyata ($P<0,00$) terhadap jumlah tunas (Tabel 1). Pengaruh kolkisin terhadap pertumbuhan tunas baru pada setiap perlakuan memberikan respon yang beragam. Jumlah tunas baru pada kombinasi perlakuan kolkisin 0,00% dan pada semua waktu perendaman (24, 48, dan 72 jam), 0,02% \times 24 jam, dan 0,04% \times 24 jam menghasilkan jumlah tunas yang secara nyata lebih tinggi dibandingkan perlakuan lainnya dengan konsentrasi kolkisin lebih tinggi dan waktu perendaman lebih lama. Secara umum jumlah tunas terbanyak diperoleh pada perlakuan tanpa kolkisin pada semua lama perendaman. Kombinasi perlakuan kolkisin 0,08% \times perendaman 72 jam memiliki jumlah tunas baru terendah.

Jumlah tunas pada perlakuan kolkisin 0.00% lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan kolkisin lainnya. Pertumbuhan tunas

baru pada media perlakuan menghambat pertumbuhan tunas baru pada eksplan *A. crassicaarpa* secara *in-vitro*, hal ini bisa dilihat dari rata-rata jumlah tunas pada perlakuan kolkisin mulai dari konsentrasi 0,02%-0,08% dengan berbagai lama perendaman yang menunjukkan penurunan jumlah tunas baru. Perlakuan kolkisin tertinggi (0,08%) dengan lama perendaman terlama (72 jam) menghasilkan jumlah tunas paling rendah dibandingkan kombinasi perlakuan lainnya. Hasil penelitian Dwiningsih (2004) menunjukkan bahwa pemberian kolkisin pada tunas jahe emprit dalam kultur *in-vitro* menyebabkan jumlah tunas lebih rendah dibandingkan perlakuan tanpa kolkisin.

Penelitian pada tanaman yang sama menyebabkan pertumbuhan anakan berjumlah sedikit pada konsentrasi kolkisin 0,25% (Rahayuningsih, 2006). Akhir pengamatan perlakuan kolkisin 0,06% selama 48 jam tinggi tunas lebih besar dan berbeda nyata dibandingkan dengan perlakuan kolkisin 0,02% selama 48 jam dan 0,02% kolkisin selama 72 jam (Rodiansah, 2007). Hal ini diduga adanya tambahan zat pengatur tumbuh dari luar, yaitu saat perendaman dan media tanam kultur yang menyebabkan perubahan hormon di dalam sel tunas (endogen sel). Adanya perubahan fitohormon sel tunas berpengaruh terhadap keseimbangan di dalam tubuh tunas dan proses fisiologi tunas.

Komposisi media yang digunakan dalam penelitian ini untuk larutan perendaman dan media tanam sama, yaitu media MS dan hormon jenis sitokinin (BAP). Penambahan auksin dan sitokinin eksogen akan mengubah level zat pengatur tumbuh (ZPT) endogen sel (Gunawan, 1992). Perlakuan kolkisin 0,06% dan 0,08% menunjukkan perbedaan yang nyata dengan tanpa perlakuan kolkisin, dimana pada perlakuan kolkisin dengan konsentrasi tinggi menghasilkan jumlah tunas lebih rendah dibandingkan tanpa perlakuan kolkisin. Hal ini mengindikasikan terjadinya penggandaan kromosom seperti pada hasil penelitian Handayani *et al.*, (2015), dimana jumlah tunas tanaman jambu biji merah tetraploid dan mixoploid lebih sedikit dibandingkan jumlah tunas eksplan diploidnya.

Tinggi eksplan

Pengukuran tinggi eksplan dilakukan dari pangkal batang sampai ujung titik tumbuh. Pada 12 MSP, pertumbuhan tinggi tunas eksplan antara perlakuan perendaman dengan kolkisin dan perlakuan tanpa kolkisin terlihat perbedaan yang sangat signifikan. Berdasarkan Tabel 1 diketahui bahwa interaksi antara konsentrasi dan lama perendaman dengan kolkisin berpengaruh nyata terhadap tinggi eksplan. Pertambahan tinggi eksplan *A. crassicaarpa* setelah perlakuan perendaman dengan kolkisin terhambat dibandingkan perlakuan tanpa kolkisin. Pertambahan tinggi tunas paling terhambat pada perlakuan konsentrasi 0,08%. Pertambahan tinggi tunas *A. crassicaarpa* terhambat karena terdapat kerusakan fisiologis pada tunas generasi pertama dan sering terjadi pada proses induksi poliploid (Permadi *et al.*, 1991).

Hasil yang diperoleh dari penelitian ini memiliki kesamaan dengan penelitian-penelitian sebelumnya yaitu penurunan tinggi tunas pada tanaman kubis (*Brassica oleraceae*) (Mihu *et al.*, 1989), gerbera (Honkanen *et al.*, 1992), *Hibiscus sp.* (Sri, 1999), tunas *Stevia rebaudiana* (Permatasari, 2007), eksplan tunas jati (Fauzan *et al.*, 2017), tunas *in-vitro* tanaman berkayu (*Neolamarckia cadamba*) (Eng *et al.*, 2021). Tinggi tunas tertinggi diperoleh pada perlakuan kolkisin 0,00% dan tinggi tunas terendah dihasilkan pada perlakuan konsentrasi kolkisin 0,08%. Bibit *A. crassicaarpa* tetraploid dan oktaploid mempunyai tinggi yang lebih rendah dibandingkan tanaman diploidnya (Lam *et al.*, 2014). Terhambatnya pertambahan tinggi tunas disebabkan karena proses pembelahan sel yang abnormal atau terjadinya penggandaan kromosom akibat pengaruh kolkisin. Semakin tinggi konsentrasi kolkisin yang digunakan, maka semakin besar penghambatan terhadap tinggi tanaman (Permadi *et al.*, 1991). Selain itu, pembelahan sel menjadi lambat disebabkan karena terjadinya penggandaan jumlah kromosom (Suryo, 1995).

Jumlah akar

Hasil analisis ANOVA, konsentrasi kolkisin, lama perendaman dan interaksinya tidak berpengaruh nyata terhadap peubah jumlah akar (Tabel 2). Kombinasi taraf konsentrasi dan lama perendaman dengan kolkisin tidak menyebabkan pengaruh nyata

terhadap penambahan jumlah akar. Tanaman tanpa perlakuan kolkisin menghasilkan jumlah akar terbanyak dibandingkan dengan tanaman yang diberi perlakuan kolkisin. Hasil penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian Rahayu *et al.*, (2015) pada bibit tanaman anggrek bulan dimana perlakuan kolkisin menunjukkan tidak berpengaruh nyata terhadap jumlah akar tanaman. Konsentrasi kolkisin tidak berpengaruh nyata terhadap jumlah akar, sehingga tidak bisa dijadikan sebagai indikator awal untuk mengetahui terjadinya poliploidisasi.

Panjang akar

Morfologi akar *A. crassicarpa* bulat dan tidak berbulu. Konsentrasi kolkisin, lama

perendaman dan interaksinya tidak berpengaruh nyata terhadap panjang akar (Tabel 2). Setiap perlakuan menunjukkan pertumbuhan akar yang beragam, secara umum panjang akar tertinggi diperoleh pada perlakuan kolkisin 0,06% dengan lama perendaman 24 jam. Interaksi antara konsentrasi dan lama perendaman dengan kolkisin tidak menyebabkan pertumbuhan akar terhambat. Hal ini diduga hasil produk gen (enzim) sebagian besar digunakan untuk proses pembelahan sel. Akibat adanya penambahan jumlah kromosom dan pembelahan sel yang tidak normal menyebabkan pertumbuhan akar terhambat. Lambatnya pembelahan sel disebabkan jumlah kromosom yang mengganda (Suryo, 1995).

Tabel 2. Pengaruh konsentrasi kolkisin dan lama perendaman terhadap jumlah akar, panjang akar, dan persentase eksplan berakar pada eksplan *A. crassicarpa in vitro*

Perlakuan	Jumlah akar	Panjang akar (cm)	Persentase eksplan berakar (%)
<i>Konsentrasi kolkisin</i>	<i>P=0,45</i>	<i>P=0,32</i>	<i>P=0,16</i>
0,00%	1,38±0,85	4,31±1,36	55,56±18,97
0,02%	1,17±0,53	4,13±1,88	54,06±20,08
0,04%	1,00±0,55	4,73±0,95	43,03±17,95
0,06%	0,94±0,44	3,88±1,74	49,21±14,93
0,08%	0,92±0,40	3,35±1,42	37,54±23,65
<i>Lama perendaman</i>	<i>P=0,39</i>	<i>P=0,94</i>	<i>P=0,10</i>
24 jam	1,20±0,67	4,09±1,51	52,34±20,19
48 jam	0,91±0,44	4,17±1,69	51,43±19,99
72 jam	1,13±0,60	3,99±1,40	39,87±17,43
<i>Konsentrasi kolkisin × Lama perendaman</i>	<i>P=0,63</i>	<i>P=0,07</i>	<i>P=0,07</i>
0,00% × 24 jam	1,37±1,33	4,57±1,47	51,87±33,49
0,00% × 48 jam	0,80±0,26	4,83±1,85	58,23±11,84
0,00% × 72 jam	1,97±0,23	3,53±0,61	56,57±11,97
0,02% × 24 jam	1,07±0,25	3,83±0,65	52,77±22,07
0,02% × 48 jam	1,03±0,90	3,57±3,20	67,20± 8,94
0,02% × 72 jam	0,73±0,42	5,00±1,31	42,23±23,91
0,04% × 24 jam	1,47±0,81	3,83±0,42	32,93± 9,39
0,04% × 48 jam	0,97±0,15	4,97±0,75	59,50±16,39
0,04% × 72 jam	1,07±0,55	5,40±0,98	36,67±17,68
0,06% × 24 jam	1,10±0,44	5,77±1,11	63,77± 8,50
0,06% × 48 jam	1,00±0,46	3,13±1,21	50,97± 3,76
0,06% × 72 jam	0,90±0,53	2,73±1,00	32,90± 9,28
0,08% × 24 jam	1,00±0,36	2,43±1,76	60,37±15,06
0,08% × 48 jam	0,77±0,40	4,33±0,74	21,27±19,69
0,08% × 72 jam	1,00±0,61	3,30±1,35	31,00±19,46

Konsentrasi kolkisin dan lama perendaman tidak berpengaruh nyata terhadap panjang akar sehingga tidak bisa dijadikan sebagai indikator awal untuk mengetahui terjadinya poliploidisasi pada eksplan tunas *A.*

crassicarpa. Peubah panjang akar kemungkinan tidak berhubungan erat dengan tingkat ploidi eksplan tunas *A. crassicarpa*, sehingga tidak bisa dijadikan sebagai variabel pengamatan untuk mengidentifikasi tahap awal tanaman

tetraploid. Penemuan ini berbeda dengan hasil penelitian sebelumnya, tanaman tetraploid mempunyai panjang akar yang lebih panjang dibandingkan diploidnya yaitu pada tanaman *Prunus laurocerasus* (Schulze *et al.* 2015) dan *Ligustrum japonicum* (Fetouh *et al.*, 2016).

Persentase tanaman berakar

Pengamatan terhadap persentase tunas yang berakar bertujuan untuk melihat kemampuan eksplan berakar setelah diberi perlakuan kolkisin. Pengamatan dilakukan setelah induksi perakaran eksplan tunas di media perakaran selama 20 hari dengan cara menghitung langsung jumlah eksplan yang berakar. Konsentrasi kolkisin, lama perendaman dan interaksinya tidak berpengaruh nyata terhadap persentase tanaman berakar (Tabel 2). Setiap kombinasi perlakuan menunjukkan pertumbuhan akar yang beragam dan terhambat dibandingkan kontrol. Secara umum persentase tanaman berakar tertinggi diperoleh pada kontrol.

Konsentrasi kolkisin dan lama perendaman tidak berpengaruh nyata terhadap persentase eksplan berakar, sehingga tidak bisa dijadikan sebagai indikator awal untuk mengetahui terjadinya poliploidisasi pada eksplan tunas *A. crassicaarpa*. Penemuan ini berbeda dengan beberapa hasil penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa tanaman tetraploid mempunyai persentase eksplan berakar yang lebih rendah dan berbeda nyata dibandingkan tanaman diploidnya yaitu pada tanaman *Prunus laurocerasus* (Schulze *et al.* 2015), *Ligustrum japonicum* (Fetouh *et al.* 2016) dan *Eucalyptus urophylla* (Moura *et al.*, 2021).

Kesimpulan

Interaksi antara perlakuan konsentrasi dan lama perendaman dengan kolkisin berpengaruh sangat nyata terhadap persentase eksplan hidup, jumlah tunas, jumlah daun, dan tinggi tunas, tetapi tidak berpengaruh nyata terhadap jumlah akar, panjang akar dan persentase eksplan berakar pada eksplan tunas *A. crassicaarpa*. Pengaruh perendaman dengan kolkisin menyebabkan pertumbuhan organ-organ tunas daun terhambat pada semua perlakuan tetapi tidak mempengaruhi pertumbuhan dan

perkembangan organ akar. Perbedaan nyata pada pertumbuhan dan morfologi planlet seperti persentase eksplan hidup, jumlah daun, jumlah dan tinggi tunas dapat digunakan untuk identifikasi awal terjadinya poliploidisasi pada eksplan tunas *A. crassicaarpa*.

Ucapan terima kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada manajemen PT. Arara Abadi Sinarmas Forestry atas beasiswa program master, dan staff laboratorium Bioteknologi yang membantu selama proses penelitian.

Referensi

- Aili, E. N., Respatijarti dan A. N. Sugiharto. (2016). Pengaruh pemberian kolkisin terhadap penampilan fenotip galur inbrida jagung pakan (*Zea mays* L.) pada fase pertumbuhan vegetatif. *Jurnal Produksi Tanaman*, 4 (5) : 370-377. DOI: <https://dx.doi.org/10.21176/protan.v4i5.305>
- Allum, J. F., Bringloe, D. H., Roberts, A. V. , (2007). Chromosom Doubling in a *Rosa rugosa* Thunb. Hybrid by Exposure of *In vitro* Nodes to Oryzalin: The Effects of Node Length, Oryzalin Concentration and Exposure Time. *Plant Cell. Rep.* 26, 1977-1984. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00299-007-0411-y>
- Ariyanto, S. E., Parjanto., dan Supriyadi. (2010). Pengaruh Kolkhisin Terhadap Fenotip dan Jumlah Kromosom Jahe (*Zingiber officinale* Rosc). Fakultas Pertanian. Universitas Muria Kudus. ISSN 1979-6870.
- Chahal, G.S. and S.S. Gosal. (2002). Principles and procedures of Plant Breeding biotechnological and conventional approaches. *Alpha Science International Ltd. Harrow, U.K.*, pp.413-428.
- Crowder, L. V. (1997). Genetika Tumbuhan. Lilik Kusdiarti (Penerjemah). Penerbit Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 499 hal. Terjemahan dari: *Plant Genetics*.
- da Silva Souza, T., Daolio, M. F., Mori, F. A., Ramalho, M. A. P., Mingossi, F. B.,

- Missiaggia, A. A., & Techio, V. H. (2021). Polyploidy as a strategy to improve the industrial quality of eucalypt wood. *Wood Science and Technology*, 55, 181-193. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00226-020-01236-8>
- de Moura, L. C., Xavier, A., Viccini, L. F., Batista, D. S., de Matos, E. M., Gallo, R., Teixeira, B. M. dos R., & Otoni, W. C. (2020). Induction and evaluation of tetraploid plants of “Eucalyptus urophylla” clones. *Australian Journal of Crop Science*, 14(11), 1786–1793. DOI: <https://search.informit.org/doi/10.3316/infornit.800696059068161>
- Dinarti, D., Yudiwanti dan Rahayuningsih, S. (2006). Pengaruh Kolkisin Terhadap Kevarianan Fenotipe dan Jumlah Kromosom Jahe Emprit (*Zingiber officinale* L. Asal *In Vitro*, p. 88–91. Dalam Sujiprihati *et al.*, Sinergi Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman dalam Perbaikan Tanaman. Prosiding, Seminar Nasional Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman. Departemen Agronomi dan Hortikultura Fakultas Pertanian IPB Bogor, 1 – 2 Agustus 2006.
- Dwiningsih, W. (2004). Pengaruh Lama Perendaman dan Konsentrasi Kolkisin terhadap Pertumbuhan Tunas Jahe Emprit. Skripsi. Program Sarjana, Institut Pertanian Bogor. Bogor. 32 hal.
- Eldoma, A. dan Awang, K. (1999). Site adaptability of *Acacia mangium*, *Acacia auliculiformis*, *Acacia crassicarpa* and *Acacia aulacocarpa*. APAFRI Publication Series No. 3. Asia Pacific Association of Forestry Research Institutions, Kuala Lumpur, Malaysia.
- Eng, W. H., W. S. Ho and K. H. Ling. (2021). *In vitro* induction and identification of polyploid *Neolamarckia cadamba* plants by colchicine treatment. *PeerJ*, 9:e12399. DOI: <https://doi.org/10.7717/peerj.12399>.
- Ermayanti, T. M., A. N. Wijayanta, D. Ratnadewi. 2018. Induksi Poliploid pada Tanaman Talas (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) Kultivar Kaliurang dengan Perlakuan Kolkisin secara *In Vitro*. *Jurnal Biologi Indonesia*, 14(1): 91-102. DOI: <https://doi.org/10.14203/jbi.v14i1.3667>.
- Fauzan, Y. S. A., S. Supriyanto, T. Tajuddin. (2017). Growth and morphological changes as an early indication of *in vitro* ploidization of teak (*Tectona grandis* L.f), *Jurnal Penelitian Tanaman Hutan*, Vol.14 No.2. <https://doi.org/10.20886/jpht.2017.14.2.127-138>.
- Fetouh, Mohammed & Kareem, Abdul & Knox, Gary & Wilson, Sandra & Deng, Zhanao. (2016). Induction, Identification, and Characterization of Tetraploids in Japanese Privet (*Ligustrum japonicum*). *HortScience*. 51. 1371-1377. <http://dx.doi.org/10.21273/HORTSCI11138-16>
- Griffin, Anthony & Nghiem, Chi & Harbard, Jane & Son, Do & Harwood, Christopher & Price, Aina & Duc Vuong, Tran & Koutoulis, Anthony & Thinh, Ha. (2015). Breeding polyploid varieties of tropical acacias: progress and prospects. *Southern Forests: a Journal of Forest Science*. 77. DOI: <http://dx.doi.org/10.2989/20702620.2014.999303>
- Gunawan, L. W. (1992). Teknik Kultur Jaringan. Institut Pertanian Bogor. 165 hal, Bogor.
- Herman, Irma Natalina M dan Dewi Indriyani Roslim. 2013. Pengaruh Mutagen Kolkisin Pada Biji kacang Hijau (*Vigna radiata* L.) Terhadap Jumlah Kromosom dan Pertumbuhan. Jurusan Biologi FMIPA Universitas Riau. Pekanbaru. J. BioETI. : 13-20.
- Hetharie, H. (2003). Perbaikan sifat tanaman melalui pemuliaan poliploid. Makalah Individu Pengantar Falsafah Sains (PPS702) Program Pascasarjana / S3 Institut Pertanian Bogor.
- Honkanen, J., A. Aapola, P. Seppanen, T. Tormala, J. C. Wit, H. F. Esendam, L. J. M. Stravers, and J. C. De-Wit. (1992). Production of doubled haploid Gerbera clones. *Acta Hort.* 300, 341, 346. DOI: <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1992.300.50>
- Kuckuck, H., G. Kobabe and G. Wenzel. (1991). Fundamentals of Plant Breeding. *Springer-Verlag* (1991), pp. 236, Berlin.
- Lam, H. K., J. L. Harbard, A. Koutoulis. (2014).

- Tetraploid induction of *Acacia crassicarpa* using colchicine and oryzalin. *Journal of Tropical Forest Science*, 26(3): 347–354.
- Maryati. (2012). Pengaruh kolkisin terhadap fenotipe pertumbuhan awal dan jumlah kromosom tanaman sirsak (*Annona muricata* L.). Skripsi. Fakultas Pertanian, Universitas Sebelas Maret. Surakarta. 33hal.
- Maryuni, R. (2016). Pengaruh pemberian kolkhisin terhadap morfologi dan jumlah kromosom tanaman binahong (*Anredera Cordifolia* (Ten) Steenis). *Jurnal Agroekoteknologi Universitas Sumatera Utara*. 4(1). DOI: <https://dx.doi.org/10.32734/jaet.v4i1.12322>
- Mihu, G., N. Munteanu, and V. Timofte. (1989). Aspect of some phenotypic changes induced by kolkisin in cabbage. *Cercetari Agronomice in Moldova*. 22(4):85-93.
- Nurwanti, L. (2010). Induksi mutasi kromosom dengan kolkisin pada anthurium wave of love (*Anthurium plowmanii* Croat.) secara in vitro. Skripsi. Program Sarjana, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Permadi, A.H., R. Cahyani dan S. Syarif. (1991). Cara pembelahan umbi, lama perendaman dan konsentrasi kolkisin pada poliploidisasi bawang merah. *Sumenep. Zuriat* 2 (2): 17 - 26. DOI: <https://doi.org/10.24198/zuriat.v2i2.6693>
- Permatasari, D. (2007). Evaluasi Keragaman Fenotipe Tanaman Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni M) Klon Zweereners Hasil Mutasi Kromosom dengan Kolkisin. Skripsi. Program Sarjana, Institut Pertanian Bogor. Bogor. 44 hal.
- Rodiansyah, A. (2007). Induksi Mutasi Kromosom dengan Kolkisin pada Tanaman Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni M) Klon Zweereners secara *In vitro*. Skripsi. Program Sarjana, Institut Pertanian Bogor. Bogor. 44 hal.
- Schulze, J., & Contreras, R. (2015, January). Effect of ploidy level on vegetative propagation of two *Prunus laurocerasus* 'Schipkaensis' cytotypes©. In *Proceedings of the 2015 Annual Meeting of the International Plant Propagators' Society 1140* (pp. 199-200). DOI: <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2016.1140.45>
- Sinaga, E. J., E. S. Bayu dan H. Hasyim. (2014). Pengaruh Konsentrasi Kolkhisin Terhadap Pertumbuhan dan Produksi Kacang Hijau (*Vigna radiata* L.). *Jurnal Online Agroekoteknologi*. Vol 2, No 3; 1238- 1244. DOI: <https://dx.doi.org/10.32734/jaet.v2i3.7544>
- Sofia, D. (2007). Pengaruh konsentrasi dan lama waktu pemberian kolkhisin terhadap pertumbuhan dan poliploid pada biji muda kedelai yang dikultur secara *in vitro*. Fakultas Pertanian Universitas Sumatera Utara.
- Sri, R., Sudjindro, dan Basuki. (1999). Penggunaan Colchicine dalam Penggandaan Kromosom Hasil Hibridisasi Interspesifik pada *Hibiscus* sp. untuk Mengatasi Sterilitas F1.
- Suci, R. (2006). Pengaruh Kolkisin terhadap Keragaman Fenotipe dan Jumlah Kromosom Tunas Jahe Emprit (*Zingiber officinale* Rosc.) Asal *In vitro*. Skripsi. Program Sarjana, Institut Pertanian Bogor. Bogor. 26 hal.
- Suryo. (1995). *Sitogenetika*. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Thomson, L. A. (1994). *Acacia aulacocarpa*, *A. cincinnata*, *A. crassicarpa* and *A. wetarensis*: an annotated bibliography. CSIRO.
- Wang, Z. N., F. H. Xu, and S. Z. Xu. (1992). The chromosome doubling technique for diploid cultivars and interspecific hybrids. *China-Cotton*. 4:15-17. URL: <https://eurekamag.com/research/002/710/002710556.php>
- Yulianti, F., A. Purwito, A. Husni, dan D. Dinarti. (2015). Induksi tetraploid tunas pucuk jeruk siam simadu (*Citrus nobilis* Lour) menggunakan kolkisin secara *in vitro*. *Jurnal Agronomi Indonesia*. 43(1):66-71. DOI: <http://dx.doi.org/10.24831/jai.v43i1.9593>