

Polyploid Induction of Long Bean (*Vigna sinensis*) Using Colchicine with Different Concentrations

Anisa Fitri^{1*}, Echa Azkia Afandi¹, Septiasri Anggun¹, Yuni Ahda¹

¹Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang, Kota Padang, Indonesia;

Article History

Received : June 19th, 2025

Revised : June 26th, 2025

Accepted : July 02th, 2025

*Corresponding Author:

Anisa Fitri,

Program Studi Biologi,
Fakultas Matematika dan Ilmu
Pengetahuan Alam, Universitas
Negeri Padang, Kota Padang,
Indonesia;

Email:

fitri.anisa.120503@gmail.com

Abstract: Long bean (*Vigna sinensis*) is a plant from the Leguminosae family, which has an important role in the Indonesian economy because it is widely consumed as food. The purpose of this research is to utilize mutation technology in supporting plant breeding to produce superior long bean varieties. The research method carried out was a non-factorial Randomized Group Design (RAK), namely soaking the seeds of long bean plants with colchicine to see the effect of colchicine treatment on chromosomal mutations in long bean plants. The results showed significant differences between colchicine concentrations of 0.02% and 0.03%. At a concentration of 0.02%, the cell nucleus appeared solid red and in the center of the cell, but the number and shape of chromosomes were not clearly visible. This concentration is not optimal for inducing polyploidy. Meanwhile, at a concentration of 0.03%, the chromosomes were more clearly visible than the previous concentration.

Keywords: Colchicine, polyploid, *Vigna sinensis*.

Pendahuluan

Kacang panjang (*Vigna sinensis*) merupakan tanaman dari famili Leguminosae, memiliki peran penting dalam perekonomian Indonesia karena banyak dikonsumsi sebagai bahan pangan. Kacang panjang memiliki kandungan gizi yang tinggi seperti protein, vitamin, dan mineral (Nainggolan *et al.*, 2020). Meskipun konsumsi kacang panjang di Indonesia terus meningkat, produksi kacang panjang mengalami penurunan sebesar 3% pada tahun 2022 dan 7% pada tahun 2023, menurut data dari Badan Pusat Statistik (BPS). Produksi kacang panjang mencapai 383.685 ton pada tahun 2021, 360.871 ton pada tahun 2022, dan 309.422 ton pada tahun 2023. Akibat penurunan produksi ini, produksi kacang panjang perlu ditingkatkan untuk memenuhi permintaan dan kebutuhan gizi masyarakat (Listyaningtyas & Khoiruman, 2025).

Salah satu metode yang digunakan untuk mendapatkan varietas unggul tanaman adalah dengan teknik pemuliaan mutasi (Asadi, 2013). Pemuliaan mutasi ini merupakan suatu proses

yang dapat memicu perubahan genetik buatan (Sutapa & Gde, 2014). Salah satu bentuk mutasi yang umum digunakan dalam pemuliaan tanaman adalah poliploid. Poliploid adalah penggandaan jumlah kromosom pada sel tumbuhan. Poliploid juga dapat menyebabkan perubahan rasio genetik yang memengaruhi sifat morfologis tumbuhan seperti ukuran daun, batang, dan buah, serta dapat meningkatkan ketahanan tumbuhan terhadap hama dan penyakit (Sinaga *et al.*, 2014).

Induksi poliploid, yang juga dikenal sebagai poliploidisasi, adalah jenis mutasi buatan yang dilakukan untuk meningkatkan jumlah kromosom dalam suatu organisme (Putri & Ahda, 2022). Tanaman poliploid memiliki lebih banyak kromosom daripada tanaman diploid, yang membuatnya lebih tahan terhadap penyakit dan hama serta menghasilkan lebih banyak bagian tanaman seperti buah, bunga, batang, dan daun (Safira & Sabli, 2024). Salah satu zat kimia yang dapat digunakan untuk melakukan poliploid adalah kolkisin (Nahwah *et al.*, 2024). Kolkisin diberikan pada bagian tanaman yang sedang

mengalami pembelahan sel, termasuk titik pertumbuhan vegetatif seperti biji, tunas, dan batang tanaman. Bahan kimia ini dapat digunakan untuk memicu poliploidi (Wiendra *et al.*, 2011).

Pemberian kolkisin dapat berlangsung saat konsentrasi dan waktu pemberian yang tepat. Hal ini sesuai dengan penelitian Jauhariana (1995) dalam (Wiendra *et al.*, 2011) mengenai pengaruh kolkisin terhadap perubahan jumlah kromosom dan struktur anatomi daun pada tanaman *Stevia rebaudiana*. Ditemukan bahwa perendaman selama satu jam dengan konsentrasi kolkisin 0,04% dapat menyebabkan tetraploidi, sementara perendaman selama dua jam dengan konsentrasi kolkisin 0,02% menghasilkan hasil terbaik.

Selain itu, penelitian oleh Eigsti dan Dustin (1957) dalam (Haryanti *et al.*, 2009) menunjukkan bahwa konsentrasi 0,2% yang lebih umum dipakai untuk semua tanaman dengan lama perlakuan antara 24-96 jam. Selanjutnya pada penelitian Lusia (1990) dalam (Haryanti *et al.*, 2009) mengatakan bahwa jagung manis konsentrasi 0,25% dengan lama perlakuan selama 6 jam mampu menginduksi tanaman menjadi tetraploid. Dengan demikian, penggunaan kolkisin sebagai mutagen kimia dalam pemuliaan kacang panjang merupakan alternatif yang menjanjikan untuk meningkatkan produktivitas tanaman ini. Pemanfaatan teknologi mutasi dapat mendukung pemuliaan tanaman untuk menghasilkan varietas kacang panjang yang lebih unggul, sesuai dengan kebutuhan pasar yang semakin meningkat.

Bahan dan Metode

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan November sampai Desember 2024 di Laboratorium Genetika dan Bioteknologi, Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang.

Jenis Penelitian

Jenis Penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental dengan rancangan yang digunakan yaitu Rancangan Acak Kelompok non faktorial yaitu perendaman benih tanaman

kacang panjang dengan kolkisin untuk melihat adanya pengaruh perlakuan pemberian kolkisin terhadap mutasi kromosom pada tanaman kacang panjang.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah mikroskop, kaca objek dan kaca penutup, pipet tetes, *microtube*, *water bath*, silet/pisau, pinset, kulkas, bunsen/spiritus, batang pengaduk, timbangan, *beaker glass* dan cawan petri. Bahan yang digunakan adalah benih kacang panjang, kolkisin, asam asetat glasial 45%, HCl 1N, FAA, *Aceto-orcein*, aquades, aquabides, alkohol 70%, etanol, aluminium foil, tissue dan kapas.

Tahap Penelitian

Pembuatan larutan kolkisin

Pembuatan larutan kolkisin dilakukan menggunakan takaran yang berbeda, dilakukan secara aseptis. Adapun takaran pada tiap konsentrasinya yaitu: 1) Kolkisin konsentrasi 0,02% dengan menambahkan 0,02 gr bubuk kolkisin + 5 ml etanol + 95 ml Aquabides. 2) Kolkisin konsentrasi 0,03% dengan menambahkan 0,03 gr bubuk kolkisin + 5 ml etanol + 95 ml Aquabides.

Menumbuhkan benih kacang panjang

Menumbuhkan benih kacang panjang, hal yang perlu dilakukan yaitu: 1) Menyiapkan biji yang akan ditumbuhkan benihnya. 2) Merendam biji menggunakan air dan mengambil biji yang terendam untuk disemai nantinya. 3) Merendam biji selama 3-4 jam atau hingga biji mengembang dari yang sebelumnya. 4) Setelah 4 jam di rendam, menyiapkan wadah yang berisi kapas basah dan menempatkan biji yang telah direndam sebelumnya di atas kapas. 5) Menyemai biji selama \pm 24 jam di suhu ruang dan tempat yang gelap, hingga muncul tunas pada bijinya.

Pelaksanaan penelitian

Melaksanakan penelitian, hal yang perlu dilakukan yaitu: 1) Memotong akar kacang panjang yang telah tumbuh 1 cm dari ujung kemudian memasukkan ke dalam botol *flakon/microtube*. 2) Merendam akar dalam kolkisin pada masing-masing konsentrasi yaitu 0,02% dan konsentrasi 0,03% selama 12 jam. 3) Memfiksasi akar dengan asam asetat glasial 45%

selama 15 menit dalam lemari es (4°C). 4) Membuang larutan asam asetat glasial 45% dari *microtube* dengan menggunakan pipet. 5) Menyuci akar dalam *microtube* dengan akuades sebanyak 3 kali. 6) Memberi larutan HCL 1N ke dalam akar di *microtube* kemudian menyimpan dalam *water bath* dengan temperature 60°C selama 5 menit.

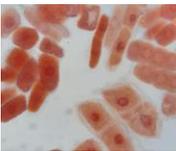
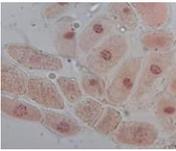
Posisi tutup *microtube* saat di dalam *water bath* adalah dalam posisi terbuka. 7) Membuang larutan HCL 1 N dari botol menggunakan pipet. 8) Menyuci akar dalam *microtube* dengan akuades sebanyak 3 kali. 9) Menambahkan *aceto-orcein* ke dalam *microtube* hingga akar terendam seluruhnya, membiarkan 1 jam pada suhu kamar. 10) Setelah 1 jam, mengambil akar menggunakan pinset, dan meletakkan akar di atas kaca objek, jika terdapat pewarna, di serap menggunakan tissue. 11) Memotong bagian ujung akar yang berwarna gelap dan ditutup menggunakan kaca penutup. 12) Melakukan pemencetan pada akar menggunakan penghapus/benda datar lainnya hingga jaringan terlihat menipis dan menyebar. 13) Mengamati hasil *squash* di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000x. 14) Melakukan dokumentasi terkait gambar yang diperoleh.

Hasil dan Pembahasan

Pengamatan Mikroskopis Kromosom

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan pada kacang panjang dengan pemberian kolkisin konsentrasi 0,02% dan 0,03% diperoleh hasil pengamatan dalam tabel 1. Tabel 1. disajikan gambar hasil pengamatan kromosom dari kacang panjang dengan pemberian kolkisin pada konsentrasi berbeda. Pemberian kolkisin telah banyak digunakan untuk induksi tetraploid pada biji dengan kulit keras, seperti jagung dan kacang-kacangan. Disarankan untuk menggunakan konsentrasi 0,02% dengan durasi perlakuan 3 hingga 24 jam. Kolkisin adalah senyawa alkaloid yang digunakan untuk menginduksi poliploid dengan menghambat polimerisasi tubulin menjadi mikrotubulus. Hambatan ini menyebabkan pemisahan kromosom dalam fase metaphase terblokir, sehingga kromosom menggandakan diri tanpa pemisahan sel (Fathurrahman *et al.*, 2011).

Tabel 1. Hasil pengamatan perlakuan kolkisin

No	Nama Benih	Konsentrasi Kolkisin	Gambar
1.	Biji Kacang Panjang	0,02%	
2.		0,03%	

Pemberian kolkisin pada biji kacang panjang dilakukan selama 12 hingga 15 jam dengan waktu pemotongan akar pada jam 12 malam. Pemotongan akar kacang panjang di malam hari bertujuan agar memperoleh fase pertumbuhan yang baik untuk terjadinya poliploid, yaitu fase metaphase. Kolkisin bekerja dengan menghentikan awal fase metafase, memolimerisasi tubulin menjadi mikrotubulus, dan mengembangkan tubulin menjadi jalur yang berguna (Fathurrahman *et al.*, 2023).

Terjadinya poliploid pada fase metaphase akan tampak dengan jelas bentuk dan jumlah dari kromosom, hal ini karena pada fase tersebut kromosom sedang berada di bidang ekuator atau posisi bagian tengah dari sel (Nugroho *et al.*, 2024). Saat pemberian kolkisin pada akar kacang panjang diharapkan terjadinya perubahan, terutama jumlah kromosom yang terbentuk menjadi lebih banyak dan terjadi peningkatan (Husain *et al.*, 2022). Jumlah kromosom pada akar kacang panjang adalah $2n$ yaitu 22 sehingga jika mengalami penggandaan akan lebih dari yang biasanya yang menyebabkan ukuran selnya juga membesar. Selain itu, larutan kolkisin memiliki efek mengubah bentuk sel, membuatnya menjadi lebih longgar atau lebih luas dibandingkan dengan sel tanpa perlakuan larutan kolkisin, yang lebih padat dan lebih kecil. Hal ini disebabkan oleh peningkatan jumlah kromosom, yang menyebabkan peningkatan ukuran sel rata-rata, serta perubahan bentuk, ukuran, dan warna tanaman (Simamora *et al.*, 2017).

Pemberian konsentrasi kolkisin terhadap akar kacang panjang menunjukkan perbedaan

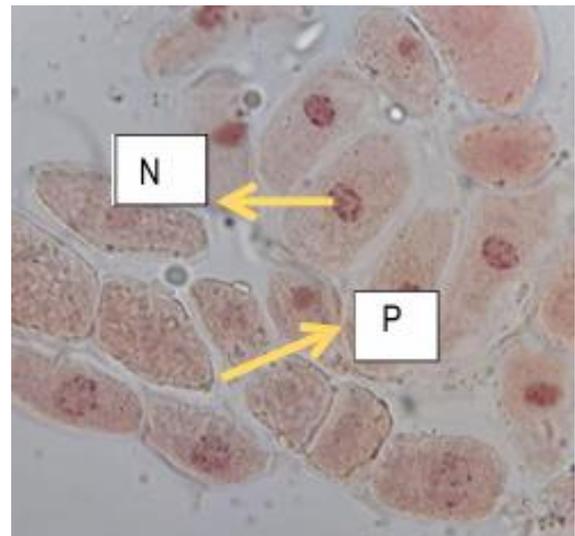
yang cukup jelas antara perlakuan 0,02 % dan 0,03%. Pada konsentrasi 0,02%, inti sel terlihat berwarna merah pekat dan berada ditengah sel, namun jumlah dan bentuk kromosom yang terbentuk akibat pemberian kolkisin tidak terlihat dengan jelas. Kemudian saat kacang panjang di induksi kolkisin 0,03% hasil tampak lebih jelas, ditandai dengan keberadaan titik-titik merah menyebar yang diduga sebagai kromosom hasil induksi poliploid.

Pada konsentrasi 0,03% ini juga, terlihat jelas perbedaan antara sitoplasma yang berwarna pink pudar, sementara kromosom berwarna merah pekat. Keberadaan kromosom pada sel dapat dideteksi, namun tidak dapat mengetahui secara pasti bentuk dan jumlah kromosom yang ada dalam satu sel tersebut. Pada gambar terdapat seperti titik merah yang menyebar dan dalam jumlah yang banyak, titik merah ini dapat di prediksi sebagai kromosom dari kacang panjang yang telah mengalami poliploid.

Hasil pengamatan menunjukkan perbedaan yang signifikan antara konsentrasi kolkisin 0,02% dan 0,03%. Pada konsentrasi 0,02%, inti sel tampak berwarna merah pekat dan berada di tengah sel, namun jumlah dan bentuk kromosom tidak terlihat dengan jelas. Konsentrasi ini belum optimal untuk menginduksi poliploidi. Sementara itu, pada konsentrasi 0,03%, kromosom lebih terlihat jelas dibandingkan konsentrasi sebelumnya. Sitoplasma berwarna pink pudar, sementara kromosom tampak berwarna merah pekat. Titik-titik merah yang tersebar di dalam sel menunjukkan adanya indikasi poliploidi, meskipun jumlah kromosom belum dapat dipastikan secara pasti.

Beberapa faktor memengaruhi keberhasilan induksi poliploidi pada kacang panjang. Faktor pertama adalah konsentrasi kolkisin, di mana konsentrasi optimal untuk induksi poliploidi berkisar antara 0,2% dengan lama perlakuan 3–24 jam (Fathurrahman *et al.*, 2011). Pada penelitian ini, konsentrasi 0,03% sudah menunjukkan adanya indikasi poliploidi, meskipun belum maksimal. Faktor kedua adalah waktu pematangan akar yang dilakukan pada jam 12 malam. Waktu ini dipilih untuk mendapatkan fase metaphase yang optimal, namun hasil penelitian menunjukkan perlunya variasi waktu lain agar proses induksi poliploidi lebih akurat.

Selanjutnya, lama perendaman juga berpengaruh terhadap keberhasilan poliploidi (Kurnia *et al.*, 2023). Dalam penelitian ini, biji kacang panjang direndam dalam larutan kolkisin selama 12–15 jam, tetapi variasi durasi perendaman dapat memengaruhi efektivitas induksi poliploidi. Faktor berikutnya adalah teknik pewarnaan dengan *aceto-orcein*. Pewarnaan yang terlalu lama dapat menyebabkan kromosom sulit diamati karena warna menjadi terlalu pekat dan menutupi detail sel. Selain itu, teknik *squash* atau teknik pemencetan juga memegang peranan penting. Pemencetan akar yang tidak merata akan menyebabkan sel-sel bertumpuk sehingga kromosom sulit dianalisis dengan jelas.



Gambar 1. Perbedaan sel normal dengan sel poliploidi

Keterangan:

N = sel normal

P = sel poliploidi

Indikasi poliploidi pada sel terlihat jelas pada konsentrasi 0,03%. Salah satu indikasi poliploidi adalah ukuran sel yang lebih besar akibat peningkatan jumlah kromosom, yang menyebabkan sel mengalami pembesaran (Saraswati *et al.*, 2017). Selain itu, poliploidi ditandai dengan kerapatan sel yang lebih longgar. Sel poliploidi cenderung memiliki bentuk yang lebih renggang jika dibandingkan dengan sel normal, di mana sel normal tampak lebih rapat dan berukuran lebih kecil. Gambar tersebut menunjukkan perbandingan antara sel normal (N) dan sel poliploidi (P). Pada gambar tersebut, N menunjukkan sel normal dengan ukuran kecil

dan kerapatan tinggi, sedangkan P menunjukkan sel poliploidi dengan ukuran lebih besar dan susunan sel yang lebih renggang. Perbedaan jumlah kromosom ini hanya dapat terlihat jelas saat pemberian kolkisin pada konsentrasi 0,03%. Dengan hal ini, konsentrasi yang menunjukkan terjadinya poliploidi adalah konsentrasi 0,03% sementara 0,02% tidak menunjukkan hasil yang berarti.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, pemberian larutan kolkisin pada benih kacang panjang menunjukkan bahwa konsentrasi 0,03% lebih efektif dibandingkan 0,02% dalam menginduksi poliploidi. Pada konsentrasi 0,03%, kromosom terlihat lebih jelas dan inti sel tampak menonjol dengan warna merah pekat. Hal ini menandakan adanya peningkatan jumlah kromosom yang menyebabkan ukuran sel membesar dan susunan sel menjadi lebih longgar. Sebaliknya, konsentrasi 0,02% belum mampu memunculkan bentuk dan jumlah kromosom dengan jelas sehingga tidak optimal untuk induksi poliploidi. Dengan demikian, kolkisin pada konsentrasi 0,03% memiliki potensi lebih besar dalam mendukung program pemuliaan tanaman kacang panjang melalui teknologi mutasi.

Referensi

- Asadi, A. (2013). Pemuliaan Mutasi Untuk Perbaikan Terhadap Umur Dan Produktivitas Pada Kedelai. *Jurnal AgroBiogen*, 9(3), 135-142. <https://doi.org/10.21082/jbio.v9n3.2013.p135-142>
- Fathurrahman, F. (2023). Rekomendasi pemberian kompos TKKS dan konsentrasi kolkisin pada tanaman Kacang Panjang Renek (*Vigna unguiculata* var. *sesquipedalis*). *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*, 23(3), 348-357. <https://repository.uir.ac.id/22527/>
- Fathurrahman. (2011). Increasing Production of Green Bean Through Treatment and Old Immersion Kolkisin, *Jurnal Ilmiah Agrobitekper Fakultas Pertanian*, 5 (2): 63-71. <https://osf.io/xb9qs/download>
- Haryanti, S., 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. <https://publikasiilmiah.ums.ac.id/handle/11617/438>
- Husain, I., Surdaya, T., & Purnomo, S. H. (2022). Induksi Mutasi Menggunakan Kolkisin pada Umbi Bawang Merah (*Allium ascalonicum* L.) Varietas Tajuk. *Jurnal Hortikultura Indonesia (JHI)*, 13(1), 1-7. <https://doi.org/10.29244/jhi.13.1.1-7>
- Kurnia, F. I., Rosyidah, A., & Muslikah, S. (2023). Pengaruh Perbedaan Lama Perendaman Hormon Kolkisin Terhadap Pertumbuhan dan Hasil Jagung Manis (*Zea Mays Saccharata* Sturt) Varietas Paragon. *AGRONISMA*, 11(2), 103-115. <https://jim.unisma.ac.id/index.php/AGRN/article/view/21911>
- Listyaningtyas, Z. Y., & Khoiruman, A. M. (2025). Aplikasi Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) pada Benih Kacang Panjang (*Vigna sinensis* L.) di Laboratorium Pengamatan Hama dan Penyakit Tanaman Pati. *JAGO TOLIS: Jurnal Agrokomples Tolis*, 5(2), 130-137. <https://doi.org/10.56630/jago.v5i2.791>
- Nahwah, F., Rosyidah, A., & Muslikah, S. (2024). Pengaruh Beberapa Konsentrasi Kolkisin Terhadap Hasil dan Perubahan Karakteristik Stomata Tanaman Jagung Manis (*Zea mays* L. *saccharata*) Varietas Paragon. *Folium: Jurnal Ilmu Pertanian*, 8(1), 1-12. <https://doi.org/10.33474/folium.v8i1.20386>
- Nainggolan, E. V., Bertham, Y. H., & Sudjarmiko, S. (2020). Pengaruh pemberian pupuk hayati mikoriza dan pupuk kandang ayam terhadap pertumbuhan dan hasil tanaman kacang panjang (*Vigna sinensis* L.) di ultisol. *Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian Indonesia*, 22(1), 58-63. <https://doi.org/10.31186/jipi.22.1.58-63>
- Nugroho, M. A., Rahmadina, R., & Idami, Z. (2024). Pengaruh Pemberian Kolkisin Terhadap Kromosom Pada Tanaman Selada Merah (*Lactuca sativa* L. Var. *red rapid*). *ORYZA (JURNAL PENDIDIKAN*

- BIOLOGI*, 13(2), 286-296.
<https://doi.org/10.33627/oz.v13i2.2755>
- Putri, W. M., & Ahda, Y. (2022). Induksi Poliploid Pada Tanaman Labu Siam (*Sechium endule* (Jacq.) Swartz) Dengan Pemberian Kolkisin. *Jurnal Serambi Biologi*, 7(4), 326-330.
<https://serambibiologi.ppj.unp.ac.id/index.php/srmb/article/view/144>
- Safira, W., & Sabli, T. E. (2024). Pengaruh Kolkisin Terhadap Karakter Fenotip dan Poliploidisasi Tanaman Bawang Merah (*Allium ascalonicum* L.). *Ekoagrotrop*, 2(1), 71-80.
<https://journal.uir.ac.id/index.php/ekoagrotrop/article/download/22153/7971/78273>
- Saraswati, D. R., Rahayu, T., & Hayati, A. (2017). Kajian pemberian kolkisin dengan metode tetes terhadap profil poliploidi tanaman zaitun (*Olea Europaea*). *Jurnal Ilmiah Biosaintropis (Bioscience-Tropic)*, 2(2). <https://doi.org/10.33474/e-jbst.v2i2.53>
- Simamora, E. Y., Hanafiah, D. S., & Damanik, R. I. (2017). Pengaruh Kolkisin Terhadap Keragaman Fenotipe Tanaman Sri Rejeki (*Aglaonema* sp.) var. Yellow Lipstick Secara Setek Batang: Effect of colchicines on the phenotypic variance of the *Aglaonema* hybrid var. Yellow Lipstick (*Aglaonema* sp.) propagated through the cutting stem. *JURNAL AGROTEKNOLOGI*, 5(3), 623-628.
<https://doi.org/10.32734/ja.v5i3.2226>
- Sinaga, E. J., Bayu, E. S., & Hasyim, H. H. (2014). Pengaruh konsentrasi kolkhisin terhadap pertumbuhan dan produksi kacang hijau (*Vigna radiata* L.). *Jurnal Agroekoteknologi Universitas Sumatera Utara*, 2(3), 100441.
- Sutapa, G. N., & Gde Antha, G. I. (2014). Efek induksi mutasi radiasi gamma ⁶⁰Co pada pertumbuhan fisiologis tanaman tomat (*Lycopersicon esculentum* L.). *Jurnal Keselamatan Radiasi dan Lingkungan e-ISSN, 2502*, 4868.
- Wiendra, N. M. S., Pharmawati, M., & Astiti, N. P. A. (2011). Pemberian kolkhisin dengan lama perendaman berbeda pada induksi poliploidi tanaman pacar air (*Impatiens balsamina* L.). *Jurnal Biologi*, 15(1), 9-14.