

**Induksi Poliploid pada Tanaman Talas (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) Kultivar Kaliurang dengan Perlakuan Kolkisin secara *In Vitro*
(*In vitro* Polyploid Induction on Taro (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) Cultivar Kaliurang with Colchicine Treatment)**

Tri Muji Ermayanti¹, Ardian Nur Wijayanta² & Diah Ratnadewi²

¹Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI, ²Departemen Biologi, Fakultas MIPA IPB

¹Email : trimuiermayanti@gmail.com

Memasukkan: Maret 2018 Diterima: Juni 2018

ABSTRACT

Genetic modification to increase productivity and other better growth characteristics of Kaliurang taro could be done by various methods; one of them is polyploid induction. Kaliurang taro has performed excellent traits, it is resistant to leaf blight disease and pests. Polyploid plants of Kaliurang taro are expected to have excellent characteristics and increased productivity. The objective to this study was to obtain an efficient method through *in vitro* induction of polyploidy using colchicine on Kaliurang taro. Aseptic plantlets of Kaliurang taro were soaked in colchicine solution at 0.05, 0.1 and 0.2% for 1, 2 and 3 days. Control was untreated plantlets. Each treatment consisted of 12 replicates. The colchicine-treated plantlets were then planted on MS medium containing 2 mg/L BAP, 1 mg/L thiamine and 2 mg/L adenine. Survival rate and vegetative growth of plantlets were observed every week for 8 weeks after planting. The results showed that increasing colchicine concentration and the soaking period produced plantlets with various survival rate. Flowcytometric analysis indicated that the treatment of soaking the plantlets in 0.05% colchicine for 1 day resulted in 14.3% of tetraploid plantlets. The most efficient of colchicine treatment was 0.2% for 3 days, resulting in 57.1% tetraploids, with the efficient value of 33.3%. There was chromosome multiplication from diploid to tetraploid which was confirmed through both flowcytometric analysis and chromosomes counting.

Keywords: Taro (*Colocasia esculenta* L.), Kaliurang, *in vitro*, flowcytometer, chromosome multiplication, tetraploids

ABSTRAK

Perbaikan genetik untuk meningkatkan produktivitas dan karakter unggul talas Kaliurang dapat dilakukan dengan berbagai cara, antara lain dengan induksi poliploid. Talas Kaliurang diploid memiliki keunggulan, yaitu tahan terhadap penyakit hawar daun dan serangan hama. Tanaman poliploid diharapkan dapat menambah sifat unggul tersebut, misalnya pertumbuhannya meningkat sehingga meningkatkan produktivitas talas Kaliurang. Tujuan penelitian ini adalah memperoleh metode induksi poliploid yang efisien untuk talas Kaliurang menggunakan kolkisin secara *in vitro*. Planlet talas Kaliurang aseptik direndam dalam larutan kolkisin dengan konsentrasi 0.05, 0.1 dan 0.2% selama 1, 2 dan 3 hari. Perlakuan kontrol yang digunakan adalah tunas talas yang tidak direndam dalam larutan kolkisin. Tiap perlakuan terdiri atas 12 tunas sebagai ulangan. Setelah perendaman, tunas ditanam pada media MS dengan penambahan 2 mg/L BAP, 1 mg/L tiamin dan 2 mg/L adenin. Persentase hidup dan pertumbuhan vegetatif tunas diamati setiap minggu selama 8 minggu dan tingkat ploidi dianalisis dengan flositometer saat tunas berumur 9 minggu setelah tanam (MST). Hasil penelitian menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi kolkisin dan lama perendaman menyebabkan persentase hidup tunas yang bervariasi. Hasil analisis flositometer menunjukkan bahwa perlakuan kolkisin 0.05% dengan perendaman selama 1 hari mampu menginduksi tunas tetraploid sebesar 14.3%. Perlakuan kolkisin yang paling efisien adalah konsentrasi 0.2% dengan lama perendaman 3 hari, yang menghasilkan 57.1% tunas tetraploid dengan nilai efisiensi induksi tetraploid sebesar 33.3%. Terjadi penggandaan jumlah kromosom dari diploid menjadi tetraploid yang telah dikonfirmasi menggunakan flositometer dan penghitungan jumlah kromosom.

Kata Kunci: Talas (*Colocasia esculenta* L.), Kaliurang, *in vitro*, flositometer, penggandaan kromosom, tetraploid

PENDAHULUAN

Talas merupakan jenis tanaman termasuk famili Araceae genus *Colocasia* berbentuk herba monokotil. Tanaman talas bermanfaat

sebagai salah satu bahan pangan non beras yang mempunyai kandungan karbohidrat sebesar 23.78% dan protein 1.9% (Kusumo *et al.* 2002). Selain itu, tanaman talas dapat dimanfaatkan sebagai bahan sayuran atau bahan pangan kudapan

seperti yang banyak dikenal di daerah Bogor. Talas dibagi menjadi dua varietas, yaitu *C. esculenta* var. *esculenta* dan *C. esculenta* var. *antiquorum*. Kedua varietas tersebut berasal dari kawasan tropik Asia Selatan dan Tenggara termasuk Indonesia (Purseglove 1975). Varietas *esculenta* mempunyai umbi tunggal, sedangkan varietas *antiquorum*, atau dikenal dengan talas Jepang, memiliki umbi induk dan umbi-umbi cabang, seperti umbi kimpul atau balitung (*Xanthosoma* spp.) (Prana 2007).

Indonesia memiliki banyak kultivar talas. Terdapat lima kultivar talas yang dikenal di daerah Bogor, yaitu talas Bentul, Ketan, Pandan, Sutera dan Lampung. Prana (2007) mengungkapkan bahwa terdapat lebih dari 180 kultivar talas yang dapat dibedakan secara morfotipe, dan setidaknya terdapat 20 kultivar yang telah diidentifikasi berpotensi untuk dijadikan tanaman induk bagi pemuliaan tanaman. Ivancic *et al.* (2008) menyatakan bahwa pembungaan pada tanaman talas jarang terjadi akibat faktor lingkungan yang tidak mendukung sehingga pemuliaan talas melalui persilangan konvensional sulit dilakukan. Oleh karena itu strategi yang dapat digunakan dalam pemuliaan tanaman talas antara lain dengan induksi mutasi atau transformasi genetik, fusi protoplas, atau induksi tanaman poliploid dengan senyawa anti-mitotik (Martin *et al.* 2014).

Tanaman poliploid adalah tanaman yang memiliki set kromosom lebih dari sepasang (diploid). Poliploidi dapat terjadi secara alami maupun diinduksi dengan bahan kimia anti-mitotik, antara lain dengan orizalin, trifularin, amiprofos metil, dan kolkisin. Kolkisin ($C_{22}H_{25}O_6N$) merupakan suatu alkaloid yang diisolasi dari tumbuhan *Colchicum autumnale* dan mampu menginduksi poliploidisasi tidak hanya pada sel tumbuhan melainkan juga pada sel hewan (Tuyl *et al.* 1992). Induksi poliploidi pada tanaman menggunakan senyawa kolkisin telah banyak dilakukan dengan berbagai tujuan, antara lain untuk mendapatkan sumber tetua varietas unggul dan meningkatkan kualitas buah seperti pada melon Simadu (Zhang *et al.* 2010) dan jeruk Siam Simadu (Yulianti *et al.* 2015). Selain itu juga untuk meningkatkan produktivitas seperti pada tanaman garut (Sukamto *et al.* 2010) dan cabai (Syarifudin *et al.* 2013). Induksi

poliploidi juga dilakukan pada tanaman hias untuk meningkatkan kualitas dan kuantitas bunga, seperti pada mawar (Kermani *et al.* 2003) dan pacar air (Wiendra *et al.* 2011).

Penelitian tentang induksi poliploid talas pernah dilakukan terhadap *Redbud taro* dengan mutagen kolkisin 0,1% selama 72 jam menghasilkan persentase poliploid sebesar 20.5% (Senrong & Minghua 2013) dan talas kultivar Bentul dengan mutagen orizalin 7.5 μ M menghasilkan talas tetraploid sebesar 20.0% (Wulansari *et al.* 2016). Induksi poliploidi terhadap talas kultivar Kaliurang belum pernah dilakukan. Talas Kaliurang memiliki ketahanan yang baik terhadap penyakit hawar daun dan serangan hama (Prana & Kuswara 2002). Induksi poliploidi yang dilakukan diharapkan akan menghasilkan tanaman yang memiliki produktivitas tinggi serta resisten terhadap berbagai penyakit setelah dilakukan berbagai tahap seleksi sehingga lebih unggul dibandingkan dengan talas diploid. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh metode induksi poliploidi yang efisien pada talas Kaliurang dengan menggunakan kolkisin secara *in vitro* berdasarkan kombinasi konsentrasi kolkisin dan waktu perendaman.

BAHAN DAN CARA KERJA

Tunas *in vitro* talas Kaliurang diploid ($2n=2x=24$) yang ditumbuhkan pada media MS0 diperbanyak pada media perbanyak TA (media MS dengan penambahan 2 mg/L BAP, 2 mg/L adenin, dan 1 mg/L tiamin) (Wulansari *et al.* 2016). Planlet talas berumur 2 minggu dari subkultur terakhir dibersihkan pelepahnya kemudian petiol dipotong, disisakan sekitar 1 cm sehingga tinggal bonggol dengan petiol terpotong, yang digunakan sebagai bahan penelitian (eksplan). Eksplan kemudian direndam dalam larutan kolkisin 0.05, 0.1 dan 0.2% selama 1, 2 dan 3 hari. Sterilisasi larutan kolkisin dilakukan dengan menggunakan filter berukuran pori 0,2 μ m. Kontrol yang digunakan adalah eksplan tanpa perendaman kolkisin. Setiap perlakuan terdiri atas 12 ulangan. Eksplan direndam dalam Erlenmeyer berisi 5 mL larutan kolkisin dan dikocok dengan kecepatan 100 rpm di atas *shaker*. Setelah perendaman, eksplan dicuci dengan akuades steril sebanyak 3 kali, kemudian

ditanam ke media perbanyak tunas (media TA). Media mengandung gula (30 g/L), pH media diatur 5,8 dan dipadatkan dengan agar (3 g/L). Tunas dipelihara di dalam ruang inkubasi pada suhu 25-26 °C dengan pencahayaan kontinyu.

Pengamatan dilakukan setiap minggu sampai 8 minggu setelah tanam (MST). Persentase hidup dihitung berdasarkan jumlah tunas yang hidup dibagi dengan total tunas yang dikultur. Parameter pertumbuhan yang diamati yakni panjang petiol, jumlah daun, jumlah anakan dan jumlah akar. Panjang petiol diamati dengan cara mengukur petiol terpanjang. Pengamatan jumlah daun dilakukan dengan cara menghitung total helaian daun yang masih segar ditambah dengan daun yang telah layu. Seluruh parameter pertumbuhan dihitung nilai rata-ratanya sesuai dengan jumlah tunas yang hidup pada setiap waktu pengamatan.

Analisis tingkat ploidi dilakukan dengan menggunakan alat flositometer. Bahan tanaman yang digunakan adalah daun tunas talas hasil induksi berumur 9 MST. Metode flositometri yang digunakan mengikuti metode untuk tanaman *Artemisia annua* oleh Al Hafiih *et al.* (2013). Potongan daun berukuran sekitar 0,5 cm² diletakkan di atas cawan petri, ditetesi dengan 250 µL *buffer cystain uv-ploidi*, kemudian dicacah menggunakan silet hingga halus. Cacahan daun disaring dengan saringan milipor berukuran pori 30 µm, filtrat selanjutnya dimasukkan ke dalam tabung kuvet, kemudian ditambah dengan 600 µL larutan pewarna fluoresens Propidium iodida. Sampel dimasukkan ke dalam alat flositometer, dibaca pada panjang gelombang 440 nm dan kecepatan 1000 nukleus per detik. Eksplan daun tanaman diploid digunakan sebagai pembanding. Rata-rata kandungan DNA dan *coefficient of variation* (CV) dari tiap sampel pada setiap puncak diamati dan dibandingkan dengan eksplan tanaman kontrol (diploid). Persentase efisiensi induksi tetraploid adalah persentase tunas hidup dikalikan dengan persentase tetraploid dibagi seratus (Lam *et al.* 2014).

Pada minggu ke-13, tunas talas hasil induksi ditumbuhkan pada media ½ MS (media MS dengan setengah konsentrasi unsur hara makro tanpa penambahan zat pengatur tumbuh) untuk menginduksi perakaran. Akar yang telah berukuran sekitar 3 cm (umur tunas sekitar 5

hari pada media ½ MS) dipotong kemudian dimasukkan ke dalam larutan paradiklorobenzen (PDB) jenuh selama 4 jam. Akar kemudian dicuci dengan akuades sebanyak 3 kali, kemudian difiksasi dalam larutan asam asetat:etanol (1:3) selama satu malam. Akar dicuci kembali dengan akuades sebanyak 3 kali, direndam dalam etanol 70% sampai akan digunakan untuk pembuatan preparat.

Akar hasil perendaman dalam etanol 70% dicuci dengan akuades sebanyak 3 kali, dihidrolisis dengan HCl 5N selama 15 menit, dibilas kembali dengan akuades sebanyak 3 kali, kemudian direndam dalam larutan pewarna aseto orsein 2% (dalam asam asetat 45%) selama 1-2 malam. Akar tersebut kemudian dipotong bagian ujungnya sekitar 3 mm, diletakkan di atas gelas preparat kemudian ditetesi lagi dengan larutan aseto orsein 2%. Gelas preparat ditutup menggunakan gelas penutup, kemudian diketuk-ketuk menggunakan ujung pensil, lalu ditekan menggunakan ibu jari. Preparat dilewatkan di atas api bunsen sebanyak 3 kali. Pengamatan dan penghitungan jumlah kromosom dilakukan menggunakan mikroskop cahaya pada perbesaran 400-1000x (Jong 1997).

HASIL

Persentase Hidup Tunas Talas Hasil Induksi

Perlakuan konsentrasi kolkisin dengan waktu perendaman menyebabkan pengaruh terhadap persentase hidup tunas yang bervariasi (Tabel 1). Perlakuan kontrol dan kolkisin 0.05% selama 1 hari tidak menunjukkan adanya kematian tunas hingga 8 MST, sedangkan perendaman pada konsentrasi 0.1 dan 0.2% selama 1 hari mulai menyebabkan kematian sejak 3 MST. Pengamatan pada 1 MST menunjukkan 100% tunas hidup pada kontrol dan perlakuan perendaman kolkisin selama 1 hari, namun terdapat kematian tunas pada konsentrasi kolkisin 0.05, 0.1 dan 0.2% selama 2 hari serta konsentrasi 0.05 dan 0.1% selama 3 hari. Perlakuan kolkisin tertinggi (0.2% 3 hari) tidak menyebabkan kematian tunas pada 1-3 MST.

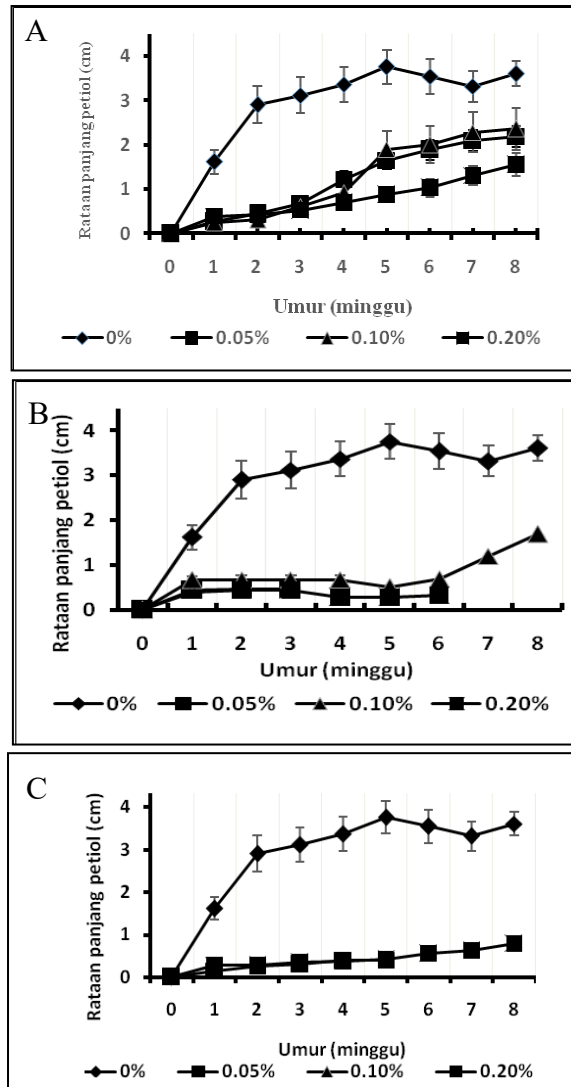
Pertumbuhan Tunas Talas Hasil Induksi

Pertumbuhan petiol talas Kaliurang pada konsentrasi 0% (kontrol) mengalami peningkatan besar hingga umur 3 MST kemudian terus

meningkat hingga 5 MST. Penurunan terjadi saat umur 6 dan 7 MST akibat layu kemudian meningkat pada 8 MST karena petiol tumbuh kembali. Pertumbuhan panjang petiol pada kontrol lebih besar dibandingkan dengan petiol dari perlakuan perendaman kolkisin. Pertumbuhan petiol dengan waktu perendaman 1 hari meningkat tiap minggunya pada semua konsentrasi (Gambar 1a). Terjadi peningkatan cukup besar pada konsentrasi 0.1% saat minggu 5 MST yang merupakan rerata dari 5 tunas yang hidup. Pada 8 MST, konsentrasi 0.1% memberikan nilai rerata tertinggi sebesar 2.36 cm, sedangkan konsentrasi 0.2% menunjukkan rerata terendah sebesar 1.55 cm.

Perendaman kolkisin selama 2 hari menyebabkan pertumbuhan petiol yang konstan bahkan mengalami penurunan akibat pertumbuhan yang sangat lambat (Gambar 1b). Pada perlakuan kolkisin 0.05% pertumbuhan panjang petiol hanya terjadi sampai 3 MST selanjutnya seluruh tunas mati. Terjadinya kenaikan panjang petiol cukup besar pada perlakuan kolkisin 0.1% mulai 5 MST yang berasal dari 1 tunas yang hidup dan pada umur 8 MST mencapai 1.70 cm. Kolkisin 0.2% memberikan rerata terendah sebesar 0.33 cm pada umur 6 MST.

Perendaman kolkisin selama 3 hari menyebabkan pola pertumbuhan petiol yang terus meningkat pada tiap minggunya, namun jauh lebih rendah dibandingkan dengan kontrol. Seluruh tunas pada perlakuan kolkisin 0.05% mati pada 6 MST, sedangkan pada kolkisin 0.1% mulai 1 MST. Pada kolkisin 0.2% masih



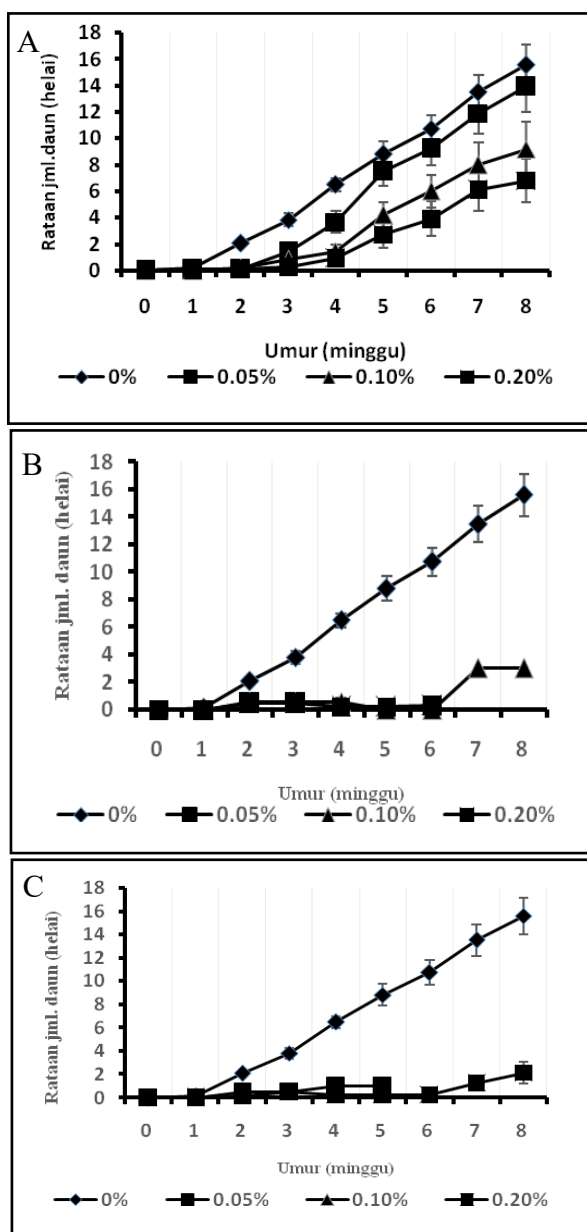
Gambar 1. Pertumbuhan panjang petiol talas Kaliurang hasil induksi kolkisin selama 8 MST. (a) perendaman 1 hari, (b) perendaman 2 hari, (c) perendaman 3 hari

Tabel 1. Rata-rata persentase hidup tunas talas Kaliurang hasil perlakuan kolkisin pada umur 1 hingga 8 MST

Lama perendaman (hari)	Konsentrasi kolkisin (%)	% tunas hidup pada umur pengamatan (minggu)								
		1	2	3	4	5	6	7	8	
Kontrol	0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
1	0.05	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
	0.10	100.0	100.0	75.0	75.0	41.7	41.7	41.7	41.7	41.7
	0.20	100.0	100.0	91.7	91.7	83.3	83.3	83.3	83.3	83.3
2	0.05	66.7	66.7	66.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	0.10	41.7	41.7	41.7	41.7	8.3	8.3	8.3	8.3	8.3
	0.20	66.7	66.7	66.7	41.7	41.7	25.0	0.0	0.0	0.0
3	0.05	16.7	16.7	8.3	8.3	8.3	0.0	0.0	0.0	0.0
	0.10	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	0.20	100.0	100.0	100.0	66.7	66.7	66.7	66.7	66.7	58.3

terdapat tunas hidup sampai umur 8 MST dengan nilai rerata panjang petiol sebesar 0.79 cm.

Rerata jumlah daun talas Kaliurang pada lama perendaman 1 hari meningkat tiap minggunya (Gambar 2a). Jumlah daun pada kontrol terus meningkat mulai umur 2 MST hingga 8 MST, namun pada perlakuan kolkisin daun mulai tumbuh pada umur 3 MST. Perendaman pada kolkisin 0.05% menyebabkan rerata jumlah daun tertinggi yaitu 13.9 helai dibandingkan perlakuan kolkisin lainnya. Rerata jumlah daun terendah



Gambar 2. Jumlah daun talas Kaliurang hasil induksi kolkisin selama 8 MST. (a) perendaman 1 hari, (b) perendaman 2 hari, (c) perendaman 3 hari

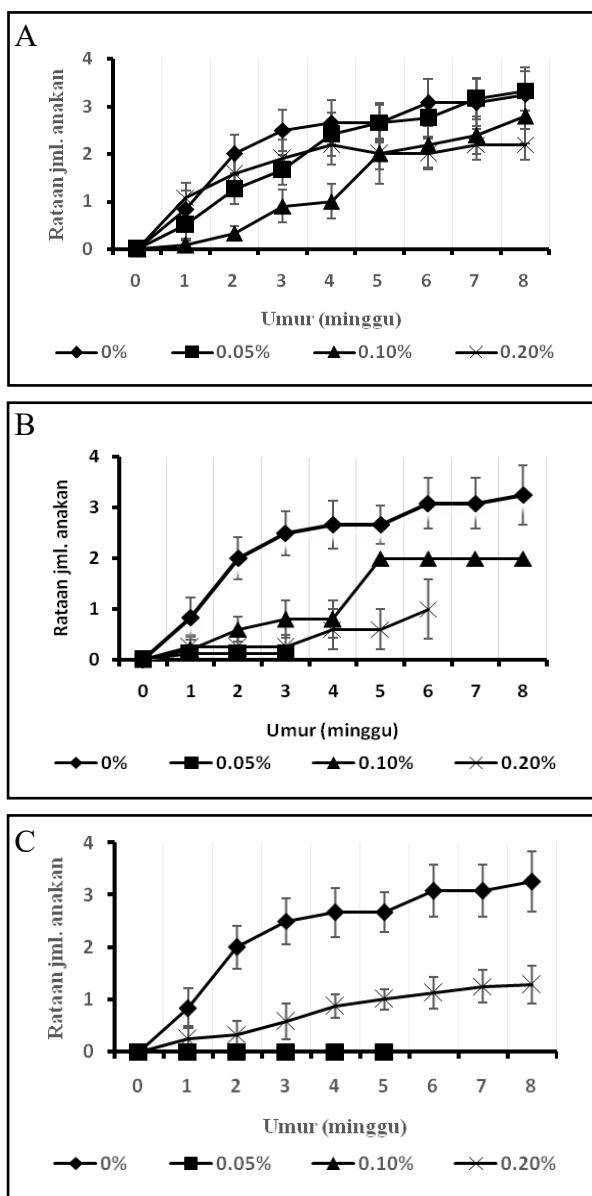
terdapat pada perlakuan kolkisin 0.2% yaitu sebanyak 6.8 helai. Penambahan jumlah daun pada perendaman 2 dan 3 hari hampir tidak terjadi (Gambar 2b dan 2c). Perendaman pada kolkisin 0.05% selama 2 hari menyebabkan kematian pada seluruh tunas talas sejak 4 MST, sedangkan perlakuan kolkisin 0.2% menyebabkan kematian sejak 7 MST. Pengamatan pada 8 MST, perendaman kolkisin 0.1% selama 2 hari memberikan rerata 3 daun (Gambar 2b). Perendaman dalam kolkisin 0.05% selama 3 hari menyebabkan kematian seluruh tunas mulai 6 MST, sedangkan kolkisin 0.1% tunas mati mulai 1 MST (Tabel 1). Pada 8 MST perlakuan kolkisin 0.2% menyebabkan rerata jumlah daun terbesar yaitu sebesar 2.1 helai dibandingkan dengan konsentrasi yang lain (Gambar 2c).

Gambar 3 menunjukkan rerata jumlah anakan pada tunas hasil induksi. Jumlah tunas anakan pada perendaman kolkisin selama 1 hari dan kontrol terus meningkat hingga 8 MST, kecuali pada hasil perendaman kolkisin 0.2% (Gambar 3a). Nilai rerata jumlah anakan tertinggi pada 8 MST berada pada perendaman kolkisin konsentrasi 0.05% yaitu sebesar 3.3 sedangkan rerata terendah berada pada perlakuan kolkisin 0,2% sebesar 2.2. Pertumbuhan anakan pada waktu perendaman 2 dan 3 hari menunjukkan pertumbuhan anakan lebih sedikit dibandingkan dengan kontrolnya (Gambar 3b dan 3c). Perlakuan kolkisin 0.05% selama 2 hari menyebabkan seluruh tunas mati pada umur 4 MST, sedangkan kolkisin 0.2% menyebabkan kematian tunas pada umur 7 MST. Pengamatan pada 8 MST menunjukkan nilai rerata terbesar diperoleh pada perlakuan kolkisin 0.1% selama 2 hari sebesar 2.0 (Gambar 3b). Perendaman dalam kolkisin 0.05% selama 3 hari menyebabkan kematian seluruh tunas mulai 6 MST, sedangkan kolkisin 0.1% tunas mati mulai 1 MST. Perlakuan kolkisin 0.2% selama 3 hari menyebabkan pertumbuhan anakan terus meningkat hingga umur 8 MST dengan nilai rerata 1.3 anakan (Gambar 3c).

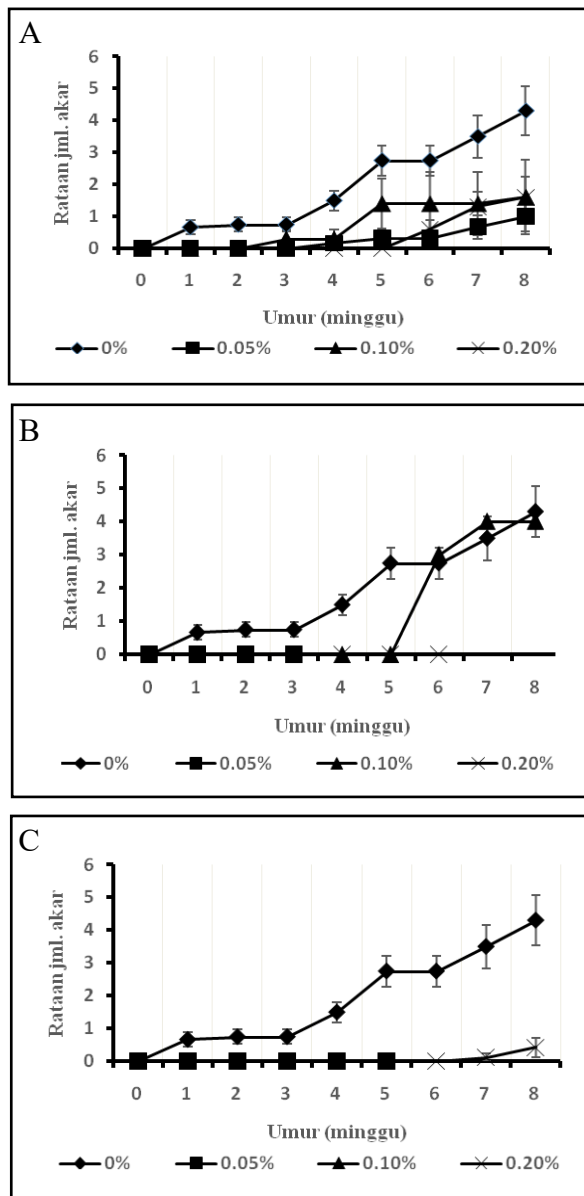
Rerata jumlah akar pada talas Kaliurang yang mendapat perlakuan kolkisin dengan waktu perendaman 1 hari lebih sedikit dibandingkan dengan kontrol (Gambar 4a). Nilai rerata terbesar saat 8 MST yaitu 1.6 pada perlakuan kolkisin 0.2% dan nilai rerata terendah yaitu 1.0

pada kolkisin 0.05%. Perendaman kolkisin dengan konsentrasi 0.05 dan 0.2% selama 2 hari tidak menumbuhkan akar pada tunas talas hasil induksi (Gambar 4b). Kolkisin 0.05% menyebabkan seluruh tunas mati pada umur 4 MST sedangkan kolkisin 0.2% menyebabkan kematian pada umur 7 MST. Pertumbuhan akar pada perlakuan kolkisin 0.1% mulai terlihat sejak umur 6 MST dari 1 tunas yang hidup (Tabel 1). Pada 8 MST, rerata jumlah akar dari perlakuan kolkisin konsentrasi 0.1% selama 2 hari adalah 4.0 (Gambar 4b).

Perlakuan perendaman 3 hari menunjukkan pengaruh berbeda dengan perlakuan kontrol (Gambar 4c). Perlakuan kolkisin dengan konsentrasi 0.05 dan 0.1% selama 3 hari tidak menyebabkan pertumbuhan akar pada tunas talas. Tunas talas hasil perlakuan kolkisin 0.05% hanya bertahan hidup sampai umur 5 MST sedangkan kolkisin 0.1% tunas talas mati seluruhnya sejak umur 1 MST (Tabel 1). Pertumbuhan akar pada tunas talas hasil perlakuan kolkisin 0.2% mulai terlihat pada umur 7 MST dan pada umur 8 MST rerata



Gambar 3. Jumlah anakan talas Kaliurang hasil induksi kolkisin selama 8 MST. (a) perendaman 1 hari, (b) perendaman 2 hari, (c) perendaman 3 hari



Gambar 4. Jumlah akar talas Kaliurang hasil induksi kolkisin selama 8 MST. (a) perendaman 1 hari, (b) perendaman 2 hari, (c) perendaman 3 hari

jumlah akarnya adalah 0.4 (Gambar 4c). Morfologi tunas *in vitro* pada umur 8 minggu setelah perlakuan perendaman kolkisin ditunjukkan pada Gambar 5.

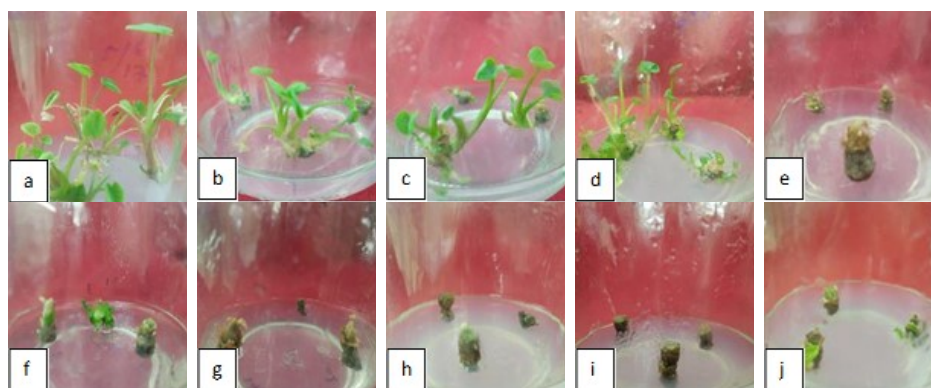
Deteksi Tingkat Ploidi Tunas Hasil Induksi

Analisis ploidi dengan flositometer terhadap anakan talas hasil induksi disajikan pada Tabel 2. Beberapa contoh hasil analisis flositometer ditampilkan dalam bentuk histogram (Gambar 6). Konfirmasi jumlah kromosom juga dilakukan dengan cara penghitungan melalui metode *squashing* (Gambar 7).

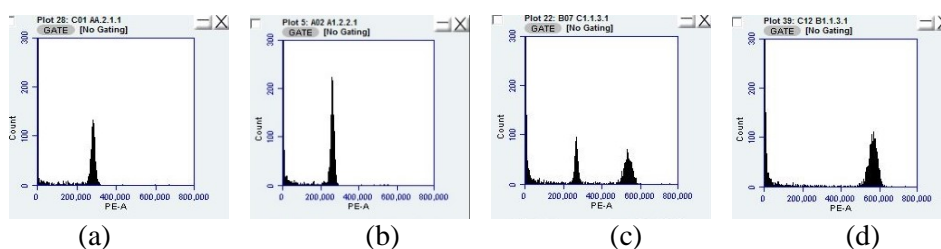
Perlakuan kolkisin memberikan pengaruh acak dalam menginduksi mutasi, sehingga

dalam penelitian ini ditemukan individu tunas poliploid (tetraploid), mikroploid (diploid-tetraploid) maupun tunas yang tetap bersifat diploid. Berdasarkan tabel 1, tunas anakan hasil perendaman 2 hari dalam kolkisin 0.05, 0.1 dan 0.2% serta perendaman selama 3 hari dalam kolkisin 0.05 dan 0.1% tidak bertahan hidup sehingga tidak dilakukan analisis flositometer.

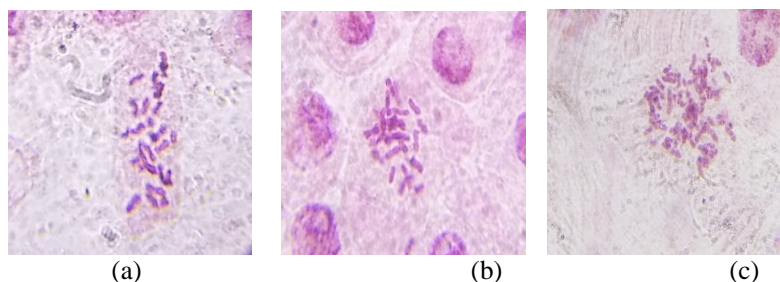
Persentase tunas diploid menurun seiring dengan meningkatnya konsentrasi kolkisin yang digunakan. Perendaman dalam kolkisin 0.05% selama 1 hari menghasilkan persentase tunas diploid terbesar yakni 57.1%. Sebaliknya, persentase tetraploid meningkat seiring peningkatan konsentrasi dan lama perendaman yang digunakan. Persentase



Gambar 5. Morfologi tunas talas Kaliurang hasil induksi kolkisin pada umur 8 MST. (a) kontrol, (b) 0.05% 1 hari, (c) 0.1% 1 hari, (d) 0.2% 1 hari, (e) 0.05% 2 hari, (f) 0.1% 2 hari, (g) 0.2% 2 hari, (h) 0.05% 3 hari, (i) 0.1% 3 hari, (j) 0.2% 3 hari



Gambar 6. Histogram flositometer tunas talas Kaliurang kontrol dan hasil perendaman kolkisin. (a) kontrol diploid, (b) diploid, (c) mikroploid, (d) tetraploid



Gambar 7. Jumlah kromosom hasil *squashing* dari akar talas Kaliurang. (a) kontrol diploid ($2n=2x=24$), (b) diploid hasil perendaman kolkisin 0.05% selama 1 hari, (c) tetraploid ($2n=4x=48$) hasil perendaman kolkisin 0.2% selama 1 hari

tetraploid tertinggi berada pada perlakuan kolkisin konsentrasi 0.2% 3 hari yaitu 57.1%. Perlakuan kolkisin 0.1 dan 0.2% dengan lama perendaman 1 hari juga memiliki persentase tetraploid cukup besar yakni berturut-turut 18.2 dan 20.0%. Namun, pada kedua konsentrasi tersebut juga dihasilkan tunas miksploid dengan persentase yang lebih besar dibandingkan dengan perlakuan kolkisin 0.2% selama 3 hari (Tabel 2).

Pengamatan jumlah kromosom dilakukan terhadap sel yang berasal dari akar dua tunas kontrol (diploid), dua tunas diploid dan tiga tunas tetraploid putatif hasil perendaman dalam kolkisin yang sebelumnya telah dideteksi tingkat ploidinya menggunakan flositometer. Hasil pengamatan menunjukkan jumlah kromosom tunas kontrol dan tunas diploid putatif hasil perlakuan kolkisin adalah $2n=2x=24$ (Gambar 7a dan 7b). Menurut Darlington dan Wylie (1955), jumlah kromosom dasar dari *Colocasia* adalah $x=12$ dan $x=14$. Hasil penghitungan kromosom dari tunas tetraploid menunjukkan jumlah kromosom sebanyak $2n=4x=48$ (Gambar 7c). Hal ini membuktikan bahwa telah terjadi proses penggandaan jumlah kromosom akibat perendaman dalam kolkisin.

PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa talas Kaliurang setelah perendaman dalam kolkisin mempunyai respon hidup yang bervariasi (Tabel 1). Secara visual kematian tunas ditandai

dengan perubahan warna tunas menjadi coklat pada seluruh bagian. Hasil pengamatan pada umur 8 MST menunjukkan bahwa persentase hidup tunas menurun dibandingkan umur 1 MST. Perendaman pada kolkisin 0.2% selama 1 hari menghasilkan persentase hidup sebesar 83.33%, kolkisin 0.1% selama 2 hari sebesar 8.33% dan kolkisin 0.2% selama 3 hari sebesar 58.33%. Nilai tersebut lebih besar dibandingkan dengan hasil perlakuan kolkisin konsentrasi lebih rendah dengan lama perendaman yang sama.

Berdasarkan penelitian Lam *et al.* (2014) pada tanaman *Acasia carsicarpa* perlakuan kolkisin 0.005% selama 1 hari menghasilkan persentase hidup sebesar 8% dan pada kolkisin 0.5% tidak satupun tanaman yang hidup. Penelitian Yulianti (2015) tentang induksi tetraploid pucuk jeruk Siam Simadu dengan perlakuan kolkisin 0.1% selama 3 jam menghasilkan persentase hidup sebesar 80% dan kolkisin 0.3% menghasilkan persentase hidup tunas sebesar 20%. Persamaan dari kedua penelitian tersebut adalah bahwa persentase hidup tunas berkurang seiring dengan meningkatnya konsentrasi kolkisin dan lama perendaman. Hasil yang didapat dari penelitian pada talas Kaliurang ini adalah peningkatan konsentrasi dan lama perendaman kolkisin tidak menurunkan persentase hidup tunas talas. Perbedaan ini diduga akibat kondisi sel pada setiap tanaman yang berbeda sehingga sensitivitas sel pun berbeda dalam merespon kolkisin menyebabkan persentase hidup

Tabel 2. Pengaruh perbedaan lama perendaman dan konsentrasi kolkisin terhadap tingkat ploidi talas Kaliurang hasil induksi

Lama perendaman (hari)	Konsentrasi kolkisin (%)	Tunas hidup (%)	Total tunas yang diamati	Tingkat ploidi/total tunas (%)			Persentase efisiensi induksi tetraploid*
				Diploid	Miksploid	Tetraploid	
Kontrol	0	100.0	10	100.0	0.0	0.0	0.0
1	0.05	100.0	28	57.1	28.6	14.3	14.3
	0.10	41.7	11	36.4	45.5	18.2	7.6
	0.20	83.3	15	40.0	40.0	20.0	16.7
	0.20	83.3	15	40.0	40.0	20.0	16.7
2	0.05	0.0	0	0.0	0.0	0.0	0.0
	0.10	8.3	0	0.0	0.0	0.0	0.0
	0.20	0.0	0	0.0	0.0	0.0	0.0
3	0.05	0.0	0	0.0	0.0	0.0	0.0
	0.10	0.0	0	0.0	0.0	0.0	0.0
	0.20	58.3	7	42.9	0.0	57.1	33.3

*Persentase efisiensi induksi tetraploid = (%tunas hidup x %tetraploid)/100

tunas yang lebih besar pada perlakuan kolkisin konsentrasi tinggi serta lama perendaman yang lebih lama. Selain itu, perbedaan umur planlet yang digunakan sebagai eksplan diduga menjadi penyebab terdapat perbedaan toleransi antara eksplan dengan kolkisin sehingga eksplan menjadi lebih kuat dan tidak menurunkan persentase hidupnya.

Pertumbuhan talas Kaliurang terhambat setelah perlakuan kolkisin (Gambar 1-3). Semakin tinggi konsentrasi dan lama perendaman dalam kolkisin menyebabkan tunas anakan yang tumbuh semakin sedikit. Pertumbuhan tunas yang terhambat diduga karena perlakuan lama perendaman dan konsentrasi kolkisin berakibat terhadap proses pembelahan sel menjadi abnormal. Hasil penelitian Dheer *et al.* (2014) pada *Lablab purpureus* menunjukkan penurunan pertumbuhan termasuk panjang petiol pada biji yang diberi perlakuan kolkisin 0.5% selama 6 dan 9 jam. Pertumbuhan tunas hasil induksi yang lebih kecil diduga akibat rusaknya jaringan tanaman setelah terpapar kolkisin sehingga membutuhkan waktu yang lebih lama untuk pemulihan (Damayanti & Mariska 2003).

Perlakuan kolkisin untuk induksi poliploid menurunkan pertumbuhan tunas talas Kaliurang. Hal ini terlihat pada pertumbuhan panjang petiol (Gambar 1), jumlah daun (Gambar 2), jumlah anakan (Gambar 3) dan jumlah akar (Gambar 4) yang lebih rendah sehingga ukuran tanaman menjadi lebih kecil dibandingkan dengan tunas kontrol sampai pengamatan minggu ke-8. Pertumbuhan tunas hasil perlakuan kolkisin yang lebih lambat tersebut diduga karena tanaman mengalami fase pemulihan yang lebih lama dibandingkan kontrol (Damayanti & Mariska 2003). Hasil yang diperoleh memiliki kesamaan dengan penelitian-penelitian induksi poliploid pada beberapa tanaman lain yang sensitif terhadap kolkisin; Rauf *et al.* (2006) menyatakan kolkisin 1% dapat menurunkan pertumbuhan tinggi tanaman kapas (*Gossypium arboreum* L.) dibandingkan dengan kontrolnya. Berdasarkan hasil penelitian Kristina & Syahid (2015), perlakuan kolkisin 0.05% menyebabkan tanaman lada tampak lebih kerdil dengan jumlah daun dan ruas yang lebih pendek dan sedikit dibandingkan dengan kontrolnya. Wolfe (1983) menyatakan kolkisin dapat menghalangi perakitan mikrotubula

penyusun rangka sel dan merusak tata letak protein pada membran sel yang diatur oleh mikrotubula dan mikrofilamen sehingga molekul-molekul dalam sitoplasma tidak terdistribusi dengan baik mengakibatkan pertumbuhan tanaman menjadi lambat.

Tanaman poliploid biasanya memiliki sifat lebih unggul dibandingkan dengan tanaman diploid. Ukuran batang, daun, bunga, buah yang lebih besar umum ditemukan pada tanaman poliploid sehingga mutasi melalui poliploidisasi menjadi salah satu pilihan dalam usaha perbaikan genetik, seperti pada bunga *Petunia axillaris* triploid yang memiliki pertumbuhan tanaman dan ukuran bunga yang lebih besar (Gupta 1982) dan pada tanaman stroberi festival yang memiliki perawakan lebih besar dibandingkan dengan kontrolnya akibat perlakuan kolkisin 0.05 dan 0.01% (Aristya & Daryono 2014). Namun, kolkisin diketahui bersifat toksik bagi tanaman sehingga menurunkan pertumbuhan vegetatif tanaman pasca induksi poliploid, seperti pada tanaman kacang hijau (Haryanti *et al.* 2009) dan jeruk Siam Simadu (Yulianti 2015).

Menurut Mugiono (2001), kerusakan fisiologis yang timbul akibat perlakuan kolkisin dapat disebabkan karena kerusakan kromosom maupun kerusakan sel di luar kromosom. Kristina & Syahid (2015) menyatakan bahwa kerusakan fisiologis hanya terjadi pada generasi pertama dari tanaman yang diberi perlakuan mutagen, sedangkan anakan selanjutnya tampak tumbuh lebih baik. Oleh karena itu, pengamatan karakter morfologi lanjutan hingga beberapa generasi terhadap tunas talas yang diduga poliploid diperlukan untuk mengetahui pertumbuhan fenotip dari talas poliploid pasca induksi dengan kolkisin.

Kolkisin hanya efektif dalam menginduksi poliploid pada sel meristem yang sedang mengalami pembelahan. Perbedaan fase pembelahan setiap sel menyebabkan tidak terinduksinya semua sel meristem oleh kolkisin secara bersamaan sehingga membuat perbedaan tingkat ploidi antar tunas atau membuat terjadinya kimera, yaitu sel dengan dua jenis set kromosom. Persentase tunas miksploid terbesar terdapat pada perendaman kolkisin 0.1% selama 1 hari (Tabel 2). Perlakuan kolkisin 0.2% selama 3 hari tidak menghasilkan tunas miksploid. Tunas miksploid tidak diharapkan

dalam induksi poliploid karena sifatnya yang tidak stabil. Perkembangan dua jenis sel yang berbeda pada tunas miksploid akan berkompetisi selama pertumbuhannya. Menurut Kainth & Grosser (2010), sel diploid memiliki laju pembelahan yang lebih cepat dibandingkan sel autotetraploid sehingga memungkinkan tunas miksploid yang dihasilkan berubah menjadi diploid kembali.

Efisiensi induksi tetraploid dihitung untuk mengetahui konsentrasi kolkisin yang paling efisien dalam menginduksi tetraploidisasi. Perlakuan kolkisin 0.05, 0.1 dan 0.2% dengan lama perendaman 1 hari mampu menginduksi terjadinya poliploidisasi pada talas Kaliurang dengan nilai efisiensi berturut-turut sebesar 14.3, 7.6 dan 16.7%. Nilai efisiensi induksi tetraploid terbesar berada pada perlakuan kolkisin 0.2% dengan lama perendaman 3 hari dengan nilai sebesar 33.3%. Pada tanaman *Acacia carpa*, kolkisin 0.02% selama 24 jam paling efisien dalam menghasilkan tanaman tetraploid (Lam *et al.* 2014). Selain itu, Wulandari *et al.* (2015) menyatakan bahwa perlakuan kolkisin 0.1% selama 1 jam paling efisien dalam menghasilkan tanaman jeruk Purnama Nambangan tetraploid. Setiap tanaman memiliki respon yang berbeda terhadap kolkisin tergantung jenis dan organ dari tumbuhan yang diberi perlakuan. Oleh karena itu terdapat keberagaman hasil dari konsentrasi kolkisin dan lama perendaman yang digunakan untuk menginduksi poliploid secara optimal.

Perubahan jumlah kromosom (Gambar 7) disebabkan karena senyawa kolkisin berikatan dengan protein tubulin sehingga menghambat proliferasi tubulin dan akhirnya tidak terbentuk benang gelendong pada tahap metafase saat mitosis sel (Borisy & Taylor 1967). Tidak terbentuknya benang gelendong menyebabkan pemisahan kromosom pada tahap anafase tidak terjadi dan mengakibatkan penggandaan kromosom tanpa terjadinya pembelahan sel. Penggandaan jumlah kromosom dalam sel akan menekan dinding sel ke arah luar sehingga menyebabkan ukuran sel yang lebih besar pada tanaman poliploid. Escandon *et al.* (2006) menyatakan bahwa tanaman poliploid memiliki perawakan yang lebih besar dan kekar meliputi akar, batang, daun, bunga dan buah akibat ukuran sel yang lebih besar dibandingkan tanaman diploidnya.

KESIMPULAN

Perlakuan perendaman tunas *in vitro* dengan larutan kolkisin konsentrasi 0.05, 0.1 dan 0.2% selama 1 hari sudah mampu menginduksi poliploidisasi pada talas Kaliurang yang telah dikonfirmasi dengan flositometer dan penghitungan kromosom. Efisiensi dalam menghasilkan tunas tetraploid tertinggi didapatkan dari perlakuan perendaman 0.2% kolkisin selama 3 hari. Pertumbuhan tunas setelah perlakuan kolkisin lebih lambat dibandingkan dengan kontrol.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Aida Wulansari M.Si., Erwin Al Hafizh, M.Si., dan Deritha Ellfy Rantau, SP., yang telah menyediakan bahan penelitian, analisis tingkat ploidi dan pengamatan kromosom. Penelitian ini didanai oleh anggaran DIPA Pusat Penelitian Bioteknologi, LIPI tahun anggaran 2016-2017.

DAFTAR PUSTAKA

- Al Hafizh, E., TM. Ermayanti, & DE. Rantau. 2013. Induksi tanaman poliploid dari kecambah *in vitro* *Artemisia annua* L. dengan perlakuan kolkisin. Prosiding Seminar Nasional Kimia Terapan Indonesia. Solo, 23 Mei 2013. 117-123.
- Aristya, GR. & BS. Daryono. 2014. Karakteristik fenotipik tanaman stroberi festival (*Fragaria x ananassa* D.) hasil induksi kolkisin pada konsentrasi 0.05% dan 0.01%. *Biogenesis*. 2 (2):70-78.
- Borisy, GG. & EW. Taylor. 1967. The mechanism of action of colchicine, binding of colchicine-H² to cellular protein. *Journal of Cell Biology*. 34:525.
- Damayanti, FI. & I. Mariska. 2003. Induksi poliploid dengan kolkisin pada hibrid F1 hasil persilangan antar spesies pada tanaman panili asal Ciamis. *Berita Biologi*. 6(4):589-594.
- Darlington, CD. & AP. Wylie. 1955. *Chromosome Atlas of Flowering Plants*. London (UK): George Allen & Unwin LTD.
- Dheer, M., RA. Sharma, VP. Gupta, & SS. Punia. 2014. Cytomorphological investigations

- in colchicine-induced polyploids of *Lablab purpureus* (L.) sweet. *Indian Journal on Biotechnology*. 13:347-355.
- Escandon, AS., JC. Hagiwara, & LM. Alderete. 2006. A new of *Bacopa monnieri* obtained by *in vitro* polyploidization. *Journal of Biotechnology*. 9:181-186.
- Gupta, PP. 1982. Genesis of microspore-derived triploid petunias. *Theoretical Applied Genetics*. 61:327-331.
- Haryanti, S, RB. Hastuti, N. Setiari, & A. Banowo. 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.
- Ivancic, A., O. Rouspard, JQ. Garcia, M. Meltras, T. Molisale, S. Tara, & V. Lebot. 2008. Thermogenesis and flowering biology of *Colocasia gigantea*, Araceae. *Journal of Plant Research*. 121:73-82.
- Jong, K. 1997. Laboratory Manual of Plant Cytological Technique. Edinburgh (UK):Royal Botanic Garden.
- Kainth, D. & JW. Grosser. 2010. Induction of autotetraploid in pumelo (*Citrus grandis* L. Osbeck) through colchicine treatment of meristematically active seeds *in vitro*. *Proceedings on Florida State Horticultural Society*. 123:44-48.
- Kermani, MJ., V. Sarasan, AV., Roberts, K. Yokoya, J. Wentworth, & VK. Sieber. 2003. Oryzalin induced chromosome doubling in rosa and its effect on plant morphology and pollen viability. *Theoretical Applied Genetics*. 107:1195-1200.
- Kristina, NN. & SF. Syahid. 2015. Pengaruh kolkhisin terhadap penampilan lada (*Piper nigrum* L.) mutan dan analisis ploidi. *Jurnal Litbang Tanaman Industri*. 21(3):125-130.
- Kusumo, S., H. Maharani, M. Sugiono, T. Machmud, H. Atmadja, N. Agus, & K. Husni. 2002. *Panduan Karakterisasi dan Evaluasi Plasma Nutfah Talas*. Bogor (ID): Departemen Pertanian Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Komisi Nasional Plasma Nutfah.
- Lam HK., JL. Harbard, & A. Koutoulis. 2014. Tetraploid induction of *Acacia crassicarpa* using colchicine and oryzalin. *Journal of Tropical Forest Sciences*. 26(3):347-354.
- Martin AF., NS. Hartati, A. Wulansari, S. Noorohmah, PD. Aryaningrum, & Witjaksono. 2014. Manipulasi sel somatik dan transgenesis tanaman talas. Prosiding Seminar Nasional Hasil Penelitian Unggulan Bidang Pangan Nabati. Bogor, 25 September 2014. 75-90.
- Mugiono. 2001. *Pemuliaan Tanaman dengan Teknik Mutasi*. Jakarta (ID): Pusat Pendidikan dan Pelatihan Badan Tenaga Atom Nasional.
- Murashige, T., & F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*. 15(3):473-497.
- Prana, MS. 2007. Studi biologi pembungaan pada talas (*Colocasia esculenta* (L.) Schott.). *Biodiversitas*. 8(1):63-66.
- Prana, MS, & T. Kuswara. 2002. *Budi Daya Talas: Diversifikasi untuk Menunjang Ketahanan Pangan Nasional*. Jakarta (ID): Medikom Pustaka Mandiri.
- Purseglowe, JW. 1975. *Tropical Crops: Monocotyledons*. London (US): Longman Group Ltd.
- Rauf, S., IA. Khan, & FA. Khan. 2006. Colchicine-induced tetraploidy and changes in allele frequencies in colchicine-treated populations of diploid assessed with RAPD markers in *Gossypium arboreum* L. *Turkey Journal of Biology*. 30:93-100.
- Senrong, H., & Y. Minghua. 2013. Method of inducing polyploid of jiangxi qianshan red-bud taro. Paten China CN 103262792 A.
- Sukamto, LA., F. Ahmad, & AH. Wawo. 2010. Pengaruh oryzalin terhadap tingkat ploidi tanaman garut (*Maranta arundinacea* L.). *Buletin Penelitian Tanaman Rempah dan Obat*. 21(2):93-102.
- Syaifudin, A., E. Ratnasari, & Isnawati. 2013. Pengaruh pemberian berbagai konsentrasi kolkhisin terhadap pertumbuhan dan produksi tanaman cabai (*Capsicum annum*) varietas lada fl. *Lentera Biologi*. 2(2):167-171.

- Thao, NTP., K. Ureshino, I. Miyajima, Y. Ozaki, & H. Okubo. 2003. Induction of tetraploids in ornamental *Alocasia* through colchicine and oryzalin treatments. *Plant Cell Tissue and Organ Cultures*. 72:19-25.
- Tuyl, JMV., B. Meijer, & MP. Van Dien. 1992. The use of oryzalin as an alternative for colchicine in *in vitro* chromosome doubling of *Lilium* and *Nerine*. *Acta Horticulturae*. 325:625-625.
- Wiendra, NMS., M. Phamawati, & NPA. Astiti. 2011. Pemberian kolkisin dengan lama perendaman berbeda pada induksi poliploidi tanaman pacar air (*Impatiens balsamina* L.). *Jurnal Biologi*. 15(1): 9-14.
- Wolfe, SL. 1983. *Introduction to Cell Biology*. California (US): Wadsworth Publishing Company.
- Wulandari, DR., TM. Ermayanti, A. Purwito, S. Susanto, & A. Husni. 2015. *In vitro* induction of tetraploid pummelo 'Nambangan' (*Citrus maxima* (Burm.) Merr.) by colchicine treatment using germinated seed, shoot tip and cotyledonary node as eplants. *Annales Bogorienses*. 19(1):5-7.
- Wulansari, A., AF. Martin, TM. Ermayanti. 2016. Induksi tanaman poliploid talas (*Colocasia esculenta* L.) dengan perlakuan orizalin secara *in vitro*. *Jurnal Biologi Indonesia*. 12(2):297-305.
- Yulianti, F., A. Purwito, A. Husni, & 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.
- Zhang, W., H. Hao, L. Ma, & LX. Yu. 2010. Tetraploid muskmelon alters morphological characteristics and improves fruit quality. *Scientia Horticulturae*. 125(3):396-4.