

Optimasi Penggunaan Mutagen Kolkisin untuk Peningkatan Produktivitas Tanaman Stylo (*Stylosanthes guianensis* (Aubl.) Sw.)

Optimalization of Colchicine Mutagen Utilization to Increase Stylo Productivity (*Stylosanthes guianensis* (Aubl.) Sw.)

N Yulia*, I Prihantoro, P D M H Karti

Corresponding email:
nindiyulia570@gmail.com

Departemen Ilmu Nutrisi dan
Teknologi Pakan Fakultas
Peternakan IPB University, Jl.
Agatis Kampus IPB Dramaga,
Bogor, Indonesia

Submitted: 31st December 2021
Accepted : 20th April 2022

ABSTRACT

Colchicine is a chemical that induced mutation in plants through doubling of plant chromosomes so that polyploid plants are produced which have a larger size than diploid plants. This study aimed to determine the optimal level and soaking time of colchicine to increase the productivity of stylo plants. This study used a Completely Randomized Factorial Design (CRD) with two factors and six replications. Factor A is the colchicine level of 0 ppm, 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm and 100 ppm. Factor B is the soaking time of 12 hours, 24 hours and 36 hours. The variables observed were vertical height, stem diameter, leaflets length, leaflets width and number of trifoliolate leaves. The results showed that the colchicine at a level of 25 ppm with soaking time of 12 hours had a significant effect ($p < 0.05$) on the increase in plant vertical height, stem diameter, and leaf width by 75.62 cm, 3.08 mm and 0.90 cm, respectively. The number of trifoliolate leaves from the colchicine treatment and the length of the leaflets were not significantly different. The conclusion of this research is colchicine level of 25 ppm and soaking time of 12 hours can increase plant vertical height, stem diameter and leaf width on stylo plants aged 14 WAP (*Weeks After Planting*).

Key words: colchicine level, productivity, soaking time, stylo

ABSTRAK

Kolkisin merupakan mutagen kimia yang dapat menyebabkan penggandaan pada kromosom tumbuhan sehingga dihasilkan tanaman poliploid dengan memiliki ukuran yang lebih besar dari tanaman diploid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui level dan lama perendaman kolkisin yang optimum untuk peningkatan produktivitas tanaman stylo. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial dengan dua faktor dan enam ulangan. Faktor A merupakan level kolkisin yang terdiri dari 0 ppm, 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm dan 100 ppm. Faktor B merupakan lama perendaman yang terdiri dari 12 jam, 24 jam dan 36 jam. Peubah yang diamati meliputi tinggi vertikal, diameter batang, panjang anak daun, lebar anak daun dan jumlah daun trifoliolate. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kolkisin level 25 ppm dan lama perendaman 12 jam berpengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap peningkatan tinggi vertikal tanaman menjadi 75,62 cm, diameter batang menjadi 3,08 mm, dan lebar anak daun menjadi 0,90 cm, sedangkan jumlah daun trifoliolate tanaman dari hasil perlakuan kolkisin tidak lebih banyak dari pada kontrol dan panjang anak daun tanaman tidak berbeda nyata. Simpulan hasil penelitian ini kolkisin level 25 ppm dan lama perendaman 12 jam dapat meningkatkan tingi vertikal tanaman, diameter batang dan lebar anak daun pada tanaman stylo umur 14 MST.

Kata kunci: lama perendaman, level kolkisin, produktivitas, stylo

PENDAHULUAN

Stylosanthes guianensis (stylo) merupakan tanaman *perennial* yang berasal dari Amerika Selatan dan Amerika Tengah (Wu *et al.* 2015). *Stylosanthes guianensis* merupakan spesies *Stylosanthes* yang telah beradaptasi dan tersebar cukup luas (Jain & Gupta 2013). Tanaman ini termasuk dalam hijauan leguminosa yang digunakan sebagai pakan ternak ruminansia dan telah beradaptasi dengan baik di Indonesia. Tanaman ini merupakan hijauan sumber protein dengan kandungan mineral tinggi dan nutrisi lainnya. Kandungan dan komposisi kimia pada hijauan stylo relatif lebih tinggi dibandingkan dengan hijauan rumput yaitu mengandung PK 16-17 % dan SK 28% (Litbang Pertanian 2012). Jenis hijauan ini sangat disukai oleh seluruh ternak ruminansia serta digunakan sebagai *feed supplement* untuk ternak ayam, babi dan ikan. Tanaman ini tahan terhadap kekeringan dan toleran terhadap beberapa jenis tanah. Produksi hijauan stylo di Indonesia mencapai 40 ton ha⁻¹ tahun⁻¹ dalam bahan kering (BK). Umur panen pertama yang ideal pada tanaman ini adalah umur 4 bulan (126 HST) atau ketika tanaman mulai berbunga minimal sebanyak 5%. Panen selanjutnya dapat dilaksanakan kisaran 50-70 hari (Litbang Pertanian 2012).

Upaya peningkatan produktivitas hijauan stylo sangat berpotensi untuk dilakukan di Indonesia melalui perbaikan mutu genetik hijauan. Strategi untuk mendapatkan hijauan dengan kualitas sifat genetik yang lebih baik dapat dilakukan melalui pemuliaan tanaman. Pemuliaan tanaman menyebabkan pengacakan karakter tanaman sehingga dapat mendukung perbaikan tanaman melalui metode seleksi sehingga dihasilkan populasi baru dengan sifat genetik yang baru. Pemuliaan tanaman dapat dilakukan dengan teknik mutasi. Su *et al.* (2015) menyatakan bahwa mutasi merupakan perubahan materi genetik secara acak pada makhluk hidup yang menyebabkan sifat abnormal pada karakter morfologi tanaman. Mutasi dapat bersifat menguntungkan jika dapat memperbaiki sifat genetik tanaman. Menurut Suryohudoyo (2013) mutasi adalah perubahan pada taraf gen, nukleotida ataupun kromosom yang terjadi pada bahan genetik yaitu DNA atau RNA. Mutasi kimia sering digunakan untuk meningkatkan kualitas dan kuantitas tanaman hortikultura (Gultom 2016). Mutasi dengan menggunakan mutagen kimia merupakan salah satu jenis mutasi induksi atau buatan manusia. Mutasi kimia pada tumbuhan sering dilakukan menggunakan kolkisin. Mutasi yang ditimbulkan akibat penggunaan kolkisin merupakan mutasi sitologi karena dapat merubah bentuk, ukuran atau jumlah kromosom pada tanaman (Crowder 1986). Produk-produk yang dihasilkan dari pengaplikasian mutagen kimia memiliki ancaman terhadap plasma nutfah, sehingga diatur oleh Peraturan Pemerintah Republik Indonesia Nomor 21 tahun 2005 tentang keamanan hayati produk rekayasa genetik (PRG). Keamanan hayati produk rekayasa genetik adalah keamanan lingkungan, keamanan pangan

dan/atau keamanan pakan produk rekayasa genetik (Pemerintah Indonesia 2005).

Kolkisin (C₂₂H₂₅O₆N) merupakan alkaloid dengan ciri berwarna putih (Suminah *et al.* 2002). Kolkisin alami berasal dari ekstrak biji *Colchicum autumnale* yang berfungsi sebagai mutagen kimia untuk menghasilkan tanaman poliploid atau tanaman yang memiliki jumlah set kromosom ganda. Menurut Hayati *et al.* (2005) kolkisin memiliki makrotubula, sehingga penggunaannya dapat menyebabkan penggandaan pada jumlah kromosom tanaman sehingga terbentuk tanaman poliploid. Kolkisin dapat menghalangi terbentuknya gelondong pembelahan sel sehingga pada fase metaphase pasangan kromatid diproses pembelahan sel tidak dapat membelah namun sudah terjadi penggandaan sehingga efeknya adalah terbentuknya organisme yang poliploid, dimana organisme ini dicirikan dengan produktivitas yang tinggi, buah besar dan tidak berbiji. Murni (2010) menambahkan bahwa penggunaan mutagen kolkisin pada suatu level dapat menghambat penyusunan mikrotubula benang spindel. Hal ini menyebabkan di fase mitosis sel terjadi kegagalan pemisahan pada kromosom yang telah mengalami penggandaan selama interfase sehingga mengubah sel organisme diploid menjadi poliploid. Poliploidi mendukung program pengembangan tanaman budi daya dan evolusi tanaman. Induksi poliploidi variasi tetraploid merupakan strategi dalam meningkatkan kualitas dan produksi biomasa tanaman (Raney 2002).

Peningkatan jumlah ploidi berpengaruh pada penampilan fenotip tanaman, seperti peningkatan ukuran organ tanaman termasuk ukuran daun, produktivitas dan kualitas tinggi sehingga mempengaruhi produksi total hijauan (Wu *et al.* 2015). Level kolkisin dan lama perendaman akan berbeda-beda untuk setiap tanaman, mutagen kolkisin yang diaplikasikan menggunakan level dan lama perendaman optimum dapat menyebabkan tanaman stylo menjadi poliploid. Penelitian tentang induksi poliploid pada stylo (*Stylosanthes guianensis*) pernah dilakukan di China menggunakan mutagen kolkisin dengan konsentrasi 0,20% selama 48 jam menghasilkan persentase poliploid sebesar 10%, namun level dan lama perendaman tersebut masih bersifat toksik bagi tanaman stylo karena menyebabkan kematian yang cukup tinggi. Induksi kolkisin pada stylo belum pernah dilakukan di Indonesia dalam upaya meningkatkan keunggulannya sehingga tingkat produksi berpotensi untuk ditingkatkan melalui pemuliaan teknik mutasi ini. Level dan lama perendaman kolkisin pada penelitian ini diturunkan dibawah level 0,20% dan lama perendaman 48 jam. Induksi poliploid yang dilakukan dengan level kolkisin dan lama perendaman tersebut diharapkan optimal sehingga dapat menginduksi tanaman menjadi poliploid dan dapat berpengaruh positif terhadap peningkatan produktivitas

tanaman stylo. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui level kolkisin dan lama perendaman kolkisin yang optimum untuk meningkatkan produktivitas tanaman stylo.

METODE

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu benih *Styloshanthes guianensis*, zeolit, ab mix, kolkisin dan pestisida. Prosedur penelitian ini dimulai dengan preparasi tanaman. Nampan disiapkan untuk wadah penyemaian kemudian diisi dengan media tanam zeolit. Zeolit dibasahi dengan air kemudian benih disebar ke permukaan media secara merata. Zeolit ditaburkan kembali untuk menutupi benih dan kemudian dibasahi air kembali. Benih yang disemai ditempatkan pada area yang terkena sinar matahari. Penyemaian dilakukan sampai tanaman berumur 2 MST (Minggu Setelah Tanam). Tahap kedua yaitu preparasi mutagen yang dimulai dengan dibuat larutan stok kolkisin pada konsentrasi 1000 ppm, dimana 1 gram kolkisin dilarutkan dalam 1 liter aquades. Pembuatan larutan stok dilakukan dengan memperkecil volume larutan stok menjadi 100 ml, sehingga dibutuhkan 0,1 gram kolkisin dalam 100 ml aquades. Pembuatan larutan kolkisin berkonsentrasi 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm dan 100 ppm dilakukan dengan metode pengenceran dari larutan stok, dengan rumus pengenceran (Valentino et al. 2020) yaitu:

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

Keterangan :

V_1 = volume larutan stok yang diambil (ml)

M_1 = konsentrasi larutan stok (ppm)

V_2 = volume larutan hasil pengenceran (ml)

M_2 = konsentrasi larutan hasil pengenceran (ppm)

Larutan kolkisin 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm dan 100 ppm dibuat dari larutan stok dan aquades dengan rasio larutan secara berturut-turut sebesar (1:40), (1:20), (1:13,33), (1:10). Level kolkisin yang digunakan adalah level rendah dari rekomendasi penelitian Mansyurdin (2000) bahwa level kolkisin optimum untuk membentuk tanaman tetraploid berada pada level 100 ppm dan 500 ppm, namun pada level 100 ppm menghasilkan persentase kematian kecambah yang rendah sedangkan pada level 500 ppm menghasilkan persentase kematian kecambah yang tinggi sehingga level kolkisin tertinggi dalam penelitian ini ditetapkan sebesar 100 ppm. Tahap ketiga yaitu induksi kolkisin dan pindah tanam yang dimulai dengan dituangkannya larutan kolkisin kedalam cawan petri secara terpisah. Tanaman stylo yang sudah disemai dan berumur 2 minggu dikeluarkan dari media penyemaian kemudian direndam kedalam beberapa larutan kolkisin. Perendaman tanaman di beberapa level larutan kolkisin dilakukan dalam 3 waktu perendaman yaitu perendaman selama 12 jam, 24 jam dan 36 jam. Perlakuan konsentrasi kolkisin 0 ppm (kontrol) direndam dalam aquades. Tanaman yang telah di induksi ditanam secara serentak pada media zeolit yang ditempatkan pada gelas plastik berwarna putih

berukuran 200 gram zeolit. Tanaman ditempatkan pada rumah kaca dengan penyinaran yang homogen. Tanaman disiram sebanyak dua kali dalam sehari pada waktu pagi dan sore. Tanaman diberi pupuk AB mix sebanyak 2 kali dalam seminggu dan diberi pestisida ketika terdapat hama dan penyakit. Morfologi tanaman diamati selama \pm 4 bulan (14 minggu) pada usia 2-14 MST.

Peubah morfologi tanaman yang diamati meliputi tinggi vertikal, diameter batang, panjang anak daun, lebar anak daun, jumlah daun trifoliolate serta panjang daun trifoliolate dan rantingnya. Pengukuran tinggi vertikal, panjang anak daun, lebar anak daun dan panjang daun trifoliolate dilakukan dengan menggunakan penggaris sedangkan diameter batang diukur menggunakan jangka sorong digital. Seluruh peubah diukur setiap minggu. Pengukuran tinggi vertikal tanaman dilakukan mulai pangkal batang di atas permukaan media tanam hingga ujung daun tertinggi yang dijulurkan secara vertikal. Pengukuran diameter batang dilakukan pada batang bagian tengah. Pengukuran anak daun dilakukan pada anak daun bagian tengah di daun teratas. Pengukuran dilakukan dari pangkal daun ke ujung daun pada setiap tanaman. Pengukuran lebar anak daun diukur pada anak daun bagian tengah di daun teratas. Pengukuran jumlah daun trifoliolate dihitung pada setiap individu tanaman. Setiap 1 daun trifoliolate terdiri atas 3 anak daun. Pengukuran panjang daun trifoliolate dan ranting daun dilakukan pada 1 daun trifoliolate teratas yang terbuka perindividu tanaman. Pengukuran dilakukan mulai pangkal ranting daun hingga ujung daun trifoliolate.

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial dengan dua faktor dan enam kali ulangan. Faktor A adalah level kolkisin yang terdiri dari 0 ppm, 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm dan 100 ppm. Faktor B adalah lama perendaman kolkisin terdiri dari tiga waktu yaitu 12 jam, 24 jam dan 36 jam. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan sidik ragam (ANOVA) dengan aplikasi SPSS versi 2.5 dan apabila berbeda nyata akan dilakukan uji lanjut menggunakan uji lanjut duncan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tanaman stylo memiliki beberapa keunggulan sebagai hijauan pakan ternak karena merupakan hijauan yang mengandung protein dan mineral tinggi, sangat disukai ternak, tahan terhadap kekeringan dan toleran terhadap beberapa jenis tanah (Litbang Pertanian 2012). Peningkatan kualitas dan kuantitas tanaman ini dapat dilakukan menggunakan mutagen kolkisin pada teknik pemuliaan mutasi. Teknik ini dilakukan untuk mengubah kromosom tanaman dari diploid menjadi poliploid, sehingga menghasilkan tanaman yang lebih unggul dimana memiliki ukuran morfologi yang lebih besar dibandingkan tanaman normal (Sinaga et al. 2014). Perlakuan kolkisin sangat mempengaruhi parameter

Tabel 1 Tinggi vertikal tanaman stylo pada usia 14 MST

Level Kolkisin (ppm)	Lama Perendaman (jam)			Rataan
	12	24	36	
cm.....			
0	69,17±5,58 ^{ab}	69,05±4,46 ^{ab}	66,67±4,41 ^{bc}	68,29±4,70 ^a
25	75,62±4,27 ^a	65,93±4,15 ^{bc}	60,82±5,04 ^{bcd}	67,46±7,60 ^{ab}
50	68,48±11,36 ^{ab}	64,65±6,40 ^{bc}	53,34±8,23 ^{de}	62,68±10,56 ^{cd}
75	67,98±2,09 ^{abc}	59,50±5,83 ^{cd}	62,53±3,91 ^{bc}	63,34±5,37 ^{bc}
100	65,40±9,01 ^{bc}	62,47±4,02 ^{bc}	49,68±9,97 ^e	58,82±10,31 ^d
Rataan	69,47±7,48 ^a	64,32±5,73 ^b	58,79±8,86 ^c	

Superscript yang berbeda pada baris dan kolom menunjukkan berbeda nyata ($p < 0,05$) berdasarkan uji DMRT

tinggi tanaman. Peningkatan ukuran tanaman dari pengaruh kolkisin dapat mempengaruhi produksi total hijauan stylo. Menurut Aili *et al.* (2016) penggunaan kolkisin dengan peningkatan konsentrasi akan berbanding lurus dengan penurunan tinggi tanaman. Detail peubah morfologi tanaman untuk mengetahui pengaruhnya dari level dan lama perendaman kolkisin terhadap rata-rata tinggi vertikal tanaman disajikan pada Tabel 1.

Interaksi level kolkisin dan lama perendaman berpengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap tinggi vertikal pada usia 14 MST, dimana tinggi vertikal dengan perlakuan 25 ppm selama 12 jam menghasilkan tanaman tertinggi dan tidak berbeda nyata dengan perlakuan 0 ppm, 50 ppm dan 75 ppm selama 12 jam, sedangkan tanaman dengan perlakuan 50 ppm dan 100 ppm selama 36 jam menghasilkan tinggi tanaman yang paling pendek. Tanaman kontrol merupakan tanaman yang tumbuh dengan kondisi terbaik tanpa adanya cekaman dari kolkisin dan tanaman dengan perlakuan kolkisin 25 ppm selama 12 jam dapat menghasilkan tinggi vertikal yang lebih baik dari pada kontrol, hal ini menunjukkan bahwa level 25 ppm dengan lama perendaman 12 jam merupakan perlakuan kolkisin optimum yang menyebabkan terjadinya mutasi berupa penggandaan kromosom sehingga menyebabkan tinggi vertikal tanaman meningkat. Hal ini didukung oleh pernyataan Adisewoyo (1995) bahwa level kolkisin dan lama perendaman yang optimum dapat menyebabkan terbentuknya tanaman poliploid. Peningkatan tinggi tanaman ini diduga terjadi karena mutasi berupa penggandaan kromosom pada sel batang tanaman sehingga ukurannya membesar termasuk ukuran pada berkas pengangkut floem dan xilem sehingga menyebabkan pengangkutan hasil fotosintesis, unsur hara dan air meningkat. Hal ini diduga menyebabkan laju

pertumbuhan meningkat sehingga tanaman menjadi lebih tinggi. Wu *et al.* (2014) menyatakan penggandaan kromosom memiliki keunggulan dalam menghasilkan karakteristik tanaman yang lebih unggul salah satunya adalah perbaikan kualitas tinggi tanaman. Wiendra *et al.* (2011) menyatakan bahwa penggandaan kromosom dapat meningkatkan ukuran bagian berkas pengangkut batang sehingga hasil dari proses-proses pemasokan nutrisi dan air diangkut dalam jumlah yang lebih baik dan menyebabkan peningkatan tinggi tanaman.

Kolkisin dengan level 100 ppm dan lama perendaman 36 jam menyebabkan tinggi tanaman menurun drastis karena level tersebut merupakan level tinggi bagi tanaman stylo, walaupun tidak menyebabkan kematian namun sifat toksik pada kolkisin dapat mengganggu aktivitas metabolisme sel sehingga menurunkan tinggi vertikal tanaman. Aili *et al.* (2016) menyatakan bahwa penggunaan mutagen dengan dosis yang tinggi menyebabkan terjadinya mutasi yang menghasilkan tanaman dengan sifat genetik kerdil. Menurut Mansyurdin (2000) penggunaan kolkisin pada level tinggi akan bersifat toksik sehingga dapat mengganggu aktivitas metabolisme sel tanaman bahkan dapat menyebabkan kematian pada ujung akar, dimana akar merupakan bagian penting bagi tanaman yang berfungsi dalam penyerapan unsur hara dan air yang diperlukan untuk proses pertumbuhan. Selain itu tinggi vertikal tanaman dari pengaruh level kolkisin 100 ppm cenderung menurun akibat dari peningkatan lama perendaman selama 36 jam.

Interaksi level kolkisin dan lama perendaman berpengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap diameter batang pada usia 14 MST (Tabel 2). Perendaman pada level kolkisin 25 ppm selama 12 jam menghasilkan ukuran diameter batang yang paling besar dan lebih tinggi dari

Tabel 2 Diameter batang tanaman stylo pada usia 14 MST

Level Kolkisin (ppm)	Lama Perendaman (jam)			Rataan
	12	24	36	
mm.....			
0	2,65±0,33 ^{bcd}	2,70±0,19 ^{bcd}	2,73±0,05 ^{bc}	2,69±0,21
25	3,08±0,26 ^a	2,63±0,10 ^{bcd}	2,37±0,22 ^{ef}	2,69±0,36
50	2,80±0,33 ^b	2,58±0,12 ^{bcde}	2,30±0,14 ^f	2,58±0,29
75	2,60±0,15 ^{bcde}	2,45±0,11 ^{def}	2,30±0,11 ^f	2,45±0,17
100	2,50±0,17 ^{cdef}	2,35±0,22 ^{ef}	1,90±0,19 ^g	2,24±0,32
Rataan	2,73±0,32	2,54±0,19	2,32±0,31	

Tabel 3 Panjang anak daun tanaman stylo pada usia 14 MST

Level Kolkisin (ppm)	Lama Perendaman (jam)			Rataan
	12	24	36	
0	5,78±0,43	5,12±0,31	4,95±0,27	5,28±0,49 ^a
25	5,60±0,26	4,70±0,43	4,73±0,30	5,01±0,53 ^{ab}
50	4,93±0,63	4,77±0,47	4,24±0,43	4,67±0,57 ^c
75	5,25±0,66	4,60±0,32	4,67±0,51	4,84±0,57 ^{bc}
100	4,66±0,54	4,67±0,46	4,32±0,64	4,54±0,54 ^c
Rataan	5,27±0,64 ^a	4,77±0,42 ^b	4,59±0,50 ^b	

Superscript yang berbeda pada baris dan kolom menunjukkan berbeda nyata ($p < 0,05$) berdasarkan uji DMRT

seluruh interaksi perlakuan. Interaksi yang menghasilkan diameter batang tanaman terkecil terdapat pada perlakuan 100 ppm dan waktu perendaman selama 36 jam. Hal ini menunjukkan bahwa level kolkisin 25 ppm dan waktu perendaman selama 12 jam merupakan interaksi yang optimum untuk menginduksi kolkisin ke dalam sel tanaman *Stylosanthes guianensis* sehingga dapat meningkatkan diameter batang tanaman.

Induksi kolkisin pada level 25 ppm dan lama perendaman 12 jam diduga menyebabkan tanaman mengalami penggandaan kromosom, dimana akibat dari penggandaan kromosom menyebabkan ukuran batang membesar. Hal tersebut didukung oleh pendapat Rahayu et al. (2015) bahwa kolkisin dapat menghambat pembelahan sel tanaman sehingga setiap sel tanaman memiliki jumlah organel-organel dan kromosom yang mengganda, hal ini menyebabkan sel tanaman menjadi poliploid yang ditandai dengan ukuran morfologi tanaman yang besar. As'adah et al. (2016) menambahkan bahwa kolkisin bekerja dengan melakukan pengikatan dimer β -tubulin dan menghambat pembentukan mikrotubulus, namun tidak terjadi penghambatan kerja mikrotubulus yang sudah terkait, sehingga menyebabkan jumlah kromosom mengganda karena mikrotubulus yang gagal membuat kromosom menuju ke kutub. Sulistianingsih (2004) menyebutkan bahwa perlakuan kolkisin dapat menyebabkan tanaman menjadi poliploid yang dicirikan dengan ukuran tanaman lebih kekar pada bagian akar, batang, daun, bunga dan buah. Induksi kolkisin pada level 100 ppm dan lama perendaman 36 jam menyebabkan ukuran diameter batang mengecil karena level tersebut

merupakan level tinggi bagi tanaman stylo, walaupun tidak menyebabkan kematian namun sifat toksik pada kolkisin dapat mengganggu aktivitas metabolisme sel sehingga menurunkan tinggi vertikal tanaman. Aili et al. (2016) menyatakan bahwa penggunaan mutagen dengan dosis yang tinggi menyebabkan terjadinya mutasi yang menghasilkan tanaman dengan sifat genetik kerdil.

Daun merupakan bagian penting pada tanaman karena merupakan tempat terjadinya fotosintesis. Peningkatan dan penurunan ukuran daun akan berpengaruh pada besar kecilnya fotosintesis yang terjadi pada suatu tanaman. Sylo memiliki tipe daun trifoliolate, dalam satu daun terdiri dari tiga anak daun. Interaksi level kolkisin dan lama perendaman tidak berpengaruh nyata terhadap peubah panjang anak daun stylo pada usia 14 MST (Tabel 3). Level 0 ppm dan 25 ppm menghasilkan daun dengan panjang terbaik yang berbeda nyata ($p < 0,05$) lebih tinggi dari level 50 ppm, 75 ppm dan 100 ppm. Hal ini diduga karena pada level diatas 25 ppm menyebabkan terjadinya mutasi dengan keragaman genetik tinggi dan berimplikasi pada penurunan panjang daun tanaman. Panjang anak daun stylo pada perlakuan 25 ppm serupa dengan 0 ppm (kontrol) diduga karena pada level tersebut menyebabkan penggandaan kromosom namun ekspresi gen hanya terlihat pada tinggi vertikal dan diameter batang, Peubah daun tidak konsisten terekspresikan. Menurut Aili et al. (2016) perlakuan kolkisin tidak menyebabkan pengaruh yang nyata untuk rata-rata jumlah daun, lebar daun dan panjang daun tanaman, sebab saat dibandingkan dengan kontrol terlihat bahwa rata-rata peubah kontrol lebih tinggi dibandingkan dengan tanaman yang diberi perlakuan kolkisin.

Tabel 4 Lebar anak daun tanaman stylo pada usia 14 MST

Level Kolkisin (ppm)	Lama Perendaman (jam)			Rataan
	12	24	36	
0	0,85±0,08 ^{abc}	0,80±0,08 ^{abcd}	0,86±0,08 ^{ab}	0,84±0,08
25	0,90±0,10 ^a	0,74±0,04 ^{cd}	0,81±0,07 ^{abcd}	0,82±0,10
50	0,73±0,14 ^d	0,77±0,06 ^{bcd}	0,74±0,10 ^{cd}	0,75±0,10
75	0,82±0,02 ^{abcd}	0,77±0,08 ^{bcd}	0,74±0,07 ^{cd}	0,78±0,07
100	0,72±0,11 ^d	0,81±0,07 ^{abcd}	0,77±0,07 ^{bcd}	0,77±0,08
Rataan	0,81±0,11	0,78±0,07	0,79±0,09	

Tabel 5 Jumlah daun trifoliate stylo pada usia 14 MST

Level Kolkisin (ppm)	Lama Perendaman (jam)			Rataan
	12	24	36	
0	30,00±4,60 ^a	21,17±5,04 ^{bcd}	16,50±0,84 ^{de}	22,56±6,86
25	23,83±3,06 ^{bc}	18,33±4,08 ^{de}	16,83±1,72 ^{de}	19,67±4,26
50	25,33±1,86 ^b	17,50±5,47 ^{de}	16,60±3,78 ^{de}	20,00±5,53
75	20,00±2,96 ^{cde}	17,33±3,20 ^{de}	17,17±4,17 ^{de}	18,17±3,54
100	19,00±4,30 ^{de}	15,67±1,63 ^{ef}	11,83±2,23 ^f	15,29±3,98
Rataan	23,79±5,12	18,00±4,24	15,76±3,30	

Superscript yang berbeda pada baris dan kolom menunjukkan berbeda nyata ($p < 0,05$) berdasarkan uji DMRT

Pertumbuhan panjang anak daun tanaman stylo berbeda nyata ($p < 0,05$) dari pengaruh lama perendaman kolkisin. Lama perendaman 12 jam menghasilkan pertumbuhan anak daun yang lebih panjang, namun lama perendaman 24 jam dan 36 menunjukkan pertumbuhan panjang anak daun yang lebih pendek karena terganggunya aktivitas metabolisme sel tanaman sehingga ukuran anak daun menjadi lebih kecil (Aili *et al.* 2016). Hal ini menunjukkan bahwa lama perendaman kolkisin selama 12 jam merupakan durasi terbaik untuk induksi kolkisin sehingga dapat meningkatkan panjang anak daun. Wiendra *et al.* (2011) menyatakan bahwa lama perendaman kolkisin selama 12 jam dapat meningkatkan tinggi tanaman, panjang daun, diameter batang, jumlah cabang serta waktu pembuahan, tetapi tidak berpengaruh nyata pada parameter lebar daun dan diameter bunga

Lebar daun merupakan berpengaruh penting terhadap fotosintesis yang terjadi pada suatu tanaman. Semakin lebar ukuran daun maka proses fotosintesis yang terjadi pada tanaman semakin besar sehingga berpengaruh terhadap peningkatan pertumbuhan tanaman. Hasil analisis interaksi level kolkisin dan lama perendaman pada usia tanaman 14 MST menunjukkan bahwa rata-rata anak daun terlebar terdapat pada perlakuan level kolkisin 25 ppm dengan lama perendaman 12 jam namun tidak berbeda nyata dengan perlakuan 0 ppm (kontrol). Lebar anak daun tersempit terdapat pada perlakuan 50 ppm dan 100 ppm selama 12 jam (Tabel 4). Hal ini menunjukkan bahwa interaksi 25 ppm dengan lama perendaman 12 jam dapat menyebabkan penggandaan kromosom sehingga menyebabkan ukuran daun semakin lebar namun ekspresi gen dari hasil mutasi tidak konsisten pada bagian daun sebab pada parameter panjang anak daun trifoliate ekspresi gennya tidak terlihat. Hal ini sesuai dengan pendapat Rahayu *et al.* (2015) bahwa kolkisin dapat menghambat pembelahan sel tanaman sehingga setiap sel tanaman memiliki jumlah organel-organel dan kromosom yang mengganda, hal ini menyebabkan sel tanaman menjadi poliploid yang ditandai dengan ukuran morfologi tanaman yang besar. Murni (2010) menyatakan bahwa lebar daun tanaman cabe keriting tetraploid lebih besar dibandingkan dengan tumbuhan

cabe keriting normal (diploid). Rataan lebar daun menurun pada perlakuan level kolkisin di atas 25 ppm, hal ini diduga penggunaan kolkisin berlevel tinggi dan terlalu lamanya perendaman dapat bersifat toksik sehingga menurunkan laju pertumbuhan bagian daun tanaman. Menurut Wu *et al.* (2014) sifat toksik pada kolkisin meningkat sebanding dengan peningkatan level dan waktu perendaman kolkisin, kombinasi level dan waktu perendaman optimum terbukti efektif untuk meningkatkan produktivitas tanaman. Menurut Sinaga *et al.* (2014) aplikasi kolkisin dapat menurunkan produktivitas tanaman karena terbentuknya individu tanaman yang poliploid dimana ciri tanaman poliploid menghasilkan laju pertumbuhan yang lebih lambat dibandingkan tanaman normal.

Interaksi level kolkisin dan lama perendaman menunjukkan bahwa level kolkisin 0 ppm selama 12 jam berpengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap rata-rata jumlah daun trifoliate pada usia 14 MST, dimana interaksi tersebut menghasilkan rata-rata jumlah daun trifoliate terbanyak melebihi perlakuan lainnya yang menunjukkan bahwa ekspresi gen dari pengaruh mutasi tidak terlihat konsisten pada bagian daun. Hal tersebut disebabkan karena tanaman kontrol merupakan tanaman yang tumbuh dengan kondisi terbaik tanpa adanya cekaman dari kolkisin, sedangkan tanaman dengan perlakuan kolkisin mengalami pertumbuhan sel yang lambat sehingga menurunkan jumlah daun. Aili *et al.* (2016) menyebutkan bahwa kolkisin yang diaplikasikan pada tanaman menyebabkan terbentuknya primordial daun yang lebih lambat perkembangannya. Rahayu *et al.* (2015) menyebutkan bahwa jumlah daun dengan pengaplikasian kolkisin cenderung menurun secara drastis, sebab pada bibit tumbuhan anggrek yang berumur 24 MSP hanya menghasilkan daun maksimal 3 helai, dimana menunjukkan bahwa pertumbuhan bibit relatif lambat. Bibit hasil pengaplikasian kolkisin dapat menunjukkan pertumbuhan yang abnormal dengan tumbuhnya daun yang lebih tebal dan berwarna lebih hijau.

SIMPULAN

Penggunaan kolkisin secara optimal pada level 25 ppm dan lama perendaman selama 12 jam untuk tanaman stylo. Penggunaan kolkisin mampu meningkatkan produktivitas tanaman stylo terhadap tinggi vertikal, diameter batang dan lebar anak daun, namun tidak dapat meningkatkan panjang anak daun dan jumlah daun trifoliolate.

DAFTAR PUSTAKA

- Adisewoyo SS. 1995. *Sitogenetika*. Yogyakarta (ID): Gajah Mada University Press.
- Aili EN, Respartijati & Sugiharto AN. 2016. Pengaruh pemberian kolkisin terhadap penampilan fenotip galur inbrida jagung pakan (*Zea mays* L.) pada fase pertumbuhan vegetatif. *Jurnal Produksi Tumbuhan*. 4(5):370-377.
- As'adah M, Rahayu T & Hayati A. 2016. Metode pemberian kolkisin terhadap respon morfologi tanaman zaitun. *Jurnal Biosaintropis*. 2(1):46-52.
- Crowder LV. 1986. *Genetika Tumbuhan*. Yogyakarta (ID): Gajah Mada University Press.
- Gultom T. 2016. Pengaruh pemberian kolkisin terhadap jumlah kromosom bawang putih (*Allium sativum*) lokal kultivar doulu. *Journal of Biosciences*. 2(3):165-172.
- Hayati A, Saraswati DR & Rahayu T. 2017. Kajian pemberian kolkisin dengan metode tetes terhadap profil poliploidi tanaman zaitun (*Olea europaea*). *E-Jurnal Ilmiah Biosaintropis*. 2(2):24-29.
- Jain SM & Gupta SD. 2013. *Biotechnology of Neglected and Underutilized Crops*. New York (US): Springer.
- Litbang Pertanian. 2012. *Tanaman Stylo (Stylosanthes guianensis) sebagai Pakan Ternak Ruminansia. Agroinovasi Edisi 22-28*. Jakarta (ID): Litbang Pertanian.
- Mansyuridin. 2000. *Penggandaan Kromosom Tanaman Cabai Keriting dan Cabai Rawit*. Padang (ID): Universitas Andalas Press.
- Murni D. 2010. Pengaruh perlakuan kolkisin terhadap jumlah kromosom dan fenotip tanaman cabe kering (*Capsicum annum* L.). *Jurnal Agroekoteknologi*. 2(1):43-48.
- Nuraida D. 2012. Pemuliaan tanaman cepat dan tepat melalui pendekatan marka molekuler. *El-Hayah*. 2(2):97-103.
- Pemerintah Indonesia. 2005. *Peraturan Pemerintah Republik Indonesia Nomor 21 Tahun 2005 tentang Keamanan Hayati Produk Rekayasa Genetik*. Jakarta (ID): Kementerian Keuangan Republik Indonesia.
- Rahayu EMD, Sukma D, Syukur M, Aziz SA & Irawati. 2015. Induksi poliploid menggunakan kolkisin secara in vivo pada bibit anggrek bulan (*Phalaenopsis amabilis* (L.)). *Buletin Kebun Raya*. 18(1):41-48.
- Ranney G. 2002. *Poliploidy: From Evolution to Landscape Plant Improvement*. Raleigh (US): North Carolina State University.
- Sinaga E, Bayu E & Hasyim H. 2014. Pengaruh konsentrasi kolkisin terhadap pertumbuhan dan produksi kacang hijau (*Vigna radiate* L.) *Jurnal Agroekoteknologi USU*. 2(3):1238-1244.
- Su XA, Dion V, Gasser SM & Freudenreich CH. 2015. Regulation of recombination at yeast nuclear pores controls repair and triplet repeat stability. *Genes and Development*. 29(1):1006-1017.
- Sulistianingsih R, Suyanto ZA & Noer AE. 2004. Peningkatan kualitas anggrek dendrobium hibrida dengan pemberian kolkisin. *Journal Agriculture and Environment*. 11(1):13-21.
- Suminah, Sutarno & Setyawan AD. 2002. Induksi poliploid bawang merah (*Allium ascalonicum* L.) dengan pemberian kolkisin. *Jurnal Biodiversitas*. 3(1):174-180.
- Valentino, Nasir B, Toana MH. 2020. Pengaruh ekstrak akar tuba (*Derris elliptica* Benth.) terhadap mortalitas *Pomacea Canaliculata* Lamarck. (mesogastropoda: ampullariidae) pada padi *Oryza sativa* L. *Jurnal Agroland*. 27(1):89-98.
- Wiendra NMS, Pharmawati M & Astiti NPA. 2011. Pemberian kolkisin dengan lama perendaman berbeda pada induksi poliploidi tanaman pacar air (*Impatiens balsamina* L.). *Jurnal Biologi*. 15(1): 9-14.
- Wu FH, Yu XD, Zhuang NS, Liu GD & Liu JP. 2015. Induction and identification of *Stylosanthes guianensis* tetraploids. *Genetic Molecular Research*. 14(4):12692-12698.