

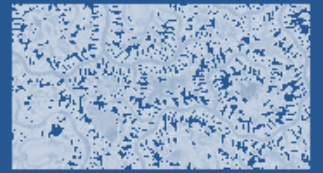


p.ISSN: 2303-1530
e.ISSN: 2527-7596

Scientiae Educatia

Jurnal Sains dan Pendidikan Sains

Tadris IPA Biologi IAIN Syekh Nurjati Cirebon



www.syekhnurjati.ac.di/jurnal/index.php/sceducatia
for more information: sceducatia@gmail.com

KARAKTER FENOTIP KEDELAI (*Glycine max* (L.) Merr.) HASIL POLIPLIPOIDISASI DENGAN KOLKISIN

Irma Nofitahesti¹, Budi Setiadi Daryono¹

¹Laboratorium Genetika & Pemuliaan Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, 55281, Indonesia

Article Information: Received: 4 August 2016 Received in revised form: 1 November 2016 Accepted: 8 October 2016
Corresponding author: Budi Setiadi Daryono, Laboratorium Genetika & Pemuliaan Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada Jalan Teknik Selatan, Sekip Utara, Yogyakarta 55281; Email: bs_daryono@yahoo.com

ABSTRACT

Soybean (*Glycine max* (L.) Merr) is one of the most important food commodity to fulfill the protein necessity in Indonesia. Although Indonesia has many prime soybean seeds, it cannot fulfill the whole need of soybean and always rely on soybean import. This problem can be solved by increasing the quality and productivity of prime soybean seed by polyploidization with colchicine. This research aimed to study ploidy level and phenotype characters of Anjasmoro soybean which was induced by colchicine. The phenotype characters in this research were stomata size, plant height, total pod in one plant, total seed in one plant, the weight of 100 seeds, flowering time, and ripening time of soybean. The ploidy level was analyzed with flow cytometry method. The data was analyzed with one-way ANOVA and Duncan test in SPSS 22 program. The result of this research showed that Anjasmoro soybean did not successfully induced by colchicine using concentration 0.01%, 0.02%, 0.025%, 0.05%, 0.075%, 0.1%, 0.15%, 0.2%, and 0.25% with duration of treatment 6, 8, 10, 12, 16, 18, and 24 hours. The treatment with colchicine concentration 0.01% and 0.02% with duration of treatment 10 hours effected the increasing of stomata size, the plant height, and the weight of 100 seeds.

Keywords: Soybean, polyploidization, colchicine, phenotype

ABSTRAK

Kedelai (*Glycine max* (L.) Merr) merupakan salah satu komoditas pangan penting sebagai sumber protein nabati yang kebutuhannya selalu mengalami peningkatan di Indonesia. Meskipun saat ini Indonesia memiliki banyak varietas kedelai unggul, namun Indonesia masih belum mampu mencukupi kebutuhan kedelai nasional sehingga terus bergantung pada impor kedelai. Permasalahan ini dapat diatasi dengan meningkatkan kualitas dan produktivitas varietas kedelai unggul yang sudah ada melalui teknik poliploidisasi dengan kolkisin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui derajat ploidi dan karakter fenotip pada kedelai Anjasmoro yang diinduksi dengan kolkisin. Karakter fenotip yang diamati adalah panjang dan lebar stomata, tinggi tanaman, jumlah polong per tanaman, jumlah biji per tanaman, berat 100 biji, umur berbunga, dan umur masak kedelai. Analisis derajat ploidi kedelai dilakukan dengan metode flow cytometry. Data yang diperoleh dianalisis dengan uji statistik one way ANOVA dan dilanjutkan dengan uji Duncan taraf 5% menggunakan program SPSS 22. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kedelai Anjasmoro belum berhasil terinduksi poliploid dengan perlakuan kolkisin konsentrasi 0,01%, 0,02%, 0,025%, 0,05%, 0,075%, 0,1%, 0,15%, 0,2%, dan 0,25% dengan lama waktu perlakuan 6, 8, 10, 12, 16, 18, dan 24 jam. Perlakuan kolkisin konsentrasi 0,01% dan 0,02% dengan lama waktu perlakuan 10 jam mempengaruhi peningkatan ukuran stomata, tinggi tanaman, dan berat 100 biji kedelai Anjasmoro.

Kata kunci: Kedelai, poliploidisasi, kolkisin, fenotip

PENDAHULUAN

Kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) merupakan salah satu komoditas pangan penting yang menjadi bahan dasar berbagai makanan di Indonesia, seperti kecap, tahu, tempe, dan susu kedelai. Kandungan gizi, khususnya protein, pada kedelai cukup tinggi sehingga dibutuhkan oleh masyarakat untuk memenuhi kebutuhan protein sehari-hari. Permintaan pasar akan kedelai selama 15 tahun terakhir ini terus meningkat. Menurut Badan Pusat Statistik (BPS) (2014), kebutuhan kedelai nasional tahun 2014 mencapai 3 juta ton. Meskipun demikian, kebutuhan kedelai yang tinggi tersebut tidak diimbangi oleh produksi kedelai dalam negeri yang memadai, sehingga Indonesia selalu tergantung pada impor kedelai. Pada tahun 2014 jumlah impor kedelai di Indonesia mencapai 1,58 juta ton (BPS, 2014). Jika hal ini tidak segera ditangani, maka harga kedelai di Indonesia bisa menjadi sangat mahal dan akan berdampak buruk bagi para pengrajin pangan berbahan dasar kedelai juga bagi para konsumen di Indonesia.

Rendahnya produksi kedelai di Indonesia disebabkan oleh banyak hal, di antaranya adalah sebagian besar petani masih menganggap kedelai sebagai tanaman sampingan, kondisi lingkungan untuk budidaya kedelai kurang mendukung, penggunaan benih kedelai berkualitas rendah, pemeliharaan tanaman kedelai rendah, dan proses pascapanen kedelai yang kurang optimal (Adisarwanto, 2014). Berdasarkan permasalahan produksi kedelai tersebut, maka salah satu cara yang bisa dilakukan untuk memperbaiki dan meningkatkan produksi kedelai di Indonesia adalah dengan meningkatkan kualitas dan produktivitas varietas kedelai unggul yang ada di Indonesia melalui teknik poliploidisasi dengan kolkisin.

Poliploidisasi merupakan proses penggandaan jumlah kromosom suatu individu. Organisme poliploid itu sendiri merupakan organisme dengan keadaan sel yang memiliki lebih dari dua set kromosom atau genom komplit (Can, 2012). Tanaman kedelai pada dasarnya merupakan organisme diploid dengan jumlah kromosom $2n = 40$ (Shi *et al.*, 1996). Oleh karena organisme poliploid memiliki jumlah kromosom lebih banyak daripada organisme diploid, maka organisme poliploid seringkali menunjukkan peningkatan ukuran organ, peningkatan kandungan protein dan vitamin pada tanaman, serta peningkatan ketahanan terhadap penyakit jika dibandingkan dengan organisme diploid (Comai, 2005).

Kolkisin ($C_{22}H_{25}O_6N$) merupakan suatu alkaloid yang berasal dari umbi dan biji tanaman *Colchicum autumnale* L. yang termasuk dalam familia Liliaceae. Kolkisin bersifat sebagai racun, terutama pada tanaman, yang memperlihatkan pengaruhnya pada nukleus yang sedang membelah (Adisewoyo, 1995). Kolkisin akan berikatan dengan protein tubulin sehingga mencegah terbentuknya benang-benang spindel. Dengan demikian, pemisahan kromosom yang seharusnya terjadi pada tahap anafase mitosis tidak berlangsung dan menyebabkan penggandaan kromosom tanpa terbentuknya dinding sel (Sundov *et al.*, 2005). Apabila pengaruh dari kolkisin telah menghambur, sel poliploid yang baru dapat membentuk spindel pada kedua kutubnya dan membentuk nukleus anakan poliploid seperti pada telofase dari mitosis biasanya (Adisewoyo, 1995). Hal inilah yang mendasari penggunaan kolkisin dalam proses poliploidisasi tanaman.

Banyak hasil penelitian mengenai poliploidisasi yang menunjukkan keberhasilan penggunaan kolkisin dalam pembentukan berbagai tanaman poliploid. Daryono (1998) menyebutkan bahwa poliploidisasi dengan teknik perendaman kecambah melon dalam larutan kolkisin konsentrasi 0,1% selama 6 jam mampu menghasilkan melon tetraploid. Mercy Kutty (1983) berhasil mendapatkan kacang polong tetraploid dengan perlakuan kolkisin 0,025% selama 4 jam pada *seedling* kacang polong. Vodyanova (1974) mengatakan bahwa bawang merah tetraploid paling baik didapatkan dari perlakuan kolkisin 0,05% selama 10 jam dengan cara merendam akar bawang merah dalam larutan kolkisin. Sedangkan Herman dkk. (2013) menunjukkan bahwa perendaman biji kacang hijau dalam larutan kolkisin 0,06% selama 24 jam mampu menghasilkan kacang hijau tetraploid.

Kedelai yang digunakan dalam penelitian ini adalah kedelai Anjasmoro. Kedelai Anjasmoro merupakan contoh varietas kedelai unggul berbiji besar dan tahan rebah di Indonesia yang dilepas pada tahun 2001 (Suhartina, 2005). Biji kedelai Anjasmoro yang memiliki berat 14,8-15,3 g/100 biji ini sering digunakan oleh produsen tempe di Indonesia. Berdasarkan hal tersebut, kedelai Anjasmoro sangat berpotensi untuk diinduksi poliploid dengan kolkisin yang bertujuan untuk meningkatkan

produktivitas kedelai. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui derajat ploidi dan karakter fenotip pada kedelai Anjasmoro yang diinduksi dengan kolkisin.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2015 sampai Mei 2016 di *greenhouse* Pusat Inovasi Agroteknologi (PIAT) UGM, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Bogor, Laboratorium FALITMA dan Laboratorium Mikroteknik Tumbuhan Fakultas Biologi UGM. Biji kedelai yang digunakan pada penelitian ini adalah biji kedelai Anjasmoro yang diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi (BALITKABI) Malang.

1. Pemberian Perlakuan Kolkisin

Biji kedelai Anjasmoro direndam dalam larutan kolkisin konsentrasi 0,01% dan 0,02% selama 10 jam, 0,025%, 0,05%, dan 0,075% selama 8 dan 16 jam, serta 0,05%, 0,1%, 0,15%, 0,2%, dan 0,25% selama 6, 12, 18, dan 24 jam. Perendaman dilakukan dalam botol flakon dan dimulai pada pukul 7 pagi (fase metafase pada mitosis sel-sel kedelai berlangsung pada pukul 10 pagi (Wardhani & Wiendi, 2015)). Masing-masing botol diisi 10 biji kedelai. Untuk biji kedelai kontrol tidak direndam di dalam larutan kolkisin.

2. Penanaman

Penanaman biji kedelai dilakukan di *greenhouse* PIAT UGM. Biji kedelai kontrol dan biji kedelai perlakuan yang sudah direndam dalam kolkisin selanjutnya dikecambahkan pada *tissue* basah. Setelah biji berkecambah, kecambah ditanam di *polybag* dengan media tanam tanah : pupuk kandang (2:1) dan diletakkan di *greenhouse*.

3. Pemeliharaan

Pemeliharaan tanaman kedelai dilakukan dengan penyiraman secara teratur dua hari satu kali, pemberian pupuk NPK dua minggu satu kali, penanggulangan hama tanaman dengan pestisida, serta penyiangan gulma.

4. Pemanenan

Tanaman kedelai mulai dipanen apabila lebih dari 95% polong yang terbentuk sudah berubah warna menjadi coklat kuning dan jumlah daun yang masih tertinggal di tanaman sekitar 5-10%. Cara panen yang digunakan yaitu dengan memotong batang tanaman kedelai sedekat mungkin dengan permukaan tanah menggunakan sabit bergerigi tajam. Karakter fenotip kedelai yang diamati adalah tinggi tanaman pada akhir pertumbuhan, jumlah polong per tanaman, jumlah biji per tanaman, berat 100 biji, umur mulai berbunga, dan umur masak polong.

5. Analisis Derajat Ploidi

Analisis derajat ploidi pada kedelai dilakukan dengan metode *flow cytometry*. Daun muda dari tanaman kedelai kontrol dan perlakuan diletakkan pada cawan petri, kemudian diberi 500 μ l *extracting buffer*, lalu daun dicacah dengan silet. Selanjutnya ekstrak disaring dan filtrat diberi 2 ml *staining buffer*. Setelah itu dilakukan inkubasi selama 10 menit. Tabung uji yang berisi sampel kemudian dimasukkan ke dalam alat *flow cytometry*. Di dalam alat *flow cytometry*, inti sel yang berisi kromosom diidentifikasi dengan menembakkan sinar laser. Pendaran sinar kemudian ditangkap oleh detektor pada alat *flow cytometry* yang selanjutnya akan diproses agar dapat ditampilkan data hasil analisis pada komputer berupa kurva (Jaroslav & Jan, 2007).

6. Pengukuran Panjang dan Lebar Stomata

Pengukuran panjang dan lebar stomata dilakukan dengan pengamatan mikroskopis. Daun tanaman kedelai kontrol dan perlakuan dipotong kecil-kecil (5x5 mm), kemudian direndam dalam alkohol 70% selama 24 jam. Setelah itu daun dipanaskan dalam larutan kloralhidrat sampai menjadi transparan. Daun transparan tersebut kemudian diletakkan di atas gelas benda, ditetesi akuades, dan ditutup dengan gelas penutup. Preparat daun diamati dengan mikroskop yang sudah dipasang optilab. Panjang dan lebar sel pengiring stomata ditentukan dengan menggunakan program optilab.

ANALISIS STATISTIK

Hasil pengukuran karakter fenotip tanaman kedelai kontrol dan perlakuan (panjang dan lebar stomata, tinggi tanaman, jumlah polong per tanaman, jumlah biji per tanaman, berat 100 biji, umur

mulai berbunga, dan umur masak kedelai) disajikan dalam bentuk tabel. Data yang diperoleh dianalisis dengan uji statistik *one way* ANOVA dan dilanjutkan dengan uji Duncan taraf 5% menggunakan program SPSS 22.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil uji perlakuan kolkisin terhadap biji kedelai Anjasmoro dapat diketahui bahwa perlakuan kolkisin konsentrasi 0,025%, 0,05%, 0,075%, 0,1%, 0,15%, 0,2%, dan 0,25% dengan waktu perendaman pada larutan kolkisin 6, 8, 12, 16, 18, dan 24 jam menyebabkan biji kedelai tidak berkecambah (mati). Hal ini seperti yang disebutkan oleh Burun & Emiroglu (2008) dalam penelitiannya bahwa perlakuan kolkisin dapat menyebabkan toksisitas pada sel-sel tanaman yang berujung pada kerusakan dan kematian sel, tetapi pada konsentrasi yang tepat kolkisin dapat menginduksi poliploid. Efek toksisitas kolkisin lainnya dijelaskan oleh Wang *et al.* (2001) yang menggunakan biji akasia (*Acacia mangium* Willd.) dalam penelitiannya. Biji tersebut terhambat perkecambahannya sampai hari ke-8 akibat perlakuan kolkisin. Kolkisin mengganggu reaksi enzimatik dalam vakuola kotiledon. Protein fungsional dan protein struktural serta nutrisi lainnya yang tersimpan dalam vakuola tidak dapat termobilisasi secara maksimal pada proses perkecambahan dan dapat menyebabkan penurunan viabilitas bahkan kematian pada biji.

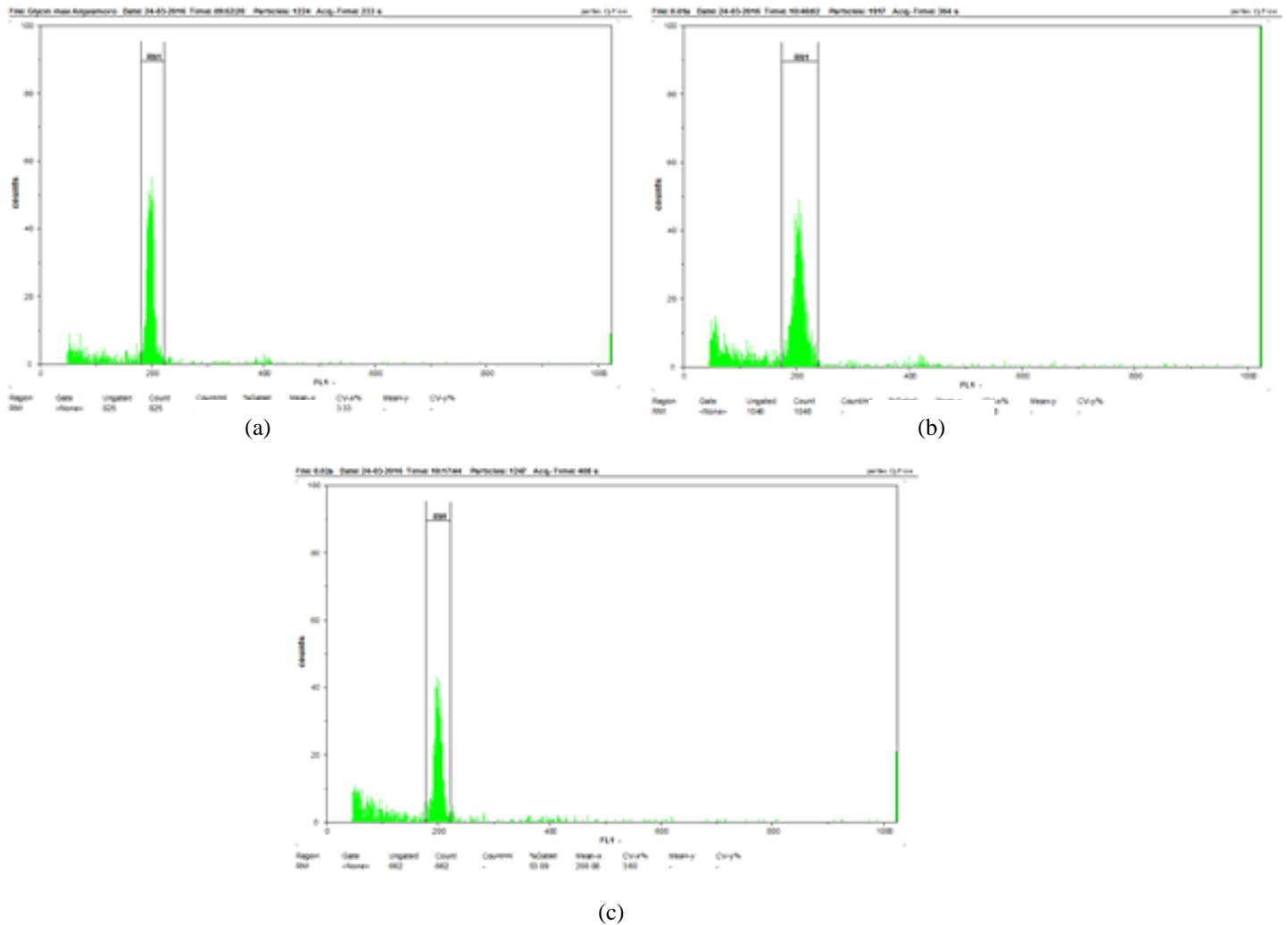
Pada perlakuan kolkisin konsentrasi 0,01% dan 0,02% dengan waktu perendaman dalam larutan kolkisin 10 jam, biji kedelai Anjasmoro berhasil berkecambah dan tumbuh sampai dipanen serta diamati karakter fenotipnya. Namun demikian, keberhasilan pertumbuhan kedelai Anjasmoro perlakuan belum dapat memastikan bahwa kedelai Anjasmoro tersebut berhasil terinduksi poliploid. Uji dengan menggunakan *flow cytometry* dilakukan untuk mengetahui derajat ploidi kedelai Anjasmoro yang diinduksi dengan kolkisin (Costich *et al.*, 1993; Allum *et al.*, 2007; Sarathum *et al.*, 2010). *Flow cytometry* telah lama digunakan untuk menghitung kuantitas DNA di dalam nukleus sel. Metode *flow cytometry* diawali dengan persiapan suspensi cair dari bahan yang mengandung nukleus yang DNA nya diwarnai dengan menggunakan pewarna DNA (*DNA fluorochrome*). Karena preparasi sampel dan proses analisis yang tergolong cepat, mudah, dan tepat, maka saat ini *flow cytometry* menjadi metode yang sering digunakan untuk analisis ploidi, deteksi mixoploidi dan aneuploidi, analisis siklus sel, dan penentuan ukuran genom (Dolezel & Bartos, 2005).

Pada analisis *flow cytometry*, bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun muda tanaman kedelai Anjasmoro kontrol dan perlakuan. Penggunaan daun muda ini didasari oleh alasan bahwa pada daun muda masih banyak terlihat aktivitas mitosis sehingga kromosom dapat dengan mudah dianalisis. Selain itu, dengan menggunakan daun muda dapat memudahkan dalam proses pencacahan daun dan analisis tidak akan terganggu oleh metabolit-metabolit sekunder yang belum banyak terkandung dalam daun muda (Tamam, 2015).

Dari hasil analisis *flow cytometry* terhadap daun muda tanaman kedelai Anjasmoro diketahui bahwa tanaman kedelai Anjasmoro yang diberi perlakuan kolkisin konsentrasi 0,01% dan 0,02% selama 10 jam perendaman tidak terinduksi poliploid. Hal ini dibuktikan dengan derajat ploidi kedelai Anjasmoro perlakuan yang masih diploid, sama dengan derajat ploidi pada kedelai Anjasmoro kontrol (jumlah kromosom kedelai $2n = 40$ (Shi *et al.*, 1996)). Hasil analisis *flow cytometry* disajikan dalam bentuk histogram (Gambar 1).

Histogram pada Gambar 1 menggambarkan *peak* DNA pada masing-masing tanaman. *Peak* yang terlihat seluruhnya berjumlah satu pada *channel* 200 yang ditetapkan sebagai standar bagi sel diploid. Baik kedelai Anjasmoro kontrol maupun perlakuan semua *peak* berada pada *channel* 200 yang menunjukkan bahwa semua tanaman masih dalam keadaan diploid.

Berdasarkan histogram tersebut diketahui pula bahwa puncak pada tanaman kedelai Anjasmoro kontrol lebih tinggi daripada puncak pada tanaman kedelai Anjasmoro perlakuan. Hal ini menunjukkan jumlah sel yang terhitung saat analisis *flow cytometry* pada tanaman kedelai Anjasmoro kontrol lebih tinggi daripada tanaman kedelai Anjasmoro perlakuan. Dalam hal ini telah dibuktikan bahwa kolkisin dapat menyebabkan apoptosis pada sel sehingga menurunkan jumlah sel pada tanaman. Apoptosis tersebut disebabkan karena kegagalan penyusunan protein dalam sel dan menurunnya proses endositosis dan eksositosis akibat pengaruh kolkisin (Finkelstein *et al.*, 2010).



Gambar 1. Hasil analisis derajat ploidi dengan menggunakan *flow cytometry* pada daun muda tanaman (a) kedelai Anjasmoro kontrol, (b) kedelai Anjasmoro perlakuan kolkisin 0,01%, dan (c) kedelai Anjasmoro perlakuan kolkisin 0,02%

Meskipun dari hasil analisis derajat ploidi diketahui bahwa pada kedelai Anjasmoro perlakuan tidak terinduksi poliploid, analisis terhadap karakter fenotip kedelai tersebut masih perlu dilakukan untuk melihat efek samping atau pengaruh kolkisin lainnya terhadap tanaman kedelai. Menurut Luckett (1989), pada banyak spesies tanaman yang diinduksi kolkisin, kolkisin dapat menyebabkan efek samping seperti terjadinya sterilitas, pertumbuhan dan morfologi yang abnormal pada tanaman, dan terjadi pengaturan ulang atau bahkan hilangnya kromosom. Hasil analisis terhadap karakter fenotip pada tanaman kedelai Anjasmoro disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1 menunjukkan perbandingan data analisis karakter fenotip yang diamati antar perlakuan. Karakter-karakter fenotip tersebut merupakan karakter fenotip penting yang dijadikan sebagai acuan oleh para pemulia tanaman kedelai, khususnya dalam aspek agronomi. Sebagai contoh, tanaman kedelai yang ideal adalah tanaman kedelai yang memiliki tinggi lebih dari 100 cm, mampu memproduksi polong dengan jumlah lebih dari 100 polong berbiji dua atau lebih, berukuran biji besar (lebih dari 15 g/100 biji), dan umur masak polong berkisar antara 85 sampai 90 hari (Adisarwanto, 2014). Berdasarkan hasil analisis karakter fenotip tersebut, diketahui bahwa kolkisin memberikan pengaruh yang nyata terhadap peningkatan panjang dan lebar stomata, tinggi tanaman, dan berat 100 biji, tetapi tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap jumlah polong per tanaman, jumlah biji per tanaman, umur berbunga, dan umur masak polong.

Pada umumnya, peningkatan ukuran stomata memiliki korelasi positif terhadap tingkat keberhasilan poliploidisasi pada tanaman. Seperti yang dilaporkan oleh Limera *et al.* (2016) dalam

penelitiannya bahwa tanaman lobak (*Raphanus sativus* L.) tetraploid memiliki ukuran stomata yang lebih besar daripada tanaman lobak diploid. Hal ini dikarenakan jumlah kromosom dalam sel tanaman poliploid telah mengganda sehingga menyebabkan peningkatan ukuran sel.

Namun demikian, berdasarkan hasil analisis *flow cytometry* dalam penelitian ini diketahui bahwa tanaman kedelai Anjasmoro perlakuan belum berhasil terinduksi poliploid. Hal tersebut berarti jumlah kromosom dalam sel tanaman kedelai Anjasmoro perlakuan tidak mengalami penggandaan atau masih dalam keadaan diploid. Adanya peningkatan ukuran panjang dan lebar sel pengiring stomata pada daun tanaman kedelai Anjasmoro perlakuan kemungkinan dapat disebabkan karena kolkisin mempengaruhi perubahan struktur sitoskeleton mikrotubula pada proses morfogenesis jaringan yang terdapat pada daun, terutama jaringan epidermis, sehingga menyebabkan perubahan ukuran pada sel pengiring stomata (Panteris *et al.*, 1993).

Selanjutnya, pada karakter fenotip tinggi tanaman yang diukur setelah tanaman mencapai keadaan paling maksimal (sudah berbuah), diketahui bahwa kedelai Anjasmoro perlakuan baik pada konsentrasi kolkisin 0,01% maupun 0,02% memiliki rerata tinggi tanaman yang lebih tinggi (102,33 cm dan 100,33 cm) jika dibandingkan dengan kedelai Anjasmoro kontrol (79,00 cm). Adanya pengaruh kolkisin terhadap tinggi tanaman juga dibuktikan oleh hasil penelitian yang dilakukan oleh Tamam (2015) mengenai poliploidisasi dengan menggunakan kolkisin pada kembang kertas (*Zinnia elegans* Jacq.). Pada konsentrasi kolkisin 0,01% dengan lama waktu perendaman 36 jam diperoleh hasil peningkatan tinggi tanaman kembang kertas sebanyak 9 cm dari tanaman kontrolnya, meskipun pada perlakuan tersebut tanaman kembang kertas belum terinduksi menjadi tanaman poliploid. Hasil lainnya ditunjukkan dalam penelitian mengenai induksi kolkisin pada tanaman kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) yang dilakukan oleh Wiradharma (2013). Tanaman kacang tanah yang diberi perlakuan kolkisin 0,2% dengan lama waktu perendaman 12 jam mengalami peningkatan tinggi tanaman jika dibandingkan dengan tanaman kontrol.

Pada karakter fenotip jumlah polong dan jumlah biji per tanaman kedelai Anjasmoro, diketahui bahwa pada kedelai Anjasmoro kontrol dan perlakuan tidak ada perbedaan yang nyata dalam hal jumlah polong dan jumlah biji per tanaman satu sama lain. Sedangkan pada karakter fenotip berat 100 biji kedelai, diketahui bahwa kedelai Anjasmoro perlakuan baik pada konsentrasi kolkisin 0,01% maupun 0,02% mengalami peningkatan berat 100 biji kedelai jika dibandingkan dengan kedelai Anjasmoro kontrol.

Tabel 1. Karakter fenotip kedelai Anjasmoro hasil induksi dengan kolkisin

No.	Karakter Fenotip	Perlakuan		
		Anjasmoro Kontrol	Anjasmoro 0,01%	Anjasmoro 0,02%
1	Panjang stomata (μ m)	19,73 \pm 0,39 ^a	21,71 \pm 0,40 ^b	23,82 \pm 0,34 ^c
2	Lebar stomata (μ m)	5,43 \pm 0,50 ^a	6,62 \pm 0,14 ^b	7,47 \pm 0,23 ^c
3	Tinggi tanaman (cm)	79,00 \pm 3,61 ^b	102,33 \pm 3,06 ^c	100,33 \pm 7,77 ^c
4	Jumlah polong/tanaman (buah)	17,00 \pm 1,15 ^b	15,00 \pm 2,00 ^b	17,00 \pm 2,89 ^b
5	Jumlah biji/tanaman (buah)	34,00 \pm 2,65 ^b	32,00 \pm 4,93 ^b	35,00 \pm 7,81 ^b
6	Berat 100 biji (g)	14,00 \pm 0,00 ^a	16,27 \pm 0,00 ^c	15,33 \pm 0,00 ^b
7	Umur mulai berbunga	33 hari	33 hari	33 hari
8	Umur masak polong	79-86 hari	79-86 hari	79-86 hari

Keterangan : Data ditampilkan dalam nilai rerata \pm standar deviasi. Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada baris yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata pada uji Duncan taraf 5%.

Berdasarkan hasil pada Tabel 1 dapat diketahui bahwa kolkisin tidak memberikan pengaruh terhadap jumlah polong dan jumlah biji per tanaman kedelai Anjasmoro perlakuan. Hal ini disebabkan kedelai Anjasmoro perlakuan belum berhasil terinduksi poliploid oleh kolkisin sehingga tidak terjadi penambahan jumlah kromosom. Penambahan jumlah kromosom menyebabkan ukuran sel bertambah besar dan berakibat pada peningkatan ukuran organ akar, batang, daun, bunga, dan buah (Burns, 1972). Selain itu, menurut Liu *et al.* (2007) penambahan jumlah kromosom juga mengakibatkan

semakin banyaknya jumlah kloroplas dalam sel. Peningkatan ukuran organ akar, daun, dan jumlah kloroplas secara tidak langsung menyebabkan peningkatan laju fotosintesis. Laju fotosintesis yang meningkat dapat menghasilkan fotosintat (hasil fotosintesis) dalam jumlah yang lebih banyak, sehingga dapat dihasilkan umbi atau buah yang lebih besar dan banyak sebagai tempat penyimpanan fotosintat (Rachmawati dkk., 2009).

Pengaruh kolkisin terhadap peningkatan produktivitas tanaman telah dilaporkan dalam beberapa penelitian. Wiradharma (2013) mengatakan bahwa induksi kolkisin konsentrasi 0,2% dengan lama waktu perendaman 12 jam pada tanaman kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) telah menghasilkan tanaman kacang tanah tetraploid dengan polong berbiji empat, sedangkan tanaman kacang tanah kontrol (diploid) hanya memiliki polong berbiji dua atau tiga. Selain itu, Essel *et al.* (2015) menunjukkan dalam penelitiannya bahwa pada perlakuan kolkisin 0,15 g/dl rerata jumlah polong pada tanaman kacang tolo (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) mengalami peningkatan dibandingkan dengan tanaman kontrol.

Selanjutnya, pada karakter umur mulai berbunga dan umur masak polong diketahui bahwa pada tanaman kedelai Anjasmoro kontrol dan perlakuan tidak ada perbedaan nyata dalam hal umur mulai berbunga dan umur masak polong satu sama lain, yaitu 33 hari untuk umur mulai berbunga dan 79-86 hari untuk umur masak polong. Dalam hal ini kolkisin tidak memberikan pengaruh terhadap umur mulai berbunga dan umur masak polong tanaman kedelai Anjasmoro perlakuan. Hal ini dikarenakan perlakuan kolkisin yang belum tepat terhadap kedelai Anjasmoro, sehingga tidak terjadi penundaan proses mitosis sel-sel tanaman kedelai Anjasmoro perlakuan. Penundaan proses mitosis akibat terganggunya proses pembentukan benang spindel karena pengaruh kolkisin dapat menyebabkan tertundanya pembungaan dan umur masak buah suatu tanaman (Dnyansagar, 1992).

SIMPULAN

Kedelai Anjasmoro belum berhasil terinduksi poliploid dengan perlakuan kolkisin konsentrasi 0,01%, 0,02%, 0,025%, 0,05%, 0,075%, 0,1%, 0,15%, 0,2%, dan 0,25% dengan lama waktu perlakuan 6, 8, 10, 12, 16, 18, dan 24 jam. Perlakuan kolkisin konsentrasi 0,01% dan 0,02% dengan lama waktu perlakuan 10 jam mempengaruhi peningkatan ukuran stomata, tinggi tanaman, dan berat 100 biji kedelai Anjasmoro.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih diberikan kepada Lembaga Pengelola Dana Pendidikan (LPDP) yang telah mendanai penelitian ini dan Pusat Inovasi Agroteknologi (PIAT) UGM serta Bapak Romli dan Bapak Saija yang telah membantu selama proses penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Adisarwanto, T. (2014). *Kedelai tropika produktivitas 3 ton/ha*. Penebar Swadaya : Jakarta.
- Adisewoyo, S. (1995). *Sitogenetika*. Gadjah Mada University Press : Yogyakarta.
- Allum, J. F., Bringloe, D. H., & Robert, A. V. (2007). Chromosome doubling in a *Rosa rugosa* Thunb. hybrid by exposure of in vitro nodes to oryzalin : the effects of node length, oryzalin concentration and exposure time. *Plant Cell Rep.* 26 : 1977 – 1984.
- BPS (Badan Pusat Statistik). (2014). *Produksi kedelai indonesia*. (www.bps.go.id). Diakses pada tanggal 13 Mei 2015.
- Burns, G. W. (1972). *The science of genetics, an introduction to heredity*. Second Edition. The Macamillan Company : New York.
- Burun, B., & Emiroglu, U. (2008). A comparative study on colchicine application methods in obtaining doubled haploids of tobacco (*Nicotiana tabacum* L.). *Turk. J. Biol.* 32 : 105-111.
- Can, S. (2012). Polyploid organisms. *Science China. Life Sciences*. Vol. 55, No. 4 : 301-311.
- Comai, L. (2005). The advantages and disadvantages of being polyploid. *Genetics*. Vol. 6 : 836-846.
- Costich, D. E., Ortiz, R., Meagher, T. R., Bruederle, L. P., & Vorsa, N. (1993). Determination of ploidy level and nuclear DNA content in blueberry by flow cytometry. *Theor. Appl. Genet.* 86 : 1001-1006.

- Daryono, B. S. (1998). Pengaruh kolkisin terhadap pembentukan sel-sel melon tetraploid. *Buletin agro Industri* No. 5 : 2-11.
- Dnyansagar, V. R. (1992). *Cytology and genetics*. Tata McGraw-Hill Publishing Company : New Delhi.
- Dolezel, J., & Bartos, J. (2005). Plant DNA flow cytometry and estimation of nuclear genome size. *Oxford Journals Science & Mathematics. Annals of Botany*. Vol. 95 : 99-110.
- Essel, E., Isaac, K., Asante, & Ebenezer, L. (2015). Effect of colchicine treatment on seed germination, plant growth and yield traits of cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). *Canadian Journal of Pure and Applied Sciences*. Vol. 9, No. 3 : 3573-3576.
- Finkelstein, Y., Aks, S. E., Hutson, J. R., Juurlink, D. N., Nguyen, P., Dubnov-Raz, G., Pollak, U., Koren, G., & Bentur, Y. (2010). Colchicine poisoning : the dark side of an ancient drug. *Clin Toxicol (Phila)*. 48 (5).
- Herman, N., Irma, M., & Dewi, I. R. (2013). Pengaruh mutagen kolkisin pada biji kacang hijau (*Vigna radiata* L.) terhadap jumlah kromosom dan pertumbuhan. Prosiding Seminar Nasional Biodiversitas dan Ekologi Tropika Indonesia (BioETI) Universitas Andalas.
- Jaroslav, D. J. & Jan, S. G. (2007). *Flowcytometry with plant cell*. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KgaA : Weinheim.
- Limera, C., Wang, K., Xu, L., Wang, Y., Zhu, X., Feng, H., Sha, Y., Gong, Y., & Liu, L. (2016). Induction of autotetraploidy using colchicine and its identification in radish (*Raphanus sativus* L.). *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. Vol. 91, No. 1 : 63-70.
- Liu, G., Li, Z., & Bao, M. (2007). Colchicine induction chromosome doubling in *Platanus acerifolia* and its effect on plant morphology. *Euphytica*. 157 : 145-154.
- Lucket, D. (1989). Colchicine mutagenesis in associated with substantial heritable variation in cotton. *Euphytica*. 42 : 177-182.
- Mercy Kutty, V. C. (1983). Studies on induced tetraploid in four diverse cultivars of pea (*Pisum sativum* L.). *Cytologia*. 48(1) : 51-58.
- Panteris, E., Apostolakos, P., & Galatis, B. (1993). Microtubules and morphogenesis in ordinary epidermal cells of *Vigna sinensis* leaves. *Protoplasma*. Vol. 174(3) : 91-100.
- Rachmawati, D., Nasir, M., Sudjino, & Dewi, K. (2009). *Bahan ajar fisiologi tumbuhan*. Fakultas Biologi UGM : Yogyakarta.
- Sarathum, S., Hegele, M., Tantiviwat, S., & Nanakorn, M. (2010). Effect of concentration and duration of colchicine treatment on polyploidy induction in *Dendrobium scabrilingue* L. *Europ. J. Hort. Sci*. 75 : 123-127.
- Shi, L., Zhu, T., Morgante, M., Rafalski, J. A., & Keim, P. (1996). Soybean chromosome painting : a strategy for somatic cytogenetics. *Journal of Heredity* 87 (4) : 308-313.
- Suhartina. (2005). *Deskripsi varietas unggul kacang-kacangan dan umbi-umbian*. Balai Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi : Malang.
- Sundov, Z., Nincevicb, Z., Definis-Gojanovicc, M., Glavina-Durdovc, M., Jukica, I., Hulinad, N., & Tonkica, A. (2005). Fatal colchicine poisoning by accidental ingestion of meadow saffron-case report. *Forensic Science International*. 149 : 253-256.
- Tamam, M. B. (2015). *Analisis variasi fenotip dan molekular kembang kertas (Zinnia elegans Jaqc.) hasil induksi kolkisina*. Tesis. Tidak diterbitkan. Yogyakarta : Fakultas Biologi UGM.
- Vodyanova, O. S. (1974). The effect of colchicine on the formation of autopolyploid tissues in the root meristem of *Allium cepa* L. and the output of polyploids. *Genetika-i-seleksiya-rast-i-zhivotnykh-v-Kazakhstane* : 83-87.
- Wang, Z., You, R., & Chen, X. (2001). Effects of colchicine on the accumulation of vacuolar H⁺ pyrophosphatase and H⁺ ATPase in germinating *Acacia mangium* seeds and the recovery effects by sucrose, indole butyric acid and 6-benzyladenine. *Plant Growth Regulation*. Vol. 34(3) : 293-303.
- Wardhani, M. & Wiendi, N. M. A. (2015). *Induksi mutasi genetik melalui penggandaan kromosom kedelai (Glycine max (L.) Merr.) varietas wilis dan tanggamus dengan kolkisin secara in vitro*. Prosiding Simposium dan Seminar Bersama PERAGI-PERHORTI-PERIPI-HIGI Mendukung Kedaulatan Pangan dan Energi yang Berkelanjutan.

Wiradharma, I. G. L. A. (2013). *Induksi poliploid kacang tanah (Arachis hypogaea L. var kelinci) dengan kolkisin*. Skripsi. Tidak diterbitkan. Yogyakarta : Fakultas Biologi UGM.