

**ANALISIS KARAKTER AGRONOMIS, ANATOMIS, DAN MOLEKULAR
PADA KULTIVAR TEBU (*Saccharum officinarum* L.) GMP3
HASIL PEMULIAAN MELALUI INDUKSI KOLKISIN**

(Tesis)

Oleh

PUTRI KENDARI



**PROGRAM PASCASARJANA MAGISTER BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2022**

ABSTRAK

ANALISIS KARAKTER AGRONOMIS, ANATOMIS, DAN MOLEKULAR PADA KULTIVAR TEBU (*Saccharum officinarum* L.) GMP3 HASIL PEMULIAAN MELALUI INDUKSI KOLKISIN

Oleh

PUTRI KENDARI

Salah satu upaya pemuliaan tanaman dapat dilakukan melalui induksi mutasi kolkisin. PT. Gunung Madu Plantations telah melakukan induksi mutasi pada kultivar GMP3 namun, penelitian tentang pengaruh kolkisin terhadap karakter agronomis, anatomis dan molekular masih terbatas. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui karakter agronomis, anatomis, dan molekular pada tebu kultivar GMP3 hasil pemuliaan melalui induksi kolkisin. Penelitian ini dilakukan pada bulan Februari 2021-Maret 2022.

Penelitian ini dilakukan di kebun percobaan dan laboratorium *Polymerase Chain Reaction* (PCR) PT GMP, Lampung Tengah dan dilanjutkan di Laboratorium Bioteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Metode yang digunakan adalah analisis karakter agronomis secara kualitatif dan kuantitatif, analisis karakter anatomis dengan metode printing, dan analisis secara molekular menggunakan penanda RAPD. Analisis data yang digunakan pada karakter agronomis dan anatomis membandingkan antar kontrol selanjutnya nilai rata-rata karakter dianalisis PCA dan dianalisis klaster menggunakan perangkat lunak MVSP. Analisis data molekular, analisis polimorfisme dilakukan berdasarkan pita hasil amplifikasi *Gel Doc*, kemudian data keragaman hasil elektroforesis berdasarkan pola pita DNA dianalisis menggunakan program MVSP.

Hasil dari penelitian ini yaitu mutan kultivar GMP3 memiliki keragaman 7 karakter kualitatif yang berbeda sedangkan keragaman karakter kuantitatif pada kultivar mutan GMP3 memiliki 5 karakter kuantitatif yang berbeda. Pada karakter anatomis kultivar mutan GMP3 memiliki ukuran stomata lebih besar, memiliki lebar bukaan stomata kecil, kerapatan stomata tinggi, jumlah stomata banyak dan indeks stomata tinggi. Variasi genetik berdasarkan karakter molekular kultivar mutan GMP3 memiliki 35-60 pita DNA dengan 28 pita polimorfik, nilai PIC yang berkisar antara 0,28-0,39 dan memiliki pola pita DNA yang beragam.

Kata Kunci : Agronomis, Anatomis, Kolkisin, Molekular, Kultivar GMP3.

ABSTRACT

ANALYSIS OF AGRONOMIC, ANATOMIC, AND MOLECULAR CHARACTER OF SUGARCANE CULTIVARS (*Saccharum officinarum* L.) GMP3 OF BREEDING RESULT THROUGH COLCHICINE INDUCTION

By

PUTRI KENDARI

One breeding effort can be made using the induction of colchicine mutations. PT Gunung Madu Plantations has induced mutations of the GMP3 variety, however, the study on the effect of colchicine on agronomic, anatomical and molecular characters remains limited. This study aimed to analyze the agronomic, anatomic, and molecular characteristics of sugarcane cultivar GMP3 of breeding results through colchicine induction. This research was conducted from February 2021-March 2022.

This research was conducted in the experimental garden and the Polymerase Chain Reaction (PCR) laboratory of PT Gunung Madu Plantations (GMP), Lampung Tengah, and continued at the Biotechnology Laboratory, Faculty of Agriculture, University of Lampung. The methods used are qualitative and quantitative analysis of agronomic characters, analysis of anatomical characters using the printing method, and molecular analysis using RAPD markers. Analysis of the data used on agronomic and anatomical characters was compared between controls, then the average value of the characters was analyzed by PCA and analyzed in clusters using MVSP software. Molecular and polymorphism data analysis was carried out based on the results of the Gel Doc amplification band, then data on the diversity of electrophoresis results based on DNA band patterns were analyzed using the MVSP program.

The result of this study is GMP3 mutant variety has 7 different qualitative characters, while the GMP3 mutant variety has 5 different quantitative characters. The anatomical characters of the GMP3 mutant variety have larger stomata size, high stomata density, large number of stomata, and high stomata index. Genetic variation based on the molecular character of the GMP3 mutant variety has 35-60 DNA bands with 28 polymorphic bands and has a PIC value ranging from 0.28-0.39 and has diverse DNA band patterns.

Keywords: Agronomic, Anatomic, Colchicine, Molecular, Varieties of GMP3.

**ANALISIS KARAKTER AGRONOMIS, ANATOMIS, DAN MOLEKULAR
PADA KULTIVAR TEBU (*Saccharum officinarum L.*) GMP3
HASIL PEMULIAAN MELALUI INDUKSI KOLKISIN**

Oleh

PUTRI KENDARI

Tesis

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
MAGISTER SAINS**

Pada

**Program Studi Magister Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Lampung**



**PROGRAM STUDI MAGISTER BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2022**

Judul Tesis : **ANALISIS KARAKTER AGRONOMIS, ANATOMIS, DAN MOLEKULAR PADA KULTIVAR TEBU (*Saccharum officinarum* L.) GMP3 HASIL PEMULIAAN MELALUI INDUKSI KOLKISIN**

Nama Mahasiswa : **PUTRI KENDARI**

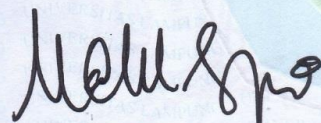
NPM : 2027021012

Program Studi : Magister Biologi

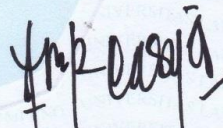
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

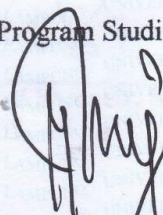


Dr. Mahfut, S.Si., M.Sc.
NIP.198109092014041001



Dr. Endang Nurcahyani, M.Si.
NIP 196510311992032003

2. Ketua Program Studi Magister Biologi



Dr. Nuning Nurcahyani, M.Sc.
NIP.196603051991032001

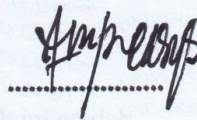
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

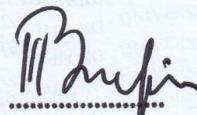
Ketua : Dr. Mahfut, S.Si., M.Sc.



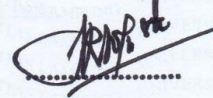
Sekretaris : Dr. Endang Nurcahyani, M.Si.



Penguji
Bukan Pembimbing 1 : Dr. Bambang Irawan, M.Sc.



Bukan Pembimbing 2 : Dr. Sri Wahyuningsih, M.Si.

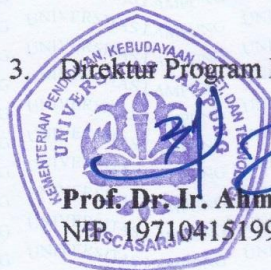


Dean Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Dr. Eng. Satripto Dwi Yuwono, M.T.
NIP. 197407052000031001

3. Direktur Program Pascasarjana



Prof. Dr. Ir. Ahmad Saudi Samosir, S.T., M.T.
NIP. 197104151998031005

Tanggal Lulus Ujian : 1 Agustus 2022

PERNYATAAN KEASLIAN HASIL KARYA

Nama yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Putri Kendari

NPM : 2027021012

Dengan ini menyatakan bahwa apa yang tertulis dalam karya ilmiah ini adalah hasil karya sendiri berdasarkan pengetahuan dan informasi yang telah saya dapatkan. Karya ilmiah ini tidak berisi material yang telah dipublikasikan sebelumnya atau dengan kata lain bukan hasil plagiat karya orang lain.

Demikian pernyataan ini saya buat dan dapat dipertanggungjawabkan. Apabila dikemudian hari terdapat kecurangan dalam karya ilmiah ini, maka saya siap mempertanggungjawabkannya.

Bandar Lampung, 4 Agustus 2022
Pembuat pernyataan,



Putri Kendari
NPM. 2027021012

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Menggala, Kabupaten Tulang Bawang pada tanggal 30 Agustus 1997, sebagai putri pertama dari tiga bersaudara pasangan dari Ayahanda Kannedi dan Ibunda Rita Sari. Penulis mulai menempuh pendidikan pertama di Sekolah Dasar Negeri 1 Menggala pada tahun 2005, pendidikan Sekolah Menengah Pertama di SMP N 1 Menggala pada tahun 2010, dan pendidikan Sekolah Menengah Atas di SMA N 2 Menggala pada tahun 2013.

Penulis diterima di Perguruan Tinggi Negeri (PTN) Universitas Lampung (UNILA) pada program studi Biologi, Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN) pada tahun 2016 dan meraih gelar Sarjana Sains (S.Si.) pada tahun 2020.

Pada tahun 2020, penulis tercatat sebagai mahasiswa Program Studi Magister Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam di Universitas Lampung, selama menjadi mahasiswa penulis pernah menjadi asisten praktikum orchidologi pada tahun 2020, asisten praktikum bryologi pada tahun 2021 dan asisten praktikum bioinformatika pada tahun 2022.

MOTTO

“Jadilah yang “TERBAIK” dengan Versi dirimu sendiri”

(Penulis)

Jangan membenci siapapun, tak peduli seberapa banyak kesalahan yang mereka lakukan terhadapmu. Hiduplah dengan rendah hati, tak peduli seberapa banyak kekayaanmu. Berpikirlah positif, tak peduli seberapa keras kehidupan yang kamu jalani. Berikanlah banyak, meskipun menerima sedikit. Tetaplah menjalin hubungan dengan orang-orang yang telah melupakanmu, maafkanlah orang yang berbuat salah padamu, dan jangan berhenti mendoakan yang terbaik untuk orang yang kau sayangi.

(Ali bin Abi Thalib)

PERSEMBAHAN

Dengan Ridho Allah SWT, kupersembahkan karya kecilku ini kepada dua orang yang paling berharga bagi hidup saya, Ayah Kannedi dan Ibu Rita Sari.

Sebagai motivator dan penyemangat terbesar dalam hidup saya. Senantiasa selalu mendo'akan dan menyemangati putri tercintanya dan telah menghantarkan diri saya sampai ke jenjang ini dengan segala pengorbanan dan kesabaran tanpa kenal lelah, semoga lelah kalian menjadi lilah untuk bekal diakhirat kelak.

Kedua adikku tersayang dan semua orang terdekatku yang senantiasa memberikan dukungan selama saya menempuh pendidikan hingga sampai ditahap ini.

Dosen-dosen yang telah mengajarkan saya ilmu yang bermanfaat dan bimbingan dengan tulus dan ikhlas.

Serta Almamater tercinta yang menjadi kebanggaan saya.

SANWACANA

Assalamu'alaikum warahmatullahi wabarakatuh

Alhamdulillah, puji syukur penulis ucapkan kehadiran Allah SWT, yang telah memberikan Rahmat dan Hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis yang berjudul "**Analisis Karakter Agronomis, Anatomis, dan Molekular Pada Kultivar Tebu (*Saccharum officinarum* L.) GMP3 Hasil Pemuliaan Melalui Induksi Kolkisin**" sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Magister Sains, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA), Universitas Lampung.

Penghargaan dan ucapan terima kasih penulis haturkan kepada semua pihak atas arahan, bimbingan, semangat, ilmu, ide, saran, kritik, dan nasehat sehingga tesis ini dapat terselesaikan. Dalam kesempatan ini, penulis ingin menyampaikan rasa hormat dan ucapan terimakasih kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Karomani, M.Si., selaku Rektor Universitas Lampung.
2. Bapak Prof. Dr. Ir. Ahmad Saudi Samosir, S.T., MT., selaku Direktur Program Pascasarjana Universitas Lampung.
3. Bapak Dr. Eng. Suropto Dwi Yuwono, M.T., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
4. Kedua orangtuaku tercinta, Bapak Kannedi dan Ibu Rita Sari, kedua adikku Rebio Farma dan Nabila Syaki sebagai penyemangat terbaik dalam hidupku. Terima kasih telah membesarkanku menjadi anak yang kuat, selalu memberikan perhatian, kasih sayang, do'a, dukungan dan motivasi yang telah diberikan.
5. Bapak Dr. Mahfut, S.Si., M.Sc., selaku Pembimbing I dan Pembimbing Akademik atas waktu dan tenaga yang telah sabar memberikan ilmu,

bimbingan, nasihat, arahan, saran serta masukan kepada penulis dalam proses perkuliahan, penelitian, dan penyusunan tesis ini.

6. Ibu Dr. Endang Nurcahyani, M.Si., selaku Pembimbing II yang telah membimbing, memberi masukan, kritik dan saran serta membantu penulis menyelesaikan tesis ini.
7. Bapak Bambang Irawan, M.Si., selaku dosen Pembahas I yang telah memberikan kritik, saran, dan masukan yang sangat membantu penulis dalam kesempurnaan penyusunan tesis ini.
8. Ibu Dr. Sri Wahyuningsih, M.Si., selaku dosen Pembahas II yang telah memberikan motivasi, kritik, saran, dan masukan yang sangat membantu penulis dalam kesempurnaan penyusunan tesis ini.
9. Ibu Dr. Nuning Nurcahyani, M.Sc., selaku Ketua Program Studi Magister Biologi FMIPA Universitas Lampung.
10. Bapak Drs. M. Kanedi M.Si., selaku Ketua Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung.
11. Bapak dan Ibu Dosen, serta seluruh staff Program Studi Magister Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung, terima kasih atas ilmu, dukungan, dan pengalaman yang telah banyak diberikan kepada penulis.
12. PT. Gunung Madu Plantations, yang telah memberikan kesempatan penelitian kepada penulis.
13. Bapak Alhuda Niftakul Ahyar dan Bapak Danu Untoro yang telah banyak memberi masukan, saran, membimbing, dan mengajarkan berbagai macam ilmu kepada penulis selama melaksanakan penelitian di PT.Gunung Madu Plantations.
14. Teman seperjuangan penelitian Intan Poespita W S.Si., M.Sc., Syarifah Nuraini S.Si., dan Heni Erlita Sari S.Si., selaku rekan seperjuangan penelitian terimakasih telah menemani selama penelitian suka maupun duka, memberikan semangat, dan motivasi untuk terus berjuang sampai saat ini.
15. Frengki Eka Saputra, S.P., atas perhatian, waktu, tenaga, motivasi, dan dukungan yang selalu diberikan kepada penulis di segala situasi dan kondisi.

16. Terkhusus sahabatku Adella Putri Aprliani, S.Hut telah membantu dalam berbagai hal dan selalu memberikan dukungan semangat, motivasi, dan nasehat yang selalu tercurah kepada penulis.
17. Sahabat-sahabat terbaikku Yosi Dwi Saputra, Melisa Saputri, Suci Saulia Afifah Z.A, Sri Mulyani, Imam Prabowo, Herdi Saputra, dan Padi Jeriansyah, yang selalu memberi dukungan dan semangat bagi penulis dalam melakukan penelitian sampai menyelesaikan tesis.
18. Teman-teman seperjuangan Angkatan 2020, terimakasih atas kebersamaan dan persaudaraannya.
19. Almamaterku tercinta Universitas Lampung.

Semoga ALLAH SWT dapat membalas kebaikan kalian semua. Semoga ini akan menjadi hal yang terbaik untuk kita semua. Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam penulisan tesis ini, namun penulis berharap semoga skripsi ini dapat berguna dan bermanfaat bagi pembaca. Semoga kebaikan selalu menyertai kita semua.

Bandar Lampung, 4 Agustus 2022

Putri Kendari

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	iii
DAFTAR GAMBAR	iv
 PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Tujuan Penelitian	3
1.3. Manfaat Penelitian	3
1.4. Kerangka Pemikiran.....	4
1.5. Hipotesis	5
 II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Tebu	6
2.1.1. Sejarah Tebu.....	6
2.1.2. Klasifikasi Tebu	7
2.1.3. Morfologi Tebu	7
2.1.4. Syarat Tumbuh Tebu.....	9
2.2. Pemuliaan Tanaman.....	10
2.3. Kultivar Tanaman	11
2.4. Mutagen Pada Tanaman.....	12
2.5. Kolkisin.....	13
2.6. Pengaruh Kolkisin Pada Tanaman	14
2.7. Pengaruh Mutasi Pada Karakter Agronomis.....	15
2.8. Pengaruh Mutasi Pada Karakter Anatomis	16
2.9. Pengaruh Mutasi Pada Karakter Molekular	16
 III. METODE PENELITIAN	
3.1. Waktu dan Tempat.....	19
3.2. Alat dan Bahan.....	19
3.3. Rancangan Penelitian.....	21
3.4. Pelaksanaan Penelitian.....	22
1. Analisis Karakter Agronomis (Kualitatif).....	22
2. Analisis Karakter Agronomis (Kuantitatif).....	22

3. Analisis Karakter Anatomis	23
4. Analisis Karakter Molekular	23
3.5. Analisis Data	26
1. Analisis Data Karakter Agronomis	26
2. Analisis Data Karakter Anatomis.....	27
3. Analisis Data Karakter Molekular.....	28
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1. Deskripsi Tebu (<i>Saccharum officinarum</i> L) Kultivar GMP3	29
4.2. Karakter Kualitatif	31
4.3. Karakter Kuantitatif	44
4.4. Karakter Anatomis	60
4.5. Karakter Molekular	74
V. KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1. Kesimpulan	93
5.2. Saran	94
DAFTAR PUSTAKA	
LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Sekuens primer spesifik untuk amplifikasi PCR.....	20
2. 33 Karakter kualitatif.....	36
3. Indeks similaritas (%) pada kultivar GMP3 dan 21 kultivar mutan GMP3 berdasarkan karakter kualitatif	37
4. Karakter yang berperan dalam pengelompokkan kultivar mutan GMP3	43
5. Nilai rata-rata karakter kuantitatif antara kultivar GMP3 dan 21 kultivar mutan GMP3.....	45
6. Indeks similaritas (%) pada kultivar GMP3 dan 21 kultivar mutan GMP3 berdasarkan karakter kuantitatif	55
7. Karakter yang berperan dalam pengelompokkan kultivar mutan GMP3	59
8. Nilai rata-rata karakter anatomis pada kultivar GMP3 dan 21 kultivar mutan GMP3 berdasarkan ukuran stomata	65
9. Indeks similaritas (%) pada kultivar GMP3 dan 21 kultivar mutan GMP3 berdasarkan karakter anatomis	68
10. Karakter yang berperan dalam pengelompokkan kultivar mutan GMP3	73
11. Hasil uji kuantitas DNA pada 21 sampel kultivar mutan GMP3 dan kultivar GMP3.....	76
12. Jumlah pita hasil amplifikasi PCR-RAPD pada kultivar GMP3 dan 21 mutan kultivar GMP3.....	79

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Tanaman tebu (<i>Saccharum officinarum</i> L.)	9
2. Struktur kimia kolkisin	14
3. Diagram alir rancangan penelitian	21
4. Morfologi kultivar GMP3	30
5. Bunga kultivar GMP3	30
6. Diameter batang	31
7. Lebar daun	32
8. Warna daun.....	32
9. Bentuk daun.....	33
10. Lebar bulu bidang punggung	33
11. Panjang ruas	34
12. Bentuk ruas	34
13. Dendrogram hubungan fenetik kultivar GMP3 dan 21 aksesi kultivar mutan GMP3 berdasarkan karakter kualitatif	39
14. Principal Component Analysis pada kultivar GMP3 dan kultivar Mutan GMP3 berdasarkan karakter kualitatif	41
15. Histogram tinggi tanaman kultivar GMP3 dan 21 kultivar mutan GMP3	46

16.Histogram jumlah ruas kultivar GMP3 dan 21 kultivar mutan GMP3	47
17.Histogram diameter batang kultivar GMP3 dan 21 kultivar mutan GMP3	48
18.Histogram panjang ruas kultivar GMP3 dan 21 kultivar mutan GMP3	49
19.Histogram populasi kultivar GMP3 dan 21 kultivar mutan GMP3	50
20.Histogram persentase bunga kultivar GMP3 dan 21 kultivar mutan GMP3	51
21.Histogram jumlah daun hijau kultivar GMP3 dan 21 kultivar mutan GMP3	52
22.Dendrogram hubungan fenetik kultivar GMP3 dan 21 aksesi kultivar mutan GMP3 berdasarkan karakter kuantitatif	56
23.Principal Component Analysis pada kultivar GMP3 dan kultivar mutan GMP3 berdasarkan karakter kualitatif	58
24.Bentuk stomata pada kultivar GMP3 dan mutan kultivar GMP3	61
25.Dendrogram hubungan fenetik kultivar GMP3 dan 21 aksesi kultivar mutan GMP3 berdasarkan karakter anatomis	70
26.Principal Component Analysis pada kultivar GMP3 dan kultivar mutan GMP3 berdasarkan karakter anatomis	72
27.Pola pita DNA hasil amplifikasi marka RAPD kultivar GMP3 dan 21 mutan kultivar GMP3 berdasarkan karakter molekular	85
28.Dendrogram hubungan filogenetik kultivar GMP3 dan 21 aksesi kultivar mutan GMP3 berdasarkan karakter molekular	87

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Tebu (*Saccharum officinarum* L.) merupakan tanaman monokotil yang termasuk dalam tanaman C4 dari genus *Saccharum* dengan familia Poaceae. Tanaman tebu digunakan sebagai bahan baku utama gula yang tumbuh pada iklim tropis (Lubis dkk., 2015). Di Indonesia tingkat kebutuhan gula yang terus meningkat belum bisa dipenuhi oleh beberapa industri gula. Hal ini disebabkan oleh produktivitas tebu yang tergolong rendah (Badan Pusat Statistik, 2021).

Salah satu industri perkebunan gula yang masih terus mengusahakan peningkatan produksi gula dengan memiliki *Department Research and Development* yang melaksanakan program perakitan kultivar unggul tanaman tebu adalah PT. Gunung Madu Plantations. Adapun kultivar-kultivar komersial di PT.GMP terdiri dari GMP1, GMP2, GMP3, GMP4, GMP5, GMP6, GMP7. Dari keseluruhan kultivar tersebut GMP3 termasuk kultivar yang paling komersial dan dominan, dengan luas lahan mencapai 30% dari luasan total lahan, namun berdasarkan data di lapangan, kultivar GMP3 ini memiliki kualitas rendah. Kultivar GMP3 merupakan salah satu kultivar tebu yang banyak ditanam oleh PT. GMP, karena secara produksi kultivar GMP3 unggul pada hasil tebu perhektarnya dibandingkan kultivar lain, populasi banyak dan tahan terhadap hama dan penyakit, namun kultivar ini memiliki rendemen gula yang rendah, penampilan agronomis karakter batang berukuran kecil dan lebar daun yang sempit sehingga kualitasnya rendah.

Salah satu upaya untuk meningkatkan kualitas suatu kultivar dengan pemuliaan tanaman melalui induksi mutasi kolkisin. Kolkisin merupakan senyawa alkaloid yang memiliki afinitas kuat terhadap tubulin, sehingga dapat menghambat proses pembelahan sel. Kolkisin dapat digunakan untuk menginduksi mutasi sehingga diperoleh tanaman poliploid. Kolkisin didalam program pemuliaan dapat memperbaiki sifat tanaman dengan sifat yang lebih baik. Induksi mutasi telah banyak digunakan untuk memperbaiki banyak karakter seperti karakter agronomis, anatomis dan molekular. Karakterisasi penting dilakukan untuk mengetahui sifat morfologi, agronomis, anatomis dan genetik tanaman tebu (Sivakumar, 2017).

Sejauh ini belum ada informasi resmi terkait dengan identifikasi tebu hasil pemuliaan tanaman dengan induksi kolkisin berdasarkan analisis karakter agronomis, anatomis, dan molekular. Beberapa penelitian tanaman hasil pemuliaan tanaman dengan induksi kolkisin sudah dilakukan pada tanaman putatif tebu (Yuniyati dkk., 2021), menunjukkan mutan putatif tebu paling banyak mengalami perubahan karakter agronomis yaitu pada panjang batang, jumlah dan panjang ruas, kadar kandungan gula, serta produksi. Penelitian Prabawa dan Purba (2019), menunjukkan perubahan karakter kuantitatif pada padi meliputi penurunan tinggi tanaman padi, penambahan jumlah daun, daun menjadi lebih besar dan peningkatan nilai rerata panjang malai serta peningkatan ukuran stomata.

Penelitian Kamukten dkk. (2015), menunjukkan peningkatan variasi warna biji, penurunan tinggi tanaman, panjang daun, panjang tongkol dan diameter tongkol serta peningkatan kerapatan stomata, peningkatan panjang dan lebar stomata. Hasil penelitian analisis molekular Avivi dkk. (2019) menunjukkan bahwa tanaman tebu mutan memiliki jumlah pita DNA genotipe tebu adalah 72,9% (27 pita) dari total 37 pita DNA yang diperoleh. Pada tanaman jeruk (Husain dkk., 2016) dan pada tanaman talas yang di induksi mutasi menunjukkan pola keragaman genetik yang bervariasi (Matsuyama *et al.*, 2020).

Berdasarkan hal tersebut, penelitian terkait dengan analisis karakter agronomis, anatomis dan molekular pada kultivar GMP3 hasil induksi mutasi dengan kolkisin sangat penting dilakukan. Hal ini dapat menjadi dasar upaya untuk meningkatkan kualitas dan produksi gula yaitu melalui induksi mutasi kultivar tebu GMP3.

1.2. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini, yaitu.

1. Mengetahui karakter agronomis pada tebu kultivar GMP3 hasil pemuliaan melalui induksi kolkisin.
2. Mengetahui karakter anatomis pada tebu kultivar GMP3 hasil pemuliaan melalui induksi kolkisin.
3. Mengetahui karakter molekular pada tebu kultivar GMP3 hasil pemuliaan melalui induksi kolkisin.

1.3. Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini yaitu.

1. Hasil analisis karakter agronomis, anatomis, dan molekular dapat digunakan sebagai data dasar untuk membantu pengembangan koleksi inti dan plasma nutfah yang selanjutnya akan membantu program pengembangan kultivar dan perakitan kultivar baru berdasarkan sifat unggul yang ditentukan.
2. Mendapatkan kultivar unggul sebagai tahap awal penyediaan kultivar unggul tebu sehingga ketersediaannya dapat dipenuhi sepanjang tahun.
3. Memanfaatkan kultivar klon tebu sebagai sumber manipulasi genetik bagi pengembangan suatu tanaman lainnya.

1.4. Kerangka Pemikiran

Tebu (*Saccharum officinarum* L.) merupakan tanaman monokotil yang memiliki kandungan sukrosa paling tinggi dan kandungan serat paling rendah. Oleh karena itu, tanaman tebu banyak digunakan sebagai bahan baku dalam industri gula. Konsumsi gula di Indonesia terus mengalami peningkatan mengikuti pertambahan jumlah penduduk. Namun, peningkatan konsumsi gula belum diimbangi oleh produksi gula.

Produktivitas gula nasional ditentukan oleh adanya penyediaan kultivar tebu unggul. Dalam hal ini, PT. Gunung Madu Plantations merupakan salah satu perusahaan pabrik gula yang mengembangkan kultivar unggul, salah satunya yang dikembangkan yaitu kultivar GMP3, akan tetapi berdasarkan data di lapangan kultivar ini memiliki kualitas yang rendah. Salah satu upaya untuk meningkatkan kualitas suatu kultivar adalah dengan pemuliaan tanaman. Prinsip utama program pemuliaan tebu adalah mendapatkan segregan yang mempunyai heterosis maksimum dari suatu persilangan. Penyediaan kultivar tebu unggul melalui pemuliaan tanaman, diperlukan keragaman genetik yang memadai. Tersedianya keragaman genetik, akan memperbesar kemungkinan untuk melakukan pemilihan, penggabungan sifat baik, menguji dan membentuk kultivar–kultivar baru. Oleh karena itu, pemuliaan tanaman dapat dilakukan melalui induksi mutasi dengan menggunakan mutagen kolkisin.

Kolkisin merupakan senyawa alkaloid yang memiliki afinitas kuat terhadap tubulin sehingga menghambat proses pembelahan sel. Senyawa ini kerap kali digunakan dalam pemuliaan tanaman untuk menginduksi mutasi yang menghasilkan tanaman poliploidi. Penggalan informasi mengenai pengaruh kolkisin ini dapat diamati dengan karakterisasi agronomis, anatomis dan molekular. Karakterisasi adalah salah satu cara untuk mengetahui sifat morfologi, agronomis, anatomi, dan genetik tanaman tebu untuk dapat mengetahui kultivar yang mempunyai nilai ekonomi tinggi (komersial) dan kultivar yang saat ini belum diketahui nilai ekonominya karena belum diketahui sifat-sifat unggul yang dimiliki. Sehingga, penelitian ini sangat

penting dilakukan untuk meningkatkan produksi gula yaitu melalui induksi kolkisin pada kultivar tebu GMP3.

1.5. Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini yaitu.

1. Terdapat keragaman karakter agronomis pada kultivar GMP3 hasil pemuliaan melalui induksi kolkisin.
2. Terdapat keragaman karakter anatomis pada kultivar GMP3 hasil pemuliaan melalui induksi kolkisin.
3. Terdapat keragaman karakter genetik pada kultivar GMP3 hasil pemuliaan melalui induksi kolkisin secara molekular.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tebu

2.1.1. Sejarah Tebu

Tebu (*Saccharum officinarum* L.) telah dikenal sejak beberapa abad yang lalu oleh bangsa Persia, Cina, dan India kemudian menyusul bangsa Eropa. Pada sekitar tahun 400-an, tanaman tebu telah ditemukan tumbuh di Pulau Jawa dan Sumatera, serta dibudidayakan secara komersial oleh imigran Cina (Fitriyani, 2012).

Tebu berhasil ditekambahkan untuk pertama kalinya oleh Acus Harper di Barbados pada tahun 1858. Tanaman ini diduga berasal dari daerah Pasifik Selatan yaitu kemungkinan di New Guinea (Pulau Irian bagian Timur) dan selanjutnya menyebar ke tiga arah migrasi yang berbeda (Blackburn, 1984). Arah migrasi pertama dimulai pada 8000 SM yaitu ke Pulau Solomon, Hebrida Baru, dan Kaledonia Baru. Kemudian arah migrasi kedua dimulai sekitar 6000 SM ke Filipina, pulau Kalimantan, pulau Jawa, Malaysia, Burma, dan India. Arah migrasi ketiga dimulai antara tahun 500 hingga 1100 Masehi yaitu ke Fiji, Tonga, Tahiti, Marquesa dan Hawaii (Marpaung dkk., 2011).

2.1.2. Klasifikasi Tebu

Tebu tergolong tanaman perdu dengan nama Lokal Tiwu (Jawa Barat) dan Tebu atau Rosan (Jawa Tengah, Jawa Timur). Menurut Cronquist (1981) tebu di klasifikasi sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Magnoliophyta
Classis	: Liliopsida
Ordo	: Poales
Familia	: Poaceae
Genus	: <i>Saccharum</i>
Species	: <i>Saccharum officinarum</i> L.

2.1.3. Morfologi Tebu

Morfologi pada tebu terdiri dari beberapa bagian utama yaitu batang, daun, bunga, biji dan sistem perakaran.

1. Akar

Tebu memiliki akar serabut yang terdiri dari dua jenis akar yaitu akar setek (*sett roots*) dan akar tunas (*shoot roots*). Akar setek dihasilkan dari primordia akar di dasar setek, akar jenis ini biasanya tipis dan bercabang banyak dan aktif selama periode tertentu. Akar setek berfungsi untuk mensuplai air dan nutrisi yang dialirkan ke tunas yang tumbuh dari setek. Setelah beberapa lama, akar setek ini akan mati namun, terbentuk akar-akar baru dari sekeliling buku-buku terbawah dari tunas yang tumbuh dari setek, akar tersebut disebut akar tunas atau *shoot roots*. Akar-akar tunas inilah yang akan menyangga batang tebu yang terus tumbuh meninggi yaitu akar dari buku-buku terbawah yang akan menghujam ke bawah, sedangkan akar dari sekeliling buku bagian atas akan tumbuh mencuat ke permukaan tanah. Akar tunas ini morfologinya tebal, sedikit bercabang dan bersifat permanen.

2. Batang

Batang tebu berbentuk silinder tegak, padat seperti tongkat yang terdiri dari ruas-ruas dan buku-buku yang merupakan tempat duduknya daun. Pada dasar buku terdapat sehelai daun yang pelepahnya menutupi batang sehingga membentuk susunan daun berselang-seling pada permukaan batang. Semakin tua batang, daun yang menempel akan makin tua dan mengering, lalu mengelentek sehingga, memperlihatkan batang tebu yang beruas dan berbuku-buku di bagian bawah hingga ketinggian tertentu. Pada setiap bukunya terdapat mata tunas dan cincin bakal akar yang apabila batang disetek, dari mata tunas akan tumbuh tunas, sedangkan dari bakal akar akan tumbuh akar. Bentuk ruas di antara buku batang pada berbagai jenis tebu berbeda-beda yaitu silindris, cembung di dua sisi seperti tong, cekung ke dalam di kedua sisi, kerucut, kerucut terbalik dan cekung sejajar dengan arah selang-seling.

3. Daun

Daun tebu terdiri dari pelepah daun yang menempel dan menutupi ruas-ruas batang dan helaian daun berbentuk pita, bertulang sejajar yang memanjang hingga mencapai 1 m dengan lebar 5-7 cm. Daun berpangkal pada buku-buku dan pelepahnya melekat pada ruas-ruas batang ketika batang masih muda, tersusun secara berselang-seling. Pelepah yang menempel pada batang muda berfungsi melindungi mata tunas yang masih muda. Pada pelepah daun tebu terdapat bulu bidang punggung dan telinga bagian dalam yang bentuknya berbeda-beda antar kultivar tebu, sehingga dapat digunakan sebagai penciri kultivar tebu.

4. Bunga

Tanaman tebu akan berbunga jika sudah mencapai fase tanaman dewasa, yaitu ketika tanaman tebu berumur 10-12 bulan.

Inflorans bunga (*tassel, arrow*) atau malai bunga tebu terdiri dari tangkai dan malai bunga bercabang terbuka berbentuk seperti anak panah, keduanya menjulang sepanjang 50-150 cm di ujung batang. Pada setiap malai bunga terdapat beberapa ribu bunga kecil yang tersusun secara rasemosa, yaitu bunga tertua terletak di bagian bawah, dan bunga yang lebih muda di bagian atas. Bunga tebu adalah bunga sempurna yang terdiri dari bunga betina dan bunga jantan namun, tidak semua kultivar mempunyai pollen yang fertil. Masing–masing bunga berpotensi membentuk biji. Biji tebu sejatinya adalah buah yang sulit dipisahkan dari bijinya. Biji tebu seperti padi, memiliki satu biji dengan besar lembaga 1/3 panjang biji. Biji tebu dapat ditanam di kebun percobaan untuk mendapatkan jenis baru hasil persilangan yang lebih unggul (Desy dkk., 2019).



Gambar 1. Tanaman tebu (*Saccharum officinarum* L.)
(Dokumentasi Pribadi)

2.1.4. Syarat Tumbuh Tebu

Tebu dapat tumbuh dari dataran rendah hingga dataran tinggi pada ketinggian 1.400 mdpl, tetapi pada ketinggian mulai \pm 1.200 mdpl pertumbuhan tebu akan lambat. Curah hujan yang optimum untuk

tanaman tebu adalah 1.500-2.500 mm per tahun dengan hujan tersebar merata. Suhu yang baik untuk tanaman tebu berkisar antara 24°C hingga 30°C, dengan kelembapan nisbi yang dikehendaki adalah 65-70%, dan pH tanah 5,5-7,0. Kecepatan angin yang optimum untuk pertumbuhan tebu kurang dari 10 km/jam (Indrawanto dkk., 2010).

Tekstur tanah yang cocok untuk tanaman tebu adalah tekstur tanah ringan sampai agak berat dengan kemampuan menahan air yang cukup. Kedalaman tanah untuk pertumbuhan tanaman tebu minimal 50 cm dengan tidak ada lapisan kedap air. Syarat topografi lahan tebu adalah berlereng panjang, rata, dan melandai. Bentuk permukaan lahan yang baik untuk pertumbuhan tebu adalah datar sampai bergelombang dengan kemiringan lereng 0-8 % (Kurniawan, 2018).

2.2. Pemuliaan Tanaman

Pemuliaan Tanaman adalah kegiatan mengubah susunan genetik tanaman yang bertujuan untuk mendapatkan tanaman dengan sifat yang lebih baik. Pemuliaan tanaman terdiri dari pemuliaan tanaman konvensional dan nonkonvensional. Pemuliaan tanaman nonkonvensional dibagi menjadi 2 yaitu mutasi dan rekayasa genetika (Rahayu dkk., 2015).

Pemuliaan tanaman bertujuan untuk mendapatkan kultivar unggul yang baru atau mempertahankan keunggulan suatu kultivar yang sudah ada. Metode pemuliaan tanaman berkembang seiring dengan kemajuan ilmu dan teknologi yang pada hakikatnya dapat dilakukan dengan cara pemilihan dari keragaman populasi baik yang alami, hasil persilangan, penggandaan kromosom, dan mutasi serta yang secara inkonvensional dengan cara rekayasa genetika (Syukur dkk., 2015).

Mutasi adalah perubahan materi genetik pada tingkat genom, kromosom dan DNA atau gen sehingga menyebabkan terjadinya keragaman genetik.

(Aisyah dkk., 2009). Secara luas, mutasi dihasilkan oleh segala macam tipe perubahan genetik yang mengakibatkan perubahan penampakan fenotipe yang diturunkan, termasuk keragaman kromosom maupun mutasi gen. Mutasi dapat terjadi secara tiba-tiba dan acak serta merupakan dasar sebagai sumber keragaman bagi tanaman dan bersifat terwariskan (*heritance*). Mutasi dapat terjadi secara spontan dalam (*spontaneous mutation*) dan dapat terjadi melalui induksi (*induced mutation*). Secara mendasar tidak terdapat perbedaan antara mutasi yang terjadi secara alami dan mutasi hasil induksi, keduanya dapat menimbulkan variasi genetik untuk dijadikan dasar seleksi tanaman (Syukur dkk., 2015).

Mutasi dapat terjadi pada setiap bagian tanaman dan fase pertumbuhan tanaman, namun lebih banyak terjadi pada bagian yang sedang aktif mengadakan pembelahan sel seperti tunas, biji dan sebagainya. Secara molekular, dapat dikatakan bahwa mutasi terjadi karena adanya perubahan urutan (*sequence*) nukleotida DNA kromosom, yang mengakibatkan terjadinya perubahan pada protein yang dihasilkan (Oeliem dkk., 2009).

2.3. Kultivar Tanaman

Kultivar Tanaman adalah sekelompok tanaman dari suatu jenis atau spesies yang ditandai oleh bentuk tanaman, pertumbuhan tanaman, daun, bunga, biji dan ekspresi karakteristik genotipe atau kombinasi genotipe yang dapat membedakan dari jenis atau spesies yang sama oleh sekurang-kurangnya satu sifat yang menentukan dan apabila diperbanyak tidak mengalami perubahan. Dalam budidaya tanaman kultivar tanaman menjadi salah satu faktor utama yang menjadi penentu keberhasilan (Kusuma, 2010).

Perseroan Terbatas Gunung Madu Plantations (GMP) merupakan salah satu pelopor industri gula yang memiliki perkebunan tebu dan pabrik gula di luar pulau Jawa dan memiliki *Department Research and Development* yang melaksanakan program perakitan kultivar sehingga kebutuhan kultivar

unggul dapat terpenuhi. GMP 1, GMP 2, GMP 3, GMP 4, GMP 5, GMP 6, GMP 7 merupakan kultivar komersil hasil persilangan Gunung Madu yang sudah disertifikasi tingkat nasional (Anonymous, 2016).

Kultivar tebu unggul merupakan faktor utama yang menentukan tingginya produksi yang diperoleh. Penyediaan kultivar tebu unggul dapat dilakukan melalui pemuliaan tanaman, untuk itu diperlukan keragaman genetik yang memadai dengan tersedianya keragaman genetik, maka memperbesar kemungkinan untuk melakukan pemilihan, penggabungan sifat baik, menguji dan membentuk kultivar-kultivar baru (Kusuma, 2010).

2.4. Mutagen Pada Tanaman

Mutagen adalah substansi fisik atau kimia yang mampu mengubah materi genetik baik DNA, kromosom maupun genom atau bisa meningkatkan frekuensi mutasi dan umumnya merupakan substansi yang berbahaya bagi kesehatan manusia, ternak dan hewan piaraan. Ada tiga kategori mutagen kimia yang selama ini dipakai untuk menginduksi mutagenesis pada tanaman yaitu mutagen analog basa, alkilator dan deaminator. Disamping ketiga kategori mutagen tersebut terdapat berbagai mutagen lain dengan cara kerja berbeda-beda. Selain mutagen kimia, mutagenesis dengan mutagen fisik seperti sinar ultra violet, sinar laser dan nuklir juga sudah banyak diteliti (Sari dkk., 2015).

Mutagen yang sering digunakan dalam pemuliaan tanaman yaitu mutagen kimia dan mutagen fisik. Frekuensi dan spektrum mutasi tergantung dari jenis mutagen dan dosis yang digunakan. Mutagen fisik yang telah luas penggunaannya adalah sinar-X dan sinar gamma, keduanya mempunyai penetrasi yang baik, bersifat sebagai radiasi pengion (*ionizing radiation*) sedangkan mutagen kimia pada umumnya berasal dari senyawa alkil seperti *ethyl methanesulphonate* (EMS), *diethyl sulphate* (DES), *metthyl*

metanesulphonate (MMS), hydroxylamine, nitrous acid dan sebagainya (Wartana, 2015).

2.5. Kolkisin

Kolkisin merupakan senyawa alami yang bersifat toksik dan diproduksi oleh metabolisme tanaman dalam bentuk metabolit sekunder. Nama lain zat ini dalam bahasa Inggris dapat dikenal dengan *colchicine*, *colchicina*, *colchicin*, *colchicum*, *colchique*, *condylon*, dan *colchicinum*. Padanannya dalam bahasa Indonesia menjadi kolkisin, kolkhisin atau kolkisina. Kolkisin merupakan senyawa kimia yang termasuk dalam golongan alkaloid yang memiliki peran penting dalam proteksi tanaman, perkecambahan biji, dan sebagai zat pengatur tumbuh (Ade dan Rai, 2010).

Kolkisin dapat digunakan untuk menginduksi mutasi sehingga diperoleh tanaman poliploid. Tanaman poliploid memiliki jumlah kromosom banyak serta ukuran selnya lebih besar. Dalam bidang pertanian, kolkisin banyak digunakan dalam membuat tanaman poliploid. Kolkisin menghambat segregasi kromosom pada saat meiosis berlangsung pada berbagai jenis tanaman (Sastrosumarjo dan Syukur, 2013). Tanaman poliploid setelah diperlakukan dengan kolkisin akan mempunyai ukuran organ vegetatif dan generatif lebih besar, serta pertumbuhan yang lebih cepat sedangkan dalam bidang pengobatan, kolkisin secara empiris digunakan sebagai obat komplementer dan dipercaya bisa membantu penyembuhan penyakit asam urat yang disebabkan oleh kandungan asam urat tinggi dalam jangka waktu lama (Ade dan Rai, 2010).



Gambar 2. Struktur Kimia Kolkisin (sumber: pubchem.ncbi.nih.gov).

2.6. Pengaruh Kolkisin Pada Tanaman

Penelitian mutagenesis pada tanaman dengan kolkisin sudah dimulai sejak tahun 1940, tahun dimana kolkisin ditemukan dan kemudian diketahui mempunyai pengaruh menggandakan kromosom atau menjadikan tanaman poliploid. Berbagai penelitian dengan kolkisin digunakan untuk peningkatan kualitas tanaman. Kolkisin di dalam program pemuliaan dapat memperbaiki sifat tanaman dan menambah kejaguran. Poliploidi bisa menyebabkan reorganisasi genom skala besar dan selanjutnya menyebabkan terjadinya berbagai perubahan fenotipe baik pada bagian tanaman vegetatif maupun generatif dan dari hasil berbagai penelitian dinyatakan bahwa perlakuan trifluralin dan kolkisin menurunkan tinggi tanaman dan jumlah daun per cabang tetapi meningkatkan jumlah cabang, jumlah daun per tanaman, berat daun kering dan kandungan klorofil (Chen *et al.*, 2009).

Kolkisin merupakan suatu campuran yang secara efektif menghentikan mitosis pada fase pembelahan anafase dan mempunyai efek yang signifikan pada induksi poliploid. Pada tanaman kebanyakan, poliploid buatan sering digunakan untuk memperbesar ukuran sel, mendorong ke arah perbesaran organ reproduksi dan organ vegetatif, sehingga pertumbuhan dan produksi meningkat (Sarathum *et al.*, 2010).

2.7. Pengaruh Mutasi Pada Karakter Agronomis

Karakter agronomis merupakan karakter tanaman berdasarkan morfologi dan hasil tanaman yang termasuk ke dalam karakter kualitatif dan karakter kuantitatif. Karakter kualitatif umumnya, dicirikan dengan sebaran fenotipnya tidak berkesinambungan yang dikendalikan oleh gen monogenik ataupun oligogenik yang pengaruh gen secara individu mudah dikenal. Karakter kuantitatif umumnya dicirikan oleh sebaran fenotipnya berkesinambungan atau menunjukkan sebaran normal dan dikendalikan oleh banyak gen yang masing-masing gen berpengaruh kecil terhadap ekspresi suatu karakter (Getaneh *et al.*, 2015).

Peningkatan poliploidi akibat kolkisin mempengaruhi morfologi tanaman seperti meningkatnya ukuran daun, ketebalan daun, tinggi tanaman, jumlah daun, lebar daun dan lain-lain. Jala (2013), menyatakan bahwa pengaruh induksi mutasi pada *Dionaea muscipula* dengan dosis mutagen kolkisin pada kisaran konsentrasi 0,01–0,05% selama 3 hari pada kalus kultivar PS 862 dan konsentrasi 0,01–0,03% selama 3 hari pada kultivar PSJT 941 menghasilkan kalus mutan. Secara alami penampakan morfologi tanaman poliploidi lebih besar dari spesies diploid seperti, permukaan daun lebih luas, organ bunga lebih besar, batang lebih tebal dan tanaman lebih tinggi (Grouh *et al.*, 2011).

Tanaman poliploidi mempunyai keunggulan yaitu sel-selnya menjadi lebih besar sehingga tanaman menjadi lebih besar. Hal ini tentunya menguntungkan karena memberikan nilai produktivitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan tanaman yang tidak mengalami poliploidi. Selain itu, tanaman poliploidi sering lebih subur dan tumbuh dengan cepat (Syaifudin dkk., 2013).

2.8. Pengaruh Mutasi Pada Karakter Anatomis

Menurut Miguel dan Leonhardt (2011), induksi poliploidi pada kolkisin dengan konsentrasi yang tinggi dapat menyebabkan ukuran stomata menjadi lebih besar dan jumlah stomata pada satu bidang pandang dengan perbesaran 40x akan mengalami penurunan.

Tanaman yang bersifat poliploidi secara anatomis dapat ditandai dengan ukuran selnya menjadi lebih besar. Hal tersebut terlihat jelas pada sel epidermis, inti sel dan stomata. Pada tanaman poliploidi, jumlah sel penjaga lebih sedikit tetapi memiliki ukuran sel penjaga lebih besar dibandingkan tanaman diploid dengan kandungan kloroplas yang lebih banyak (Damayanti dkk., 2012).

Hasil penelitian Damayanti dkk. (2012), bahwa ukuran stomata dapat mengindikasikan tingkat ploidi dimana semakin besar ukuran stomata maka semakin tinggi tingkat ploidi. Stomata yang memiliki ukuran besar akan membuat jumlah stomata daun dalam satu kesatuan luas jaringan epidermis daun menjadi berkurang. Tanaman yang memiliki ukuran stomata yang lebih besar dapat meningkatkan proses fotosintesis (Yunus dkk., 2018). Menurut Soetopo dan Hosnia (2018), perlakuan tanpa kolkisin memiliki kerapatan stomata tertinggi, sementara kerapatan stomata terendah pada perlakuan kolkisin (5000 ppm) pada *Phalaenopsis pulcherrima*. Konsentrasi larutan kolkisin dan waktu perendaman yang berpengaruh terhadap jumlah kromosom, indeks stomata, dan kandungan protein tanaman polong kapri, adalah konsentarsi 5 ppm dan 10 ppm dengan waktu perendaman 6 jam (Indrawanto, 2010).

2.9. Pengaruh Mutasi Secara Molekular

Secara molekular dapat dikatakan bahwa mutasi terjadi karena adanya perubahan urutan (*sequence*) nukleotida DNA kromosom, yang mengakibatkan terjadinya perubahan pada protein yang dihasilkan (Oeliem

dkk., 2009). Menurut Lestari (2013), kerusakan DNA sebagai akibat mutasi dapat menyebabkan terjadinya perubahan struktur molekul gula atau basa, putusanya ikatan hidrogen antar basa, hilangnya gula atau basa dan lainnya yang menghasilkan DNA dengan struktur yang berbeda. Jumlah pita polimorfik dalam analisis molekular oleh penanda RAPD dapat meningkatkan persentase lokus polimorfik sehingga, semakin tinggi konsentrasi kolkisin yang diberikan maka semakin tinggi aksi mutagenik yang terjadi (Sharma *et al.*, 2018).

Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) merupakan teknik amplifikasi DNA berbasis PCR (*Polymerase Chain Reaction*) yang memanfaatkan primer tunggal dan dapat digunakan untuk mendeteksi sekuens nukleotida dari polimorfisme DNA (Sharma *et al.*, 2018). PCR sendiri merupakan salah satu metode *in vitro* yang dapat menghasilkan sejumlah besar fragmen DNA spesifik dengan panjang sekuens yang telah ditentukan dari sejumlah kecil DNA template kompleks. Teknik PCR didasarkan pada amplifikasi fragmen DNA dengan menggunakan dua primer tunggal oligonukleotida yang komplementer dengan ujung 5' dari kedua rantai sekuens target. Oligonukleotida ini digunakan sebagai primer (primer PCR) untuk memungkinkan DNA template dikopi oleh DNA polymerase (Anggraini, 2009).

Metode RAPD biasanya digunakan untuk mendeteksi polimorfisme DNA, sehingga dapat digunakan sebagai penanda genetik dalam menentukan hubungan kekerabatan. Selain itu RAPD juga dapat digunakan untuk mengidentifikasi sejumlah besar polimorfisme DNA pada genom dengan cepat karena tidak memerlukan informasi mengenai sekuens (urutan DNA) sebelumnya (Grosberg, 1996; Sharma *et al.*, 2018) dan lebih efisien karena hanya membutuhkan waktu selama 2,5 jam untuk menyelesaikan siklusnya hingga menghasilkan pola pita yang lebih tajam. Analisis RAPD telah banyak digunakan dan telah terbukti efisien dan dapat diandalkan untuk pemetaan pada genom serta penanda gen dan studi populasi dikarenakan

marka molekular RAPD dapat menghasilkan pita polimorfik DNA dalam jumlah banyak, sehingga dapat menentukan tingkat polimorfisme dari kultivar yang diteliti (Sarabhai *et al.*, 2016).

III. METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari 2021-Maret 2022. Analisis karakter agronomis dilakukan di Kebun Percobaan GMP, sedangkan analisis anatomis dilakukan di Laboratorium *Polymerase Chain Reaction* (PCR) GMP dan analisis molekular dilakukan di Laboratorium *Polymerase Chain Reaction* (PCR) PT. Gunung Madu Plantation, Gunung Batin Baru, Lampung Tengah serta di Laboratorium Bioteknologi, Jurusan Hama dan Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung.

3.2. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain timbangan analitik (*Sartorius*), Tissue lyser (*Scientz-48 High Throughput Tissue Grinder*), vortex, waterbath (*Memmert*), freezer, refrigerator, spektrofotometer (*Thermo Scientific Multiskan Sky*), Centrifuge (*Eppendorf 5424R*), micropipette (*Finnpipette*), microtube 1,5 mL dan 2 mL, pinset, spidol marker permanen, tisu, aluminium foil, kotak es, spatula, gelas beaker (250, 500, dan 1000 mL), autoclave (ALP), mesin PCR (*Veriti Thermal Cycler Applied Biosystems*), Gel Doc, Fumehood, Optilab, Horizontal Agarose gel elektroforesis apparatus, sisir pembentuk sumuran (*well-forming combs*), sarung tangan, pipet tetes, rak tip, Erlenmeyer 500 mL, gelas ukur 50 mL, microwave, software *Corel Draw* versi 11, plastik kiloan, gunting, meteran, jangkar sorong, penggaris, silet, pensil, *cover glass*, *object glass* dan mikroskop BX53.

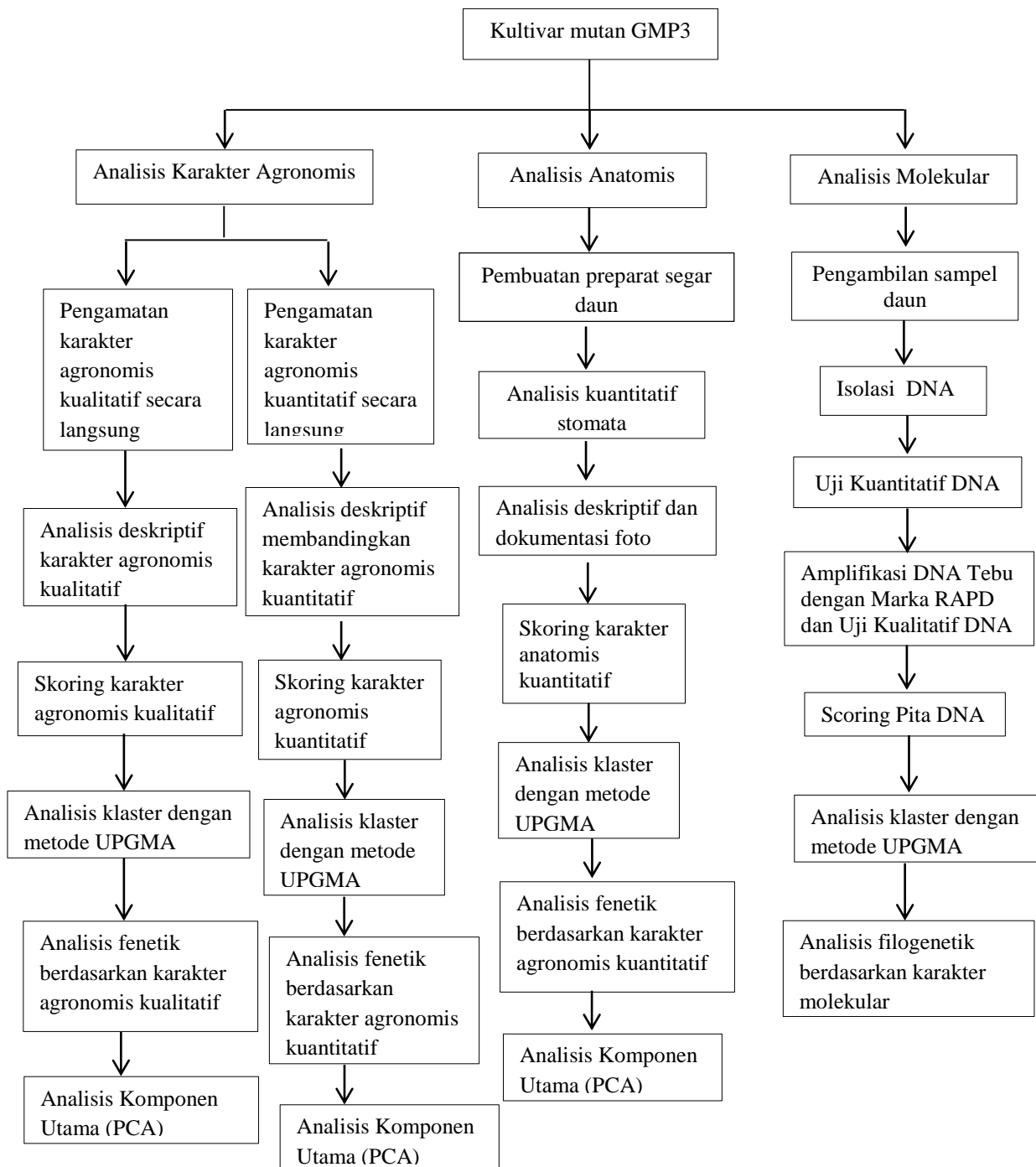
Bahan-bahan yang digunakan adalah sampel daun dari 21 mutan kultivar GMP3. Reagen dan bahan kimia yang digunakan antara lain kolkisin, liquid nitrogen cair (N₂), buffer ekstraksi (CTAB), CI (*chloroform* dan *isoamil alkohol*), isopropanol dingin, sodium acetate pH 5.2, etidium bromide, Ethanol 70%, TE Buffer pH 7.6, bubuk agarose, TBE buffer, kit PCR Bioline, primer OPN-07, OPA-04, OPB-19, OPC-16, OPA-07 (Tabel 1), DNA ladder 100bp, loading dye, ddH₂O steril, Gel red, NFP, akuades, minyak immerse, gliserin dan kutek bening.

Tabel 1. Sekuens primer spesifik untuk amplifikasi PCR

No	Primer	Sequence (5'-3')
1.	OPA-04	AATCGGGCTG
2.	OPA-07	GAAACGGGTG
3.	OPB-19	ACCCCCGAAG
4.	OPC-16	CACACTCCAG
5.	OPN-07	CAGCCCAGAG

3.3. Rancangan Penelitian

Pada penelitian ini induksi kolkisin dengan konsentrasi 0,1% dan 0,2% telah dilakukan oleh PT. Gunung Madu Plantations dengan memperoleh 21 tanaman hasil induksi kolkisin dan 1 tanaman kontrol. Adapun rancangan pada penelitian ini disajikan pada Gambar 3.



Gambar 3. Diagram alir rancangan penelitian

3.4. Pelaksanaan Penelitian

1. Analisis Karakter Agronomis

Pengamatan karakter agronomis diamati pada umur 9 bulan. Adapun parameter yang diamati pada analisis karakter agronomis adalah sebagai berikut:

1.1. Pengamatan Karakter Karakter Agronomis (Kualitatif)

1. Daun, meliputi lengkung helai daun, lebar daun, warna daun, warna segitiga daun, telinga daun dan kedudukan telinga daun.
2. Pelepah daun, meliputi kedudukan bulu bidang punggung, lebar daerah bulu bidang punggung, jarak puncak daerah bulu bidang punggung, kerapatan bulu bidang punggung, sifat lepas pelepah daun (kering) dan warna pelepah daun.
3. Batang, meliputi warna batang lapisan lilin, diameter batang, retakan batang, sifat gabus batang dan lubang pada gabus.
4. Ruas, meliputi susunan ruas, bentuk ruas, penampang melintang ruas, panjang ruas, cincin akar, jumlah mata akar, dan alur mata.
5. Mata tunas, meliputi kedudukan mata, bentuk mata, rambut jambul, tepi sayap mata, bentuk tepi sayap mata, pusat tumbuh dan rambut tepi basal.

1.2. Pengamatan Karakter Agronomis (Kuantitatif)

Pengamatan karakter agronomis (kuantitatif) yang diamati meliputi tinggi tanaman (rumpun), jumlah ruas (rumpun), diameter batang (rumpun), panjang ruas (rumpun), populasi (rumpun), jumlah daun hijau (rumpun) dan persentase bunga (rumpun).

2. Analisis Karakter Anatomis

Pengamatan stomata dilakukan dengan membuat sediaan mikroskopis berupa sayatan membujur (paradermal). Pembuatan preparat segar daun dengan teknik replika menggunakan cat kuku transparan. Langkah awal yang dilakukan yaitu mengambil bagian daun dan dibersihkan menggunakan alkohol 70%, lalu permukaan bawah daun disayat tipis kemudian diletakkan di object glass. Selanjutnya, diolesi cat kuku transparan, kemudian ditetesi gliserin dan ditutupi dengan cover glass. Lalu, preparat diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 40x dan 100x dan preparat difoto menggunakan kamera (Kumar dkk., 2014).

Karakter anatomis daun yang diamati adalah tipe stomata, lebar bukaan stomata, panjang dan lebar sel penjaga, kerapatan stomata, dan indeks stomata.

3. Analisis Karakter Molekular

Analisis molekular dilakukan dengan analisis variasi genetik dengan menggunakan penanda *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD).

3.1. Pengambilan Sampel Tebu

Pengambilan sampel tanaman tebu pada penelitian ini dilakukan di Kebun Percobaan, PT. Gunung Madu Plantations. Sampel daun mutan kultivar GMP3 yang diambil adalah daun muda dengan umur di bawah 6 bulan.

3.2. Isolasi DNA

Panduan yang digunakan untuk isolasi DNA adalah prosedur ekstraksi berbasis cetyl-trimetyl-ammonium bromide (CTAB) (Doyle and Doyle, 1987).

Tahap ekstraksi DNA dilakukan dengan manual isolation. Langkah kerja yang harus dilakukan dalam proses ekstraksi sampel yaitu yang pertama daun muda umur 4 bulan ditimbang 0,07 gr dan dibungkus dengan aluminium foil dan disimpan pada suhu -20°C. Daun dimasukkan dalam tube steril 2 mL, ditambah gotri steril dan liquid nitrogen cair (N₂). Sampel daun digrinding dengan *tissuelyser* hingga menjadi bubuk (3x 60 detik). Selanjutnya, ditambahkan buffer ekstraksi CTAB (sebelumnya dipanaskan didalam waterbath 65°C selama 15 menit) sebanyak 800 µl/sampel dan ditambahkan 10 µl (2β-mercaptoethanol).

Langkah selanjutnya, sampel diinkubasi dalam waterbath (65°C selama 60 menit) dan diinversi setiap 10 menit 1 x lalu disentrifugasi 14.000 rpm, 20°C selama 10 menit. Setelah itu, supernatan diambil, dipindahkan ke tube baru steril 1.5 mL, ditambahkan 1x vol CI (*chloroform* dan *isoamyl alcohol*), divortex selama 15-20 detik, dan disentrifugasi 14.000 rpm, pada suhu 4°C selama 5 menit. Supernatan selanjutnya diambil dan dipindahkan ke tube baru steril 1.5 mL. Langkah tersebut diulangi sebanyak 2x.

Tahap berikutnya adalah presipitasi protein pada suspense DNA dengan menambahkan 0.6x volume Isopropanol dingin dan 0.1x volume 3 M Sodium acetate pH 5.2, lalu diinkubasi didalam freezer suhu -20°C selama 3-4 jam. Setelah itu purifikasi DNA, campuran disentrifugasi 14.000 rpm, 4°C selama 10 menit kemudian pelet diambil, ditambahkan Ethanol 70% sebanyak 500 µl dan di mix dengan vortex 10 detik. Kemudian disentrifugasi 14.000 rpm, 4°C selama 10 menit dan supernatan dibuang, lalu pelet dikeringkan pada suhu ruangan hingga betul-betul kering (larutan alcohol tidak ada).

Tahap selanjutnya adalah resuspensi DNA, DNA diresuspensi dengan TE Buffer pH 7,6 (steril) sebanyak 40-50 µl, kemudian

ditambahkan 1 μ l RNase (10 mg/ml), dimix/pipetting dengan *micropipette*, diinkubasi di suhu ruang selama 5 menit dan selanjutnya disimpan pada suhu -20°C .

3.3. Uji Kuantitatif DNA

Uji Kuantitatif DNA dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer. Blanko ddH₂O dimasukkan ke spektrofotometer dan di tutup kembali lalu tekan power untuk mengkalibrasi. Setelah dikalibrasi, blanko ddH₂O dikeluarkan dan dimasukkan sampel 2 μ l ke dalam lubang kuvet yang sudah dibersihkan. Hindari adanya gelembung pada saat sampel dimasukkan ke dalam kuvet. Blanko sampel dimasukkan ke dalam alat, tekan tombol yang menunjukkan proses untuk pembacaan sampel. Lihat hasil pada layar concentration. Kemurnian DNA yang baik $A_{260}/_{280} \geq 1.8$. Tingkat kemurnian DNA diukur dengan menghitung nilai absorbansi 260nm dibagi dengan nilai absorbansi 280nm. Nilai kemurnian DNA berkisar antara 1,8-2,0. Jika kemurnian DNA kurang dari 1,8 maka indikasi adanya kontaminan dari protein dan UV sedangkan jika kemurnian DNA lebih dari 2,0 maka indikasi adanya kontaminan kloroform dan fenol (Sambrook and Russel, 1989).

3.4. Amplifikasi DNA Tebu dengan Marka RAPD

Amplifikasi DNA dilakukan berdasarkan metode Williams (1990) dengan menggunakan 5 primer RAPD (OPN-07, OPA-04, OPB-19, OPC-16, OPA-07) terpilih. Komposisi PCR dilakukan pada volume 20 μ l, yang terdiri dari primer 2 μ l, PCR Mix 10 μ l, ddH₂O 6 μ l, sampel DNA 2 μ l.

Amplifikasi DNA primer RAPD dilakukan dengan menggunakan Thermal cycler T100 (BioRAD). Pemanasan pertama dilakukan pada

suhu 94°C selama 3 menit, kemudian diikuti 30 kali siklus yang terdiri dari denaturation (pemisahan) pada suhu 94°C selama 1 menit, annealing (penempelan) sesuai dengan suhu T_M primer, extension (pemanjangan) pada suhu 72°C selama 2 menit, dan final extension pada suhu 72 °C selama 5 menit.

3.5. Elektroforesis Hasil Amplifikasi PCR

Elektroforesis sampel DNA menggunakan gel agarose dengan konsentrasi 1% (1,26 g agarose dan ditambahkan 126 ml TBE 1X), larutan agarose dihomogenkan menggunakan hotplate, selanjutnya didiamkan hingga suhu $\pm 40^\circ\text{C}$, kemudian ditambahkan 12,6 μl GelRed, elektroforesis dilakukan dengan menggunakan Power Pro (*Cleaver Scientific Ltd*) selama 90 menit pada 100 volt dengan 22 sampel dan 1 μl loading dye. Hasil pemisahan fragmen DNA dideteksi menggunakan UV transluminator, kemudian file disimpan. Standar ukuran 1000 bp plus DNA ladder (*Geneid*) untuk menetapkan ukuran pita hasil amplifikasi DNA (Sambrook and Russel, 1989).

3.5. Analisis Data

1. Analisis Data Karakter Agronomis

Analisis karakter agronomis dianalisis secara deskriptif dengan membandingkan antar karakter kualitatif dan kuantitatif. Selanjutnya dilakukan analisis hubungan kekerabatan menggunakan data agronomis yang dikarakterisasi secara kualitatif dengan cara skoring dari data deskriptif menjadi data biner. Hasil analisis berupa pengelompokkan antar species digambarkan dalam bentuk dendogram menggunakan software *Multivariate Statistical Package (MVSP)* versi 3.2 dan jarak genetik dalam analisis kluster menggunakan metode *Unweighted Pair-*

Group With Arithmetic Average (UPGMA). Selanjutnya untuk menentukan karakter kualitatif dan karakter kuantitatif yang berpengaruh pada pengelompokan antar species digunakan metode *Principal Component Analysis* (PCA).

2. Analisis Data Karakter Anatomis

Analisis karakter anatomis secara kuantitatif dan kualitatif. Data kuantitatif ditampilkan dalam bentuk tabel penghitungan stomata dan data kualitatif disajikan dalam bentuk deskriptif yang didukung oleh dokumentasi foto dan analisis kekerabatan dilakukan dengan menggunakan data anatomis yang dikarakterisasi secara kuantitatif, dengan cara scoring dari data kuantitatif menjadi data biner, kemudian dilanjutkan pengelompokan untuk hubungan kekerabatan antar species. Pengelompokan tersebut selanjutnya digambarkan dalam bentuk dendogram dengan menggunakan software *Multivariate Statistical Package* (MVSP) versi 3.2 dan jarak genetik untuk analisis kluster dengan menggunakan metode *Unweighted Pair-Group With Arithmetic Average* (UPGMA). Penentuan kuantitatif yang berpengaruh pada pengelompokan digunakan analisis *Principal Component Analysis* (PCA) dengan menggunakan software *Multivariate Statistical Package* (MVSP) versi 3.2.

Adapun rumus perhitungan kerapatan stomata, sebagai berikut: (Suhaimi, 2017).

$$\text{Kerapatan Stomata} = \frac{\text{Rata - Rata Stomata}}{\text{Luas Bidang Pandang}}$$

Sedangkan rumus perhitungan indeks stomata, sebagai berikut : (Tambaru, 2015).

$$\text{Indeks Stomata} = \frac{\text{Jumlah Stomata}}{\text{Jumlah Sel Epidemis} + \text{Jumlah Stomata}} \times 100\%$$

3. Analisis Data Karakter Molekular

Analisis polimorfisme dilakukan berdasarkan pita hasil amplifikasi *Gel Doc*, kemudian dilakukan scoring secara visual. Skor 1 diberikan apabila muncul pita DNA dan skor 0 diberikan jika pita tidak muncul (Liu *et al.* 2006). Data keragaman hasil elektroforesis pada RAPD berdasarkan pola pita DNA dianalisis menggunakan program *Multivariate Statistical Package, Version 3.2 (MVSP)*. Jarak genetik untuk analisis klaster dengan menggunakan metode *Unweighted Pair-Group With Arithmetic Average (UPGMA)*, dan Pita polimorfik yang dihasilkan dari amplifikasi RAPD-PCR selanjutnya dihitung nilai *Polymorphism Information Content (PIC)* untuk mengetahui tingkat keinformatifan pada primernya.

Dengan rumus sebagai berikut:

$$PIC_i = 2f(1 - f)$$

Keterangan :

PIC_i = PIC dari penanda i

f = frekuensi pita yang muncul

$1 - f$ = frekuensi pita yang tidak muncul

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Adapun kesimpulan dari penelitian ini sebagai berikut:

1. Keragaman karakter kualitatif pada kultivar mutan GMP3 yaitu memiliki lebar daun berukuran sedang, warna daun hijau tua, bentuk daun terdapat percabangan, tidak memiliki bulu bidang punggung, bentuk ruas silindris, panjang ruas sedang >13cm, dan diameter batang berukuran sedang (2,5-3cm) sedangkan keragaman karakter kuantitatif pada kultivar mutan GMP3 yaitu pada karakter tinggi tanaman terhambat, jumlah ruas sedikit, panjang ruas yang panjang, persentase bunga menurun, diameter batang sedang, jumlah daun hijau banyak dan jumlah populasi banyak.
2. Keragaman karakter anatomis pada kultivar mutan GMP3 memiliki ukuran stomata lebih besar, lebar bukaan stomata kecil, memiliki kerapatan stomata tinggi, jumlah stomata banyak dan indeks stomata tinggi.
3. Variasi genetik berdasarkan karakter molekular kultivar mutan GMP3 memiliki 35-60 pita DNA dengan 28 pita polimorfik. Tingkat polimorfisme masing-masing primer ditunjukkan oleh nilai PIC yang berkisar antara 0,28-0,39 dan memiliki pola pita DNA yang beragam.

5.2. Saran

1. Dilakukan penelitian selanjutnya mengenai karakter sitologi kromosom.
2. Diharapkan riset selanjutnya, untuk mendapatkan hasil analisis molekular yang optimal perlu dilakukan penelitian lebih lanjut menggunakan marka molekular lain dengan jumlah primer yang lebih banyak.

DAFTAR PUSTAKA

- Ade, R., dan Rai, M.K. 2010. Review: Colchicine, current advances and future prospects. *Bioscience*. 2(2):90-96.
- Adebisi, M. A., Okelola, F. S., Ajala, M.O., Kehinde, T.O., Daniel, I.O., and Ajani, O. 2013. Evaluation of variations in seed vigour characters of West African rice (*Oryza sativa* L.) genotypes using multivariate technique. *American Journal of Plant Sciences* 4(1):356-363.
- Ahmed, A.Z., dan Khaled, K.A.M. 2009. Detection of genetic similarity of sugarcane genotypes. *sugar crops res. Inst. Agric. Res. Center, Giza, Egypt*.
- Aili, E.V., Respatijarti., dan Sugiharto, A.N. 2016. The effect of colchicine treatments on phenotype of yellow corn (*Zea mays* L.) inbred lines in the vegetative growth phase. *Jurnal Produksi Tanaman*. 4(5):370-377.
- Aisyah, S.I., Aswidinnoor, H., Saefuddin, A., Marwoto, B., dan Sastrosumarjo, S. 2009. Induksi Mutasi pada Stek Pucuk Anyelir (*Dianthus caryophyllus* Linn) melalui Iradiasi Sinar Gamma. *Jurnal Agron Indonesia*. 37(1):62-70.
- Ajayi, Abiola, T., Akinlolu, O., Ohunakin, Oluwatoyin, S., Osekita, dan Opeyemi C.O. 2014. Influence of Colchicine Treatments on Character Expression and Yield Traits in Cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp). *Global Journal of Science Frontier Research Biological Science. Akungba-Akoko*. 1(4):14- 20.
- Alam, M.M., Karim, M.K., Aziz, M.A., Hossain, M.M., Ahmed, B., dan Mandal, A. 2011. Induction and evaluation of polyploidy in some local potato varieties of Bangladesh. *Journal Biodiversity Environ. Sci*. 2(1):16-2.
- Anggraini, E. 2009. Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD), suatu metode analisis DNA dalam menjelaskan berbagai fenomena biologi. *Biospecies*. 1(2):73-76.

- Anonymous. 2016. <http://www.gunungmadu.co.id>. Diakses pada tanggal 23 Maret 2021, Pukul 10.05 WIB.
- Avivi, S., Suliswanto, E.N., Restanto, D.P., Miswar., Syamsunihar, A., Soeparjono, S., dan Hartatik, S. 2019. Morfological Diversity and Molecular RAPD Markers of Sugarcane Mutane (*Saccharum officinarum* L.) in Inundation Tolerance. *Journal of Agricultural Science*. 41(2):221-229.
- Azizah, U.D.L., Yuliati, F., Adiredjo, A.L., dan Sitawati. Analisis kekerabatan plasma nutfah tanaman stroberi (*Fragaria* Sp) berdasarkan karakter morfologi dan Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD). *Plantropica Journal of Agricultural Science*. 4(1):77-85.
- Badan Pusat Statistik. 2021. Statistik Tebu Indonesia. Badan Pusat Statistik. Jakarta.
- Blackburn, F. 1984. *Sugarcane*. Longman Inc. New York.
- Chen, W.H., Tang, C.Y., and Kao, Y.L. 2009. *Ploidy doubling by in vitro culture of excised protocorms or protocorm-like bodies in Phalaenopsis species*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. Columbia University Press. New York.
- Cronquist, A. 1981. *An Intergrated System of Clasification of Flowering Plants*. Columbia University Press. New York.
- Damayanti, S.D., Purwantoro, A., dan Sulistyaningsih, E. 2012. *Analisis Kariotip Beberapa Kultivar Aglaonema*. UGM Press. Yogyakarta.
- Desy, A., Novi., Prayekti., Indriana, F., dan Yusuf. 2019. Efektivitas Penggunaan Metode Problem Based Instruction (PBI) Terhadap Ketuntasan Hasil Belajar Siswa. *Jurnal Pendidikan Matematika dan Matematika*. 3(1):35-41.
- Doyle, J.J., and Doyle, J.L. 1991. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *J. Focus*. 12(1):13-15.
- Fatchiyah, 2011. *Pelatihan analisis fingerprinting DNA tanaman dengan metode RAPD*. Modul. Laboratorium sentral ilmu hayati Universitas Brawijaya. Malang.
- Fitriyani, L. 2012. Pengelolaan Tanaman Tebu Jurusan Budidaya Tanaman Perkebunan, Politeknik Negeri Lampung. *Jurnal Agro Industri Perkebunan* 6(2):37-39.

- Gantait, S., Mandal, N., and Bhattacharyya, S. 2011. Induction and identification of tetraploids using in vitro colchicine treatment of *Gerbera jamesonii* Bolus cv. Sciella. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*. 106(2):485-493.
- Getaneh, A., Tadesse, F., and Ayele, N. 2015. Agronomisc performance evaluation of ten sugarcane varieties under Wonji-Shoa agro-climatic conditions. *Jurnal Agr. Sci.* 4(5):16-21.
- Grosberg., Richard K., Donald R., Levitan., and Brenda, B.C. 1996. *Characterization of genetic structure and genealogies using RAPD-pcr markers: a random primer for the novice and nervous*. Wiley-Liss, Inc. California.
- Grouh, M.S.H., Meftahizade, H., Lotfi, N., Rahimi, V., and Baniasadi, B. 2011. Doubling the chromosome number of *Salvia hains* using colchicine: Evaluation of morphological traits of recovered plants. *Journal of Medicinal Plants Research*. 5(19): 4892–4898.
- Gusmiaty, M., Restu., Asrianny, dan Larekeng, S.H. 2016. Polimorfisme Penanda RAPD untuk Analisis Keragaman Genetik *Pinus merkusii* di Hutan Pendidikan UNHAS. *Jurnal Nature Indonesia*. 16(2):3971-3855.
- Hamidah., H., Tsawab., dan Rosmanida. 2016. Analysis of *Hylocereus* spp. diversity based on phonetic method. *AIP Conf. Proc.* 1854: 1-8.
- Harahap, F. 2015. Induction of genetic variation of mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) by colchisin. *Dissertation*. Postgraduate School, Bogor Agricultural University. Bogor.
- Haris, N., Hajrial. A, Nurita. T.M, dan Agus. P. 2003. Kemiripan genetik klon karet (*Hevea brasiliensis* Muell Arg.) berdasarkan metode amplified fragment length polygrimorphisms (AFLP). *Menara Perkebunan* 71(1): 1-15.
- Hartati, D., Rimbawanto A., Taryono., Sulistyaningsih, E., dan Widyatmoko, A.Y.P.B.C. 2007. Pendugaan Keragaman Genetik di Dalam dan Antar Provenan Pulau (*Alstonia Scholaris* L.) Menggunakan Penanda RAPD. *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan*. 1(2):1-9.
- Hartati, R.R.S., Suhesti, S., Yunita, R., dan Syafaruddin. 2018. Induksi Mutasi Dengan Kolkisin dan Seleksi In Vitro Tebu Toleran Kekeringan Menggunakan Polyethylene Glycol. *Jurnal Littei*. 24(2):93-104.

- Herman., I. N. Malau, dan Roslim, D.I. 2013. Pengaruh Mutagen Kolkisin Pada Biji Kacang Hijau (*Vigna radiata* L.) Terhadap Jumlah Kromosom dan Pertumbuhan. *Prosiding Semnas BioETI*. 12 .
- Husain, I., Purwito, A., Husni, A., Mutaqin, K.H., dan Susanto, S. 2016. Evaluasi Keragaman Genetik Mutan Harapan Generasi MV1 Jeruk Keprok SoE (*Citrus reticulata* Blanco) Berdasarkan Penanda Morfologi dan ISSR. *Jurnal. Hort. Indonesia*. 7(2):102-110.
- Indhirawati, R., A. Purwantoro, P. Basunanda. 2015. Karakterisasi morfologi dan molekuler jagung berondong stroberi dan kuning (*Zea mays* L. Kelompok Everta). *Vegetalika*, 4(1):102-114.
- Indrawanto, C. 2010. *Budidaya dan Pasca Panen Tebu*. Eska Media. Jakarta.
- Indrawanto, C., Purwono, Siswanto., Syakir, M., dan Rumini, W. 2010. *Budi Daya dan Pasca-panen Tebu*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Perkebunan. Bogor.
- Jala, A. 2013. Colchicine and Duration Time on Survival Rate and Micropropagation of *Dionaea muscipula* Ellis. *African Journal of Plant Science*. 8(6):291-297.
- Kamukten, P.P., Saptadi, D., Basuki, N., dan Sugiharto, A.N. 2015. Identifikasi Perubahan Fenotif Pada Empat Galur Inbred Jagung Pakan (*Zea mays* L.) Akibat Induksi Kolkisin. *Jurnal Produksi Tanaman*. 1(1):10-15.
- Kamwean, P., Chaisan, T., Thobunluepop, P., Phumichai, C., and Bredemeir, M. 2017. Chaging of morphological Characteristic and Biomass Properties in *Pennisetum* grassland soil. *Journal Soil Science Society of America*. 68(2):1429-1436.
- Karsinah, S., Styobudi L., dan Aswidinior H. 2002. Keragaman Genetik Plasma Nutfah Jeruk Berdasarkan Analisis Penanda RAPD. *Jurnal Bioteknologi Pertanian*. 7(1):8-16.
- Kartikaningrum, S.N., Hermiati., dan Baihaki, A. 2010. Kekerabatan 13 genotip anggrek Subtribe Sarcanthinae berdasarkan karakter morfologi dan pola pita DNA. *Jurnal Hoortikultura*. 13(1):7-16.
- Kartina, N, B.P. Wibowo, Y. Widyastuti, I.A. Rumanti, dan Satoto. 2016. Korelasi dan sidik lintas karakter agronomi padi hibrida. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*. 21(2):76-83.

- Kawar P.G., Devarumath P.M., and Nerkar, Y. 2009. Use RAPD marker for assement of genetic diversity in sugarcane cultivars. *International Journal of Biotechnology*. 8(2):67-71.
- Khan, F.A., Khan, A., Azhar, F.M., and Rauf, S. 2009. Genetic diversity of *Saccharum officinarum* accessions in Pakistan as revealed by random amplified polymorphic DNA. *Journal of Genetics Molecular Research*. 8(4): 1376–1382.
- Komalasari, K. 2009. Pengaruh perbandingan volume darah dan lisis buffer serta kecepatan sentrifugasi terhadap kualitas produk DNA pada sapi Frensian Holstein (FH). *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor. 16-20.
- Kumar, V., Singh, P.K., Dudhane, A.S., De, D.K., and Satya, P. 2014. Anatomical and morphological characteristisc of nine jute genotypes. *Journal Crop Weed*. 10(2):334-339.
- Kurniawan, D. 2018. Kajian Nilai Kepadatan Tanah (Bulk Density) Dalam Alih Guna Lahan Dari Monokultur Tebu Menjadi Agroforestri Berbasis Sengon di Kedungkandang Malang. *Tesis*. Universitas Brawijaya. Malang.
- Kusuma, A. 2010. *Diskripsi Kultivar Tebu PS 864, PS 865, Kidang Kencana*. PT, Perkebunan Nusantara X. Surabaya.
- Lestari, E. G. 2013. Pembentukan galur unggul tanaman melalui peningkatan keragaman genetik dengan metode variasi somaklonal. *Pengembangan Inovasi Pertanian*. 6(2):54-61.
- Liu, J.J., Ekramoddoullah, A.K.M., Hunt, R., Zainal, A. 2006. Identification and characterization of RAPD markers linked to a major gene (Cr2) for resistant to *Cronartium ribicola* in *Pinus monticola*. *Phytopathol*. 96:395-399.
- Lubis, M.M., Mawarni, L., dan Husni, Y. 2015. Respon Pertumbuhan Tebu (*Saccharum officinarum* L.) Terhadap Pengolahan Tanah pada Dua Kondisi Drainase. *Jurnal Agroteknologi*. 3(1):214-220.
- Lynch, M., and Milligan. B.G. 1994. Analysis of populations genetic structure with RAPD markers. *Molecular Ecology*. 3(2):91-99.
- Mabhaudhi, T., and Modi, A.T. 2013. Preliminary assessment of genetic diversity in three taro (*Colocasia esculenta* (L.) Schott). Landraces using

- agromorphological and SSR DNA characterisation. *Journal of Agricultural Science and Technology*. 3(1):265-271.
- Maftuchah dan Zainuddin, A. 2013. *Studi Pendahuluan Variasi Genetik Jarak Pagar (Jatropha curcas L.) Lokal Berdasarkan Random Amplified Polymorphic DNA*. Pusat Pengembangan Bioteknologi Universitas Muhammadiyah Malang.
- Manish, D.S., Upma, D., Prashant, S., and Shailender, G. A. 2014. Assessment of genetic diversity among sugarcane cultivars using novel microsatellite markers. *African Journal of Biotechnol.* 13(13):1444–1451.
- Marpaung, D.R.A.K., Pasaribu and Athorick, T.A. 2013. Taxonomic Study of Pandanus (Pandanaceae) In Swamp Area, Aceh Singkil. *Jurnal Natural*. 13(2):101-107.
- Martin A.F., Hartati, N.S., Wulansari, A., Noorohmah, S., Aryaningrum, P.D., dan Witjaksono. 2014. *Manipulasi sel somatic dan transgenesis tanaman talas*. Prosiding Seminar Nasional Hasil Penelitian Unggulan Bidang Pangan Nabati. Bogor.
- Mastur. 2016. Physiological Responses of Sugarcane Plant to Drough. *Buletin Tanaman Tembakau, Serat dan Minyak Industri*. 8(2):98-111.
- Matsuyama. T., Watanabe ,M., Murota, Y., Nakata, N., Kitamura, H., Shimokawa, T., Ebisuzaki,T., Wada, S., Sato, S., and Tabata, S. 2020. Efficient mutation induction using heavy-ion beam irradiation and simple genomic screening with random primers in taro (*Colocasia esculenta* L. Schott). *Scientia Horticulturae*. 272(2): 109-168.
- Miguel, T.P., and Leonhart. K.W. 2011. In vitro polyploid induction of orchids using oryzalin. *Sci. Hort.* 130(1):314-319.
- Nayak, G. R., dan Rout, P. D. 2003. Evaluation of the genetic variability in bamboo using RAPD. *Plant Soil Environ.* 49(1):24-28.
- Neto, H.Z., Borsuk, M., Dos Santos, L.R.F., Angeli, H.S., and Berton. G.S. 2020. Genetic diversity and population structure of sugarcane (*Saccharum* spp.) accessions by means of microsatellites markers. *Journal of Acta Scientiarum Agronomy*. 4(2):1-10.
- Nusifera, S., Lestari, A.P., dan Alia, Y. 2014. Penampilan dan Parameter Genetik Beberapa Karakter Morfologi Agronomi Dari 26 Aksesori Padi (*Oryza* spp L.) Lokal Jambi. *Jurnal Penelitian Universitas Jambi. Seri Sains*. 16(2):50-56.

- Oeliem, T.M.H., Yahya, S., Sofia, D., dan Mahdi. 2009. *Perbaikan Genetik Kedelai Melalui Mutasi Induksi Sinar Gamma Untuk Menghasilkan Kultivar Unggul dan Tahan Terhadap Cekaman Kekeringan*. USU. Medan.
- Pandey., and Ram M. 2009. Genetic Divergence of Parents and F2 Segregation in Grain Amaranthus. *Cien. Inv. Agr.* 36(1):77-84.
- Prabawa, P.S., dan Purba, J.H. 2019. Identifikasi Perubahan Fenotif Padi Beras Hitam (*Oryza sativa* L.) var Cempo Ireng Hasil Perlakuan Kolkisin. *Agricultural Journal*. 2(1):1-7.
- Purnomo, Daryono, B.S., Rugayah. I., Sumardi, H., dan Shiwachi. 2012. Phenetic analysis and intraspecific classification of Indonesian water yam germplasm (*Dioscorea alata* L.) based on morphological characters. *SABRAO Journal Breed genetics*. 44(2):277-291.
- Rahayu, E. M. D., Sukma, D., Syukur, M., Aziz, S.A., dan Irawati. 2015. Induksi Poliploidisasi Menggunakan Kolkisin Secara In Vivo Pada Bibit Anggrek Bulan (*Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume). *Buletin Kebun Raya*. 18(1):41-48.
- Restu, M, Mukrimin dan Gusmiaty. 2012. Optimalisasi Teknik Ekstraksi dan Isolasi DNA Tanaman Sureh (*Toona sureni* Merr.) Untuk Analisis Keragaman Genetik Berdasarkan *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD). *Jurnal Natur Indonesia*. 14(2):138-142.
- Rohmah, A., Rahayu, T., dan Hayati, A. 2017. Influence of Colchicine Present toward Stomata Characters of Olive Leaf (*Olea europaea* L.). *Jurnal Ilmiah Bioscience Tropic*. 2(2):10-17.
- Runo, M. S., Muluvi, G. M., dan Odee, D. W. 2004. Analysis of genetic structure in *Melia volkensii* (Gurke.) populations using random amplified polymorphic DNA. *African Journal of Biotechnology*. 3(8):421-425.
- Sambrook, J., Fritsh, J.E.F., and Maniatis, T. 1989. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* 2nd Ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press. New York.
- Sambrook, J., and Russel, D.W. 1989. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. Cold-Spring Harbor Laboratory Pr. New York.
- Sarabhai., Motilal, N., Rajiv, B., Abdul., and Asha, M.K. 2016. Levels of diversity and population structure present in Banana cultivars distributed in various genome groups. *International Journal of Plant Breeding and Genetics*.3(2):177-188.

- Saraswati, D. R., Rahayu, T., dan Hayati, A. 2017. Kajian pemberian kolkisin dengan metode tetes terhadap profil poliploidi tanaman zaitun (*Olea Europaea*). *E- Jurnal Ilmiah Biosaintropis (Bioscience-Tropic)*. 2(2):24-29.
- Sarathum, S., Hegel, M., Tantiviwat., Nanokorn, M. 2010. Effect of Concentration and Duration of Colchicine Treatment on Polyploidy Induction in *Dendrobium scabrilingue* L. *Europ. Journal Hort. Science*. 75(3): 123-127.
- Sari, L., Purwito, A., Sopandie, D., Purmaningsih, R., dan Enny, S. 2015. Pengaruh Irradiasi Sinar Gamma pada Pertumbuhan Kalus dan Tunas Tanaman Gandum (*Triticum aestivum* L.). *Jurnal Ilmu Pertanian*. 1(1):44-50.
- Sari, N., Purnomo., B. S. Daryono., Suryadiantina., M. Setyowati. 2016. Variation and intraspecies classification of edible canna (*Canna indica* L.) based on morphological characters. *AIP. Conf. Proc.* 1744: 1-8.
- Sastrosumarjo, S. dan Syukur, M. 2013. *Perilaku kromosom*. Sitogenetika Tanaman. IPB Press. Bogor.
- Sastrosumarjo, S., Yudiwanti, S.I., Aisyah, S. Sujiprihati, M. Syukur, R., dan Yunianti. 2006. *Plant Cytogenetics Genetics and Plant Breeding Section*. Department of Agronomy and Horticulture. Bogor Agricultural Institute. Bogor.
- Sharma, R., Santosh, S., dan Sushil, K. 2018. pair-wise combinations of rapid primers for diversity analysis with reference to protein and single primer rapid in soybean. *Annals of Agrarian Science*. 16(1): 243-249.
- Shinta dan Minarno E. 2018. Induksi Poliploidi Tanaman Padi Hitam (*Oryza sativa* L.) Lokal Menggunakan Kolkisin. *Prosiding Seminar Sains dan Terapan Fakultas Sains dan Teknologi*. UIN Raden Fatah. Palembang.
- Shinta, dan Eko, B.M. 2018. Karakter Fenotipik Tanaman Padi Beras Hitam (*Oryza sativa* L.) Kultivar Wojalaka Hasil Induksi Dengan Kolkisin. *Seminar Nasional Sains dan Teknologi Terapan*. Malang.
- Simbolon, A. C., Bangun, M. K., dan Putri, L. A. P. 2017. Analisis Keragaman Genetik Klon Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) Berdasarkan 4 Marka RAPD (*Random Amplified Polymorphism DNA*). *Agroekoteknologi FP USU*. 5(3):564-592
- Singh, S., Sing, D.R., Faseela, F., Kumar, N., Damodaran, V., and Srivastava, R.C. 2012. Diversity of 21 taro (*Colocasia esculenta* (L.) Schott). Accessions of Andaman Islands. *Genet. Resour. Crop Evol.* 59(2):821-829.

- Sitepu, R., Irmeilyana., dan Gultom, B. 2011. Analisis Kluster Terhadap Tingkat Pencemaran Udara pada Sektor Industri Di Sumatera Selatan. *Jurnal Penelitian Sains*.14(3): 11-17.
- Sivakumar, G. 2017. *Upstream biomanufacturing of pharmaceutical colchicine. Critical Review in Biotechnology*. Houston. USA.
- Soetopo L dan Hosnia. 2018. In Vivo Polyploid-Induction by Colchicine on Orchids *Phalaenopsis pulcherrima* (Lindl.) J.J Smith. *Bioscience Research*. 15(2):941-949.
- Stammers M., Harris J., Evans G.M., and Hayward M.D.1995. Use of random PCR (RAPD) technology to analysis phylogenetic relationships in the *Lolium/Festuca* complex. *Heredity*. 74(1):19-27.
- Sudarka,W., Made M., I Gede W., dan Ni made, P. 2009. *Pemuliaan tanaman. Buku Ajar Program Studi Agronomi. Denpasar*. Fakultas Pertanian Universitas Udayana.
- Suhaimi, S. 2017. Influence of lead level (Pb) to stomatal density and chlorophyll content in glodokan (*Polyalthialongifolia*Sonn) as city shade in Langsa. *Journal of Islamic Science and Technology*.3(1):24-26.
- Suhartini, T. 2010. Keragaman karakter morfologis plasma nutfah spesies padi liar (*Oryza* spp.). *Buletin Plasma Nutfah*. 16(1):17-28.
- Suryo, 2009. *Sitogenetika*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Syaifudin, A., Ratnasari, E., dan Isnawati. 2013. Pengaruh Pemberian Berbagai Konsentrasi Kolkhisin terhadapPertumbuhan dan Produksi Tanaman Cabai (*Capsicum annum*) Kultivar Lado F1. *Lenterabio*. 2(2):1-5.
- Syukur, M., Sujiprihati, S., dan Yuniarti, R. 2015. *Teknik Pemuaian Tanaman*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Tabasum, S.F.A., Khan, S., Nawaz, M.Z., Iqbal and Saeed. 2010. A. DNA profiling of sugarcane genotypes using randomly amplified polymorphic DNA. *Genetics and Molecular Research*. 9(1):471-483.
- Tambaru, E. 2015. Identification of morphological and anatomical characteristics in the Unhas Tamalanrea Makassar campus area. *Journal of Natural and Environmental Science*.6(11):35-41.

- Ullah S.M.S., Hossain, A., Hossain, M., Barman, S., Hasan, M., dan Sohag, S. H.. 2013. Genetic diversity analysis of chewing sugarcane (*Saccharum spp.*) varieties by using RAPD markers. *Journal BioSci. Biotech.* 2(2):145-150.
- Usman, H., dan Sobari, N. 2011. *Aplikasi Teknik Multivariate Untuk Riset Pemasaran*. Kharisma Putra Utama Offset. Jakarta.
- Vanous, A.E. 2011. *Optimization of Doubled Haploid Production in Maize (Zea mays L.)*. Iowa State University. Amerika Serikat.
- Wiantana, I. M. A. 2014. Induksi Variasi Cabai Merah (*Capsicum annum L.*) dengan Ethyl Methanesulfonate pada Berbagai Tingkat Waktu Perendaman. *Tesis*. Fakultas Ilmu Biologi. Universitas Udayana. Denpasar.
- Wistiani, dan Jami, L. A. 2014. Induksi Mutasi Kromosom Dengan Kolkisin Pada Tanaman Kesuna Bali (*Allium sativum Linn.*) Dan Analisis DNA Dengan Marka RAPD. Program Pascasarjana. Universitas Udayana. *Tesis*.
- Yuniyati, N., Trikoesoemaningtyas., dan Suhesti, S. 2021. Pengaruh Kolkisin Terhadap Ukuran Genom dan Karakter Agronomi Serta Hubungannya Dengan Produksi Mutan Putatif Tebu. *Jurnal Littri.* 27(1):22-33.
- Yunus, A., Parjanto, Samanhudi, Hikam, M.P., Widyastuti. 2018. Polypliod Response of *Artemisa annua L.* to Colchicine Treatment. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science.* 14(1):1-7.
- Yuwono, T. 2008. *Biologi Molekuler*. Erlangga. Jakarta.