

**PENGARUH INDUKSI KOLKISIN PADA TEBU (*Saccharum officinarum*  
L.) MUTAN VARIETAS GM186 DAN GM1183 BERDASARKAN  
KARAKTER STOMATA, KADAR KLOOROFIL, DAN MOLEKULER DI  
PT GUNUNG MADU PLANTATIONS**

**(Skripsi)**

**Oleh**

**ARYAN YUHANDI PUTERA**

**1917061010**



**JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
2022**

## ABSTRAK

### **PENGARUH INDUKSI KOLKISIN PADA TEBU (*Saccharum officinarum* L.) MUTAN VARIETAS GM186 DAN GM1183 BERDASARKAN KARAKTER STOMATA, KADAR KLOOROFIL, DAN MOLEKULER DI PT GUNUNG MADU PLANTATIONS**

Oleh

**ARYAN YUHANDI PUTERA**

Tebu (*Saccharum officinarum* L.) merupakan salah satu tanaman perkebunan penghasil gula. Upaya dalam meningkatkan produktivitas tebu dapat dilakukan melalui perakitan varietas unggul yang memiliki kemampuan adaptasi di berbagai kondisi lingkungan. Salah satu teknik pemuliaan tebu melalui perakitan varietas unggul dapat dilakukan dengan induksi mutagen kolkisin. Rancangan yang digunakan yaitu RAL dua faktor yaitu pemberian konsentrasi kolkisin (0,1 ppm ; 0,5 ppm; 1 ppm) dan lama genangan kolkisin selama 1 dan 2 hari dengan 4 ulangan sampel pada varietas tebu mutan GM186 dan GM1183. Variabel pengamatan dilakukan pada 5 parameter yaitu luas stomata, kerapatan stomata, jumlah stomata, indeks stomata, dan kadar klorofil. Analisis molekuler untuk mengetahui pengaruh induksi kolkisin terhadap tanaman dan tingkat keragaman genetik. Data yang diperoleh dianalisis dengan Analisis Variansi Multivariat (MANOVA) pada tingkat kepercayaan 95%. Jika berbeda nyata, dilanjutkan dengan uji LSD 5%. Analisis kluster menggunakan *software* MSVP dengan metode *Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Average* (UPGMA) untuk mengelompokkan aksesori berdasarkan kemiripan karakter genotip. Hasil penelitian menunjukkan induksi kolkisin tebu mutan unggul varietas GM186 dan GM1183 dengan konsentrasi berbeda memberikan pengaruh signifikan yang bervariasi pada indeks stomata, lebar bukaan stomata, kerapatan stomata, dan luas stomata. Selain itu, meningkatkan kadar klorofil secara konsisten, terdapat variasi genetik antara kontrol dengan mutan yang berkorelasi terhadap peningkatan tinggi batang dan jumlah daun hijau.

**Kata kunci:** Tebu, Kolkisin, Karakter Stomata, Kadar Klorofil, Molekuler

**PENGARUH INDUKSI KOLKISIN PADA TEBU (*Saccharum officinarum*  
L.) MUTAN VARIETAS GM186 DAN GM1183 BERDASARKAN  
KARAKTER STOMATA, KADAR KLOOROFIL, DAN MOLEKULER DI  
PT GUNUNG MADU PLANTATIONS**

**Oleh**

**ARYAN YUHANDI PUTERA**

**Skripsi**

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar**

**SARJANA SAINS**

**Pada**

**Jurusan biologi**

**Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung**



**JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
2022**

Judul Skripsi : **PENGARUH INDUKSI KOLKISIN PADA TEBU (*Saccharum officinarum* L.) MUTAN VARIETAS GM186 DAN GM1183 BERDASARKAN KARAKTER STOMATA, KADAR KLOOROFIL, DAN MOLEKULER DI PT GUNUNG MADU PLANTATIONS**

Nama Mahasiswa : **Aryan Yuhandi Putera**  
NPM : 1917061010  
Program Studi : **S1 Biologi Terapan**  
Jurusan : **Biologi**  
Fakultas : **Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



Pembimbing Utama

Pembimbing Kedua

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

**Endah Susiyanti, S.P., M.P.**  
NIP.4752

2. Mengetahui,

Ketua Jurusan Biologi FMIPA

Ketua Program Studi  
S1 Biologi Terapan

**Dr. Jani Master, S.Si., M.Si.**  
NIP. 198301312008121001

**Dr. Endang Nurcahyani, M.Si.**  
NIP. 196510311992032003

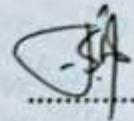
**MENGESAHKAN**

**1. Tim Penguji**

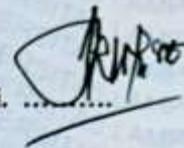
**Ketua : Dr. Mahfut, S.Si., M.Sc.**



**Sekretaris : Endah Susiyanti, S.P., M.P.**



**Penguji  
Bukan Pembimbing : Dr. Sri Wahyuningsih, S.Si., M. Si.**



**2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



**Dr. Eng. Suripto Dwi Yuwono, M.T.**  
NIP. 197407052000031001

**Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 19 Desember 2022**

## SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Aryan Yuhandi Putera

NPM : 1917061010

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 hasil plagiat karya orang lain.

Demikian pernyataan ini saya buat dan dapat dipertanggungjawabkan. Apabila di kemudian hari terdapat kecurangan dalam karya ilmiah ini, maka saya siap<sup>3</sup> mempertanggungjawabkannya.

Bandar Lampung, 14 Desember 2022

Yang menyatakan,



**Aryan Yuhandi Putera**  
NPM. 1917061010

## RIWAYAT HIDUP



**Aryan Yuhandi Putera**, atau akrab disapa aa, lahir di kota Bandung, 14 Maret 2001. Penulis merupakan anak pertama dari satu bersaudara pasangan Bapak Yudhi Yuhandi dan Ibu Tina Maryana.

Penulis menempuh pendidikan pertamanya di TK Islam Al Ikhlas pada tahun 2006 dan melanjutkan pendidikan dasar di Muhammadiyah 3 Bandung tahun 2007-2013 dan melanjutkan jenjang pendidikannya di SMP Muhammadiyah 2 Bandung dan selesai pada tahun 2016. Penulis melanjutkan jenjang pendidikannya di SMAN 13 Bandung tahun 2016-2019. Setelah itu penulis diterima sebagai mahasiswa Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN) angkatan 2019.

Selama menjadi mahasiswa, penulis pernah menjadi asisten pada mata kuliah Biologi Sel, Genetika, Bahasa Inggris, Biokonservasi, Teknik Kultur Jaringan Tumbuhan, dan Teknik Biomolekuler Biologi FMIPA Unila. Selain itu, penulis juga aktif mengikuti organisasi seperti Himpunan Mahasiswa Biologi (HIMBIO) sebagai Koordinator Olimpiade PKSDA XXV dan Anggota Saintek, Paduan Suara Mahasiswa Universitas Lampung sebagai Anggota Biasa, sebagai anggota kelompok SADINA di *Indonesian Millennial Of Change*, dan Talent dari DMC Project dan Manajement.

Selama menjadi mahasiswa, penulis menerima beasiswa Riza Perdana Kusuma, dana hibah Program Wirausaha Mahasiswa (PWM) periode 2020 dan 2021,

Beasiswa Bintang Mandiri 2022, dan Pertukaran Pelajar Internasional di The 4<sup>th</sup> *International Summer Course on Tropical Biodiversity and Sustainable Development*, KOBID Indonesia. Universitas Lampung. Penulis melaksanakan Praktik Kerja Lapangan (PKL) di Laboratorium Patologi Klinik, Rumah Sakit Dr. H. Abdul Moeloek, Bandar Lampung pada bulan Januari-Februari 2022 dengan judul **“Deteksi dan Analisis Pola Kepekaan Antibiotik Pada Bakteri *Escherichia coli* Penghasil ESBL dari Sampel Pasien di RSUD Dr. H. Abdul Moeloek”** dan melakukan penelitian mengenai **“Pengaruh Induksi Kolkisin Pada Tebu (*Saccharum officinarum* L.) Mutan Varietas GM186 dan GM1183 Berdasarkan Karakter Stomata, Kadar Klorofil, dan Molekuler di PT Gunung Madu Plantations”** serta melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Kemiling Permai, Kec. Kemiling, Kota Bandar Lampung, Lampung, pada Juni – Agustus 2021

## **PERSEMBAHAN**

Dengan mengucap syukur kehadiran Allah SWT yang maha kuasa, saya persembahkan karya kecil ini dengan kesungguhan hati sebagai tanda cinta kepada:

Dua orang yang paling berharga bagi hidup saya, Bapak Yudi Yuhandi dan Ibu Tina Mariana. Serta Bunda Yuningsih, Uwa Rumiati, dan Yayat Sumiati yang telah memberikan kasih sayang, dukungan, motivasi, seerta melindungi saya dengan do'a yang ibu dan bapak panjatkan setiap saat hingga langkah saya selalu di ringankan dan dimudahkan hingga saat ini;

Dosen-dosen yang telah menjadi orang tua kedua di kampus yang tak bosan memberikan dan mengajarkan saya ilmu serta bimbingan dengan tulus dan ikhlas hingga saya berhasil mengantungi gelar sarjana;

Sahabat dan teman-teman Biologi 19 yang telah berjuang bersama dari awal menjadi mahasiswa baru, mengalami pengkaderan bersama sampai saat ini dan seterusnya yang selalu memberi mendukung serta pelajaran dalam setiap perjalanan hidup saya di bangku perkuliahan;

Almamater tercinta yang menjadi kebanggan saya dimanapun saya berada,

Universitas Lampung

## **MOTTO**

**“Mengembara di kehidupan yang berputar”**

**(Chairil Anwar)**

**“Aku tidak akan menarik kembali kata-kataku, karena itulah jalan  
ninjaku (hidupku)”**

**(Naruto Shippuden)**

**“Hidup Seperti Larry”**

**(Patrick)**

**Penderitaan membuatku semakin kuat dan berkembang.**

**(Penulis)**

**Waktu tidak akan berhenti namun hidupmu akan berhenti demikian  
hargailah setiap waktu dan setiap saat momenmu berjalan**

**(Penulis)**

## SANWACANA

*Assalamu'alaikum warahmatullahi wabarakatuh*

Puji syukur saya haturkan ke hadirat Allah azza wajalla yang telah melimpahkan nikmat, rahmat, hidayah, serta pertolongan-Nya kepada penulis sehingga mampu menyelesaikan skripsi ini yang berjudul **“Pengaruh Induksi Kolkisin Pada Tebu (*Saccharum Officinarum* L.) Mutan Varietas GM186 Dan GM1183 Berdasarkan Karakter Stomata, Kadar Klorofil, dan Molekuler Di PT Gunung Madu Plantations”** dibuat sebagai bentuk pertanggungjawaban penulis selama menempuh pendidikan S1 dan merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si.) di Universitas Lampung.

Penulis menyadari dengan sepenuh hati karena berkat ridho Allah SWT yang diiringi dengan doa dan usaha, penulis dapat menyelesaikan penelitian yang telah dilakukan. Penulis juga menyadari bahwa selama proses penulisan skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Proses penyusunan skripsi ini tentu tidak luput dari pengarahan, kritik, saran, dukungan, serta bimbingan dari berbagai pihak sehingga dapat terselesaikan pada waktu yang tepat. Dalam kesempatan ini, penulis menyampaikan rasa hormat dan ucapan terima kasih kepada:

- 1 Kedua orang tua, Bapak Yudhi dan Ibu Tina, Bunda Yuni, Uwa Rumiwati, Yayat Sumiati, Tomy Setiaji, dan Uwa Inyong yang senantiasa memberikan dukungan, semangat, motivasi, serta do'a yang tulus, ikhlas, dan tak pernah putus di setiap sujud sehingga menemani perjalanan hidup penulis hingga saat ini;
- 2 Bapak Dr. Mahfut, S.Si., M.Sc., selaku Pembimbing I atas waktu dan tenaganya yang telah sabar memberikan bimbingan, arahan, serta masukan kepada penulis dalam proses penelitian dan penyusunan skripsi ini;

- 3 Ibu Endah Susiyanti, S.P., M.P. selaku Pembimbing II yang telah memberikan arahan, masukan, kritik, dan saran kepada penulis selama melaksanakan penelitian di PT. Gunung Madu Plantations dan penyusunan skripsi ini;
- 4 Ibu Dr. Sri Wahyuningsih, M.Si., selaku Pembahas yang telah memberikan masukan, kritik, saran, kepada penulis demi kesempurnaan dalam penelitian maupun penyusunan skripsi ini, serta Ibu yang memberi berbagai macam motivasi dan pembelajaran hidup;
- 5 Ibu Endang Linirin W., Ph.D. selaku dosen pembimbing akademik yang senantiasa memberikan saran dan bimbingan selama penulis mengemban pendidikan di bangku perkuliahan;
- 6 Seluruh Dosen Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung yang telah memberikan ilmu yang bermanfaat di bangku perkuliahan dan mengantarkan saya mencapai gelar sarjana;
- 7 Bapak Dr. Jani Master, S.Si., M.Si., selaku ketua jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung;
- 8 Bapak Dr. Eng. Suropto Dwi Yuwono, M.T., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
- 9 Bapak. Dr. Mohammad Sofwan Effendi, M.Ed. selaku Rektor Universitas Lampung.
- 10 Bapak Alhuda Niftakul Ahyar, S.Si., Mba Tika, dan Yohana yang telah membantu, memberi saran, masukan, kritik, dan motivasi kepada penulis selama melaksanakan penelitian di PT. Gunung Madu Plantations.
- 11 PT. Gunung Madu Plantations yang telah memberikan kesempatan penelitian kepada penulis.
- 12 David Asadudin, Imron Mawardi, Maulidya, Octary Permata, dan Denada Iqlima selaku rekan seperjuangan selama menjalankan penelitian yang telah membantu, mendukung, memberikan motivasi, berbagi keluh-kesah, dan menghibur penulis;
- 13 Karyawan dan teman-teman Laboratorium PCR, serta Lapangan yang telah banyak membantu dan berbagi cerita selama penelitian di PT. Gunung Madu Plantations (GMP).

- 14 Teman-teman KKN Kemiling Permai (Al fina sipaling FKIP, Vira Sipaling Jompo, Kak jessie j., Kidap Supermen, Hei Tayo, Wahyu yang diturunkan, dan Lola eksploler) atas kebersamaan dan pengalaman ketika terjun ke masyarakat;
- 15 Teman-teman seperjuangan Biologi Angkatan 2019 yang namanya tidak bisa disebutkan satu per satu, terima kasih untuk rasa kekeluargaan yang terjalin selama ini;
- 16 Orang-orang yang tidak bisa disebutkan namanya, yang telah memberikan pengalaman dan pelajaran hidup serta memotivasi penulis untuk menjadi pribadi yang lebih baik lagi di masa depan;
- 17 Almamaterku, Universitas Lampung.

Semoga Allah SWT senantiasa memberikan rahmat, kasih sayang, dan kebahagiaan kepada semua yang telah membantu penulis menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi ini. Penulis menyadari bahwa ini jauh dari kata sempurna, namun penulis berharap semoga skripsi ini dapat berguna dan bermanfaat bagi pembaca. Akhirnya, dengan mengucapkan Alhamdulillah, penulis dapat menyelesaikan skripsi pada waktu yang tepat.

Bandar Lampung, Desember 2022  
Penulis,

**Aryan Yuhandi Putera**

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
<b>SAMPUL DEPAN .....</b>	<b>i</b>
<b>ABSTRAK.....</b>	<b>ii</b>
<b>HALAMAN JUDUL DALAM .....</b>	<b>iii</b>
<b>HALAMAN PERSETUJUAN.....</b>	<b>iv</b>
<b>SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI.....</b>	<b>vi</b>
<b>RIWAYAT HIDUP .....</b>	<b>vii</b>
<b>PERSEMBAHAN.....</b>	<b>ix</b>
<b>MOTTO.....</b>	<b>x</b>
<b>SANWACANA.....</b>	<b>xii</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>xiv</b>
<b>DAFTAR TABEL.....</b>	<b>xvi</b>
<b>DAFTAR GAMBAR .....</b>	<b>xvii</b>
<b>I. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Tujuan.....	3
1.3 Manfaat.....	4
1.4 Kerangka Teori.....	4
1.5 Hipotesis .....	5
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>6</b>
2.1 Tebu ( <i>Saccharum officinarum</i> L.) .....	6
2.1.1 Klasifikasi .....	6
2.1.2 Morfologi.....	6
2.1.3 Habitat.....	8
2.2 Varietas Tebu.....	8
2.2.1 Varietas GM1183 .....	8
2.2.2 Varietas GM186 .....	9
2.3 Kolkisin .....	9

2.4 Karakter Stomata .....	10
2.5 Kadar Klorofil .....	12
2.6 Penanda Molekuler .....	13
2.7 <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR) .....	14
2.8 <i>Random Amplified Polymorphic</i> (RAPD) .....	15
<b>III. METODE PENELITIAN .....</b>	<b>17</b>
3.1 Waktu dan Tempat .....	17
3.2 Alat dan Bahan .....	17
3.3 Rancangan Penelitian .....	18
3.4 Bagan Alir Penelitian .....	20
3.5 Pelaksanaan Kegiatan.....	21
3.5.1 Preparasi Sampel .....	21
3.5.2 Karakter Stomata .....	22
3.5.3 Kadar Klorofil.....	23
3.5.4 Karakter Molekuler.....	23
3.5.4.1 Isolasi DNA .....	23
3.5.4.2 Uji Kuantitatif DNA .....	24
3.5.4.3 Amplifikasi DNA Tebu dengan Marka RAPD .....	25
3.5.4.4 Uji Kualitatif DNA .....	25
3.6 Analisis Data .....	26
<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>28</b>
4.1. Hasil .....	28
4.1.1 Karakter Stomata.....	28
4.1.2 Kadar Klorofil .....	34
4.1.3 Karakter Molekuler .....	36
4.2. Pembahasan.....	43
<b>V. KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>49</b>
5.1 Kesimpulan.....	49
5.2 Saran.....	50
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>51</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>56</b>

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
1. Jenis Primer RAPD .....	18
2. Rancangan Acak Lengkap.....	19
3. Tahapan PCR dengan Marka RAPD.....	25
4. Nilai Uji LSD taraf 5% pada karakter stomata varietas GM186 .....	30
5. Nilai Uji LSD taraf 5% pada karakter stomata varietas GM1183 .....	33
6. Nilai uji LSD taraf 5% pada kadar klorofil varietas GM186.....	34
7. Nilai uji LSD taraf 5% pada kadar klorofil varietas GM1183.....	35
8. Nilai PIC primer RAPD dari varietas GM186 dan GM1183 .....	40
9. Hasil uji MANOVA taraf 5% Varietas GM186.....	60
10. Hasil uji MANOVA taraf 5% Varietas GM1183.....	61
11. Uji korelasi karakter stomata dan kadar klorofil GM186 .....	62
12. Uji korelasi karakter stomata dan kadar klorofil dengan morfolgi GM186....	62
13. Uji korelasi karakter stomata dan kadar klorofil GM1183 .....	62
14. Uji korelasi karakter stomata dan kadar klorofil dengan morfologi GM1183	63
15. Karakter morfolgi mutan unggul GM186 dan GM1183 .....	63
16. Uji Manova karakter stomata dan klorofil GM186 antar kontrol .....	64
17. Uji Manova karakter stomata dan klorofil GM1183 antar kontrol .....	64
18. Hasil Kemurnian Ekstraksi DNA GM186 .....	65
19. Hasil Kemurnian Ekstraksi DNA GM1183 .....	66
20. Indeks similaritas tebu mutan varietas GM186.....	69
21. Indeks similaritas tebu mutan varietas GM1183.....	70
22. Inventaris tebu mutan unggul GM186 dan GM1183 .....	71

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar</b>	<b>Halaman</b>
1. Morfologi tebu .....	7
2. Struktur kimia kolkisin .....	9
3. Tata Letak Satuan Percobaan .....	19
4. Bagan Alir Penelitian .....	21
5. Karakter stomata tebu mutan varietas GM186.....	29
6. Karakter stomata tebu mutan varietas GM1183.....	32
7. Profil fragmen RAPD hasil amplifikasi DNA tebu mutan varietas GM186.....	37
8. Profil fragmen RAPD hasil amplifikasi DNA tebu mutan varietas GM1183... ..	39
9. Hubungan kekerabatan tebu mutan varietas GM186 dengan kontrol.....	41
10. Hubungan kekerabatan tebu mutan varietas GM1183 dengan kontrol.....	42
11. Hasil pengamatan stomata tebu mutan varietas GM186 dan GM1183.....	57
12. Tebu mutan unggul varietas GM186 dan GM1183 berdasarkan karakter stomata, kadar klorofil, dan molekuler .....	59
14. Dokumentasi Penelitian .....	73

## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Tebu (*Saccharum officinarum* L.) merupakan tanaman perkebunan yang digunakan dalam industri gula. Kegiatan memproduksi gula nasional menjadi prioritas pemerintah untuk mencukupi kebutuhan konsumsi gula dalam negeri sebagai peningkatan pertumbuhan penduduk (Saputra, 2020). Selain itu, produksi gula nasional memiliki permasalahan pada produktivitas tebu yang belum optimal.

Berdasarkan data *Food and Agriculture Organization* (FAO) (2020), total produktivitas tebu di Indonesia pada 2018 adalah 21,74 juta ton. Jumlah ini lebih rendah dibandingkan negara lain seperti Brazil 746,83 juta ton, India 376,9 juta ton, Cina 108,72 juta ton, dan Thailand 104,36 juta ton. Hal ini disebabkan oleh faktor kesuburan tanah, sistem irigasi (Saputri dan Respatiadi, 2018). Selain itu, belum ditemukan varietas tebu unggul yang mampu meningkatkan produktivitas gula.

Upaya dalam meningkatkan produktivitas tebu dapat dilakukan melalui perakitan varietas unggul yang memiliki kemampuan adaptasi di berbagai kondisi lingkungan (Nurchaya dkk., 2021). Ketersediaan varietas unggul tebu yang memiliki tingkat pertumbuhan yang baik, ketahanan terhadap infeksi hama dan penyakit, serta rendemen gula yang tinggi akan mendukung peningkatan produktivitas gula (Pratama dkk., 2020).

Salah satu teknik pemuliaan tebu melalui perakitan varietas unggul dapat dilakukan dengan induksi mutagen kolkisin. Senyawa ini berperan dalam proses pembelahan mitosis yang menghambat penyusunan mikrotubula benang spindel (Pradana dan Sri, 2019).

Beberapa penelitian terkait pembentukan tanaman poliploidi hasil induksi kolkisin sudah dilakukan pada anggur merah (Ginting dkk., 2021), ciplukan (Pratama dkk., 2020), anggrek bulan (Rahayu dkk., 2015), dan Talas (Ermayanti dkk., 2018). Penggunaan kolkisin pada tanaman ciplukan (*Phisalis angulata* L.) menghasilkan penggandaan jumlah kromosom poliploid sehingga ukuran sel bertambah. Penambahan ukuran sel menghasilkan organ yang berukuran lebih besar seperti penambahan diameter buah, akar, daun, dan bunga. Tidak hanya secara morfologi tanaman saja, bahkan secara stomata terjadi pembesaran organel seperti stomata, kromosom yang mengalami poliploidi, dan kadar klorofil yang tinggi ditandai dengan warna daun yang lebih hijau (Pratama dkk., 2020).

Ariesta dkk. (2019) melakukan penelitian dalam mengetahui keragaman genetik menggunakan penanda molekuler *Random Amplified Polymorphic* (RAPD) pada 22 varietas tebu unggul Indonesia. Hasil hubungan kekerabatan berkisar 59,6 - 70,2% dan varietas tebu yang unggul adalah varietas Kentung, PS 80,910, BZ 132 yang berasal dari Balai Penelitian Tanaman Pemanis dan Serat (BALITTAS) Malang serta varietas VMC 76-16 dan TLH 2 yang berasal dari PG. Madukismo Yogyakarta.

PT Gunung Madu Plantations (PT GMP) merupakan pelopor perusahaan industri gula di luar Jawa yang berada di Provinsi Lampung. PT GMP sudah melakukan pengembangan varietas tebu unggul GM186 dan GM1183 yang diinduksi mutagen kolkisin. Tetapi sejauh ini, identifikasi varietas tersebut hanya dilakukan berdasarkan karakter morfologi agronomis dan belum dilakukan identifikasi berdasarkan karakter stomata, kadar klorofil, dan molekuler. Simamora (2021) melaporkan bahwa hasil induksi mutagen kolkisin dapat meningkatkan karakter agronomis yaitu tinggi tanaman, jumlah

daun, dan luas daun. Peningkatan karakter morfologi tersebut menunjukkan hasil yang lebih signifikan pada varietas GM1183 dari pada GM186.

Berdasarkan hal tersebut perlu dilakukan penelitian “Pengaruh Induksi Kolkisin Pada Tebu (*Saccharum officinarum* L.) Mutan Varietas GM186 dan GM1183 Berdasarkan Karakter Stomata, Kadar klorofil dan Molekuler”. Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai acuan dalam pemuliaan dan pemilihan varietas tebu unggul dengan menjaga keanekaragaman genetik yang tinggi dalam sebuah populasi. Penelitian ini juga dapat digunakan untuk meningkatkan produktivitas tebu dan meningkatkan swasembada gula di Indonesia.

## 1.2 Tujuan

Adapun tujuan dilakukannya penelitian ini sebagai berikut:

1. Menganalisis pengaruh induksi kolkisin pada tebu (*Saccharum officinarum* L.) mutan varietas GM186 dan GM1183 berdasarkan karakter stomata, kadar klorofil dan molekuler.
2. Mengevaluasi pengaruh induksi kolkisin pada tebu (*Saccharum officinarum* L.) mutan varietas GM186 dan GM1183 berdasarkan karakter stomata, kadar klorofil dan molekuler terhadap karakter morfologi.
3. Memperoleh tebu (*Saccharum officinarum* L.) mutan unggul hasil induksi kolkisin pada varietas GM186 dan GM1183.

### 1.3 Manfaat

Adapun manfaat dilakukannya penelitian ini yaitu memberikan informasi mengenai pengaruh induksi kolkisin pada tebu (*Saccharum officinarum* L.) mutan varietas GM186 dan GM1183 berdasarkan karakter stomata, kadar klorofil dan molekuler.

### 1.4 Kerangka Teori

Tebu (*Saccharum officinarum* L.) merupakan tanaman yang digunakan dalam bahan pokok pembuatan gula di dunia. Produktivitas gula dalam beberapa tahun terakhir mengalami penurunan yang diakibatkan faktor kesuburan tanah, sistem irigasi, dan perubahan iklim sehingga menyebabkan produktivitas yang rendah sangat berkaitan dengan produktivitas tebu belum optimal. Upaya dalam meningkatkan produktivitas tebu dapat melalui perakitan varietas unggul yang memiliki potensi beradaptasi pada kondisi lingkungan, infeksi penyakit, dan meningkatkan rendemen gula. Salah satu teknik perakitan varietas unggul dengan induksi mutagen kolkisin yang mampu memperbaiki sifat tanaman, meningkatkan ukuran sel genom, dan meningkatkan karakter secara sitologi dan morfologi. Dalam ranah industri, PT Gunung Madu Plantations (GMP) merupakan salah satu pemasok penghasil gula nasional di Indonesia. Tebu mutan varietas GM186 dan GM1183 merupakan varietas yang dikembangkan oleh PT Gunung Madu Plantation dalam upaya meningkatkan produktivitas tebu dilakukan pemuliaan tanaman dengan induksi kolkisin. Konsentrasi induksi kolkisin yang digunakan adalah 0 ppm, 0,1 ppm, 0,5 ppm, dan 1 ppm dengan lama genangan 1 hari dan 2 hari dan masing-masing perlakuan dilakukan dengan empat kali pengulangan. Sejauh ini, pengamatan varietas tersebut hanya dilakukan berdasarkan karakter morfologi dan belum dilakukan pengamatan berdasarkan karakter stomata, kadar klorofil, dan molekuler dalam pemilihan varietas unggul. Pengamatan karakter stomata untuk mengetahui perubahan bentuk stomata dan ukuran stomata hasil induksi kolkisin yang berkaitan

dengan proses fotosintesis dalam memproduksi bahan asimilat yang digunakan untuk pertumbuhan tebu dilanjutkan pengamatan kadar klorofil untuk mengetahui kadar klorofil pada tebu hasil induksi kolkisin yang berkaitan dengan bahan komponen dalam proses fotosintesis. Pengamatan molekuler dilakukan untuk mengetahui variasi genetik pada tebu hasil induksi kolkisin. Dengan demikian, harapan dari penelitian ini dapat memperoleh varietas tebu yang unggul berdasarkan karakter stomata, kadar klorofil, dan molekuler yang berkorelasi dengan karakter morfologi dalam upaya meningkatkan produktivitas gula di PT Gunung Madu Plantations.

### **1.5 Hipotesis**

Adapun hipotesis dilakukannya penelitian ini sebagai berikut:

1. Pengaruh induksi kolkisin pada tebu (*Saccharum officinarum* L.) mutan varietas GM186 dan GM1183 menunjukkan peningkatan karakter stomata, kadar klorofil, dan molekuler.
2. Pengaruh induksi kolkisin pada tebu (*Saccharum officinarum* L.) mutan varietas GM186 dan GM1183 berkorelasi dengan tinggi batang.
3. Analisis induksi kolkisin pada tebu (*Saccharum officinarum* L.) mutan varietas GM186 dan GM1183 berpotensi menghasilkan mutan unggul secara karakter stomata, kadar klorofil, dan molekuler.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tebu (*Saccharum officinarum* L.)

#### 2.1.1 Klasifikasi

Tebu (*Saccharum officinarum* L.) termasuk ke dalam famili Poaceae yaitu kelompok rumput-rumputan. Adapun klasifikasi tebu menurut Cronquist (1988) sebagai berikut:

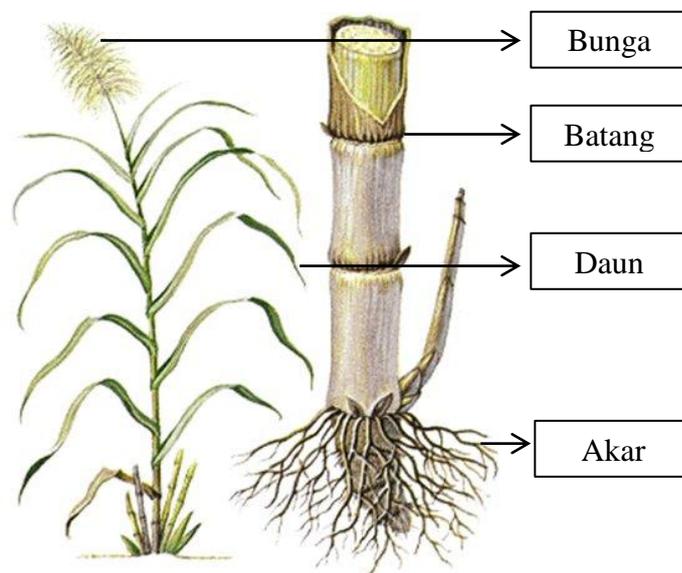
Kingdom	: Plantae
Divisio	: Magnoliophyta
Classis	: Liliopsida
Ordo	: Poales
Familia	: Poaceae
Genus	: <i>Saccharum</i>
Species	: <i>Saccharum officinarum</i> L.

#### 2.1.2 Morfologi

Tebu merupakan tanaman monokotil yang mempunyai batang berbentuk lurus, tidak bercabang, beruas-ruas dan berbuku-buku. Pada setiap buku terdapat mata tunas dan cincin bakal akar. Batang tebu memiliki diameter sekitar 3-5 cm. Sedangkan daun tebu memiliki tulang sejajar yang

menempel pada ruas-ruas batang dan helaiannya berbentuk pita. Pelepah daun tebu tersusun berselang seling pada ruas untuk menutupi mata tunas muda sedangkan pelepahnya menempel pada buku-buku batang. Daun tebu memiliki panjang sekitar 1m dan lebar 5-7 cm (Indriwanto dkk., 2010).

Tebu merupakan tanaman monokotil yang mempunyai akar serabut yang tersusun oleh akar stek dan tunas. Akar stek berasal dari cincin akar yang terdapat pada stek batang dan berfungsi untuk transportasi air dan nutrisi dalam tebu. Sedangkan akar tunas berasal dari akar yang terbentuk setelah akar stek mati dan berfungsi untuk menyangga tumbuhnya batang (Hapsoro, 2019). Berdasarkan hal tersebut, setiap tebu memiliki batang, akar, dan daun yang berbeda-beda tergantung dengan jenis varietas dan kondisi lingkungan yang memengaruhi pertumbuhan (Indriwanto dkk., 2010). Secara lengkap morfologi tebu ditampilkan pada Gambar 1.



**Gambar 1.** Morfologi tebu (Alfarisy, 2019)

### 2.1.3 Habitat

Tebu tumbuh pada kondisi tanah yang tidak terlalu kering dan basah. Jenis tanah yang baik untuk pertumbuhan tebu yaitu alluvial, grumosol, latosol dan regusol dengan ketinggian antara 0 – 1400 mdpl dan memiliki pH 6 – 7,5, tetapi masih toleran pada pH < 8,5 atau > 4,5. Selain itu, tebu dapat hidup pada lahan marginal yang mempunyai curah hujan antara 1.000 – 1.300 mm per tahun dengan sekurang-kurangnya 3 bulan kering dan suhu optimal 24°C – 34°C (Simamora dkk., 2021).

## 2.2 Varietas Tebu

Varietas tebu di Indonesia sangat beragam. Varietas ini meningkatkan produktivitas dalam perkebunan tebu melalui pemuliaan tanaman. Hasil pemuliaan tanaman ini dapat digunakan untuk varietas yang tahan terhadap cekaman biotik dan abiotik (Iriyanto, 2019). Beberapa varietas tebu yang dibudidayakan oleh PT. GMP sebagai berikut:

### 2.2.1 Varietas GM1183

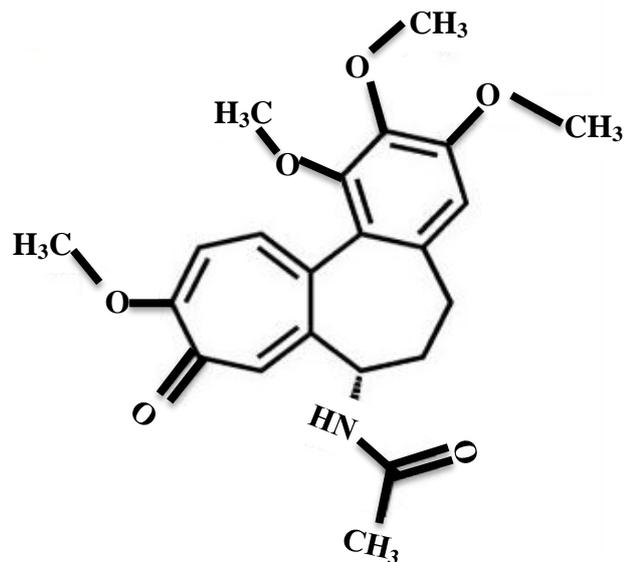
Varietas GM1183 merupakan salah satu varietas yang saat ini sedang dikembangkan oleh PT GMP. Varietas ini memiliki morfologi daun berwarna hijau, lengkung helai daun dengan ukuran  $\frac{1}{3}$  -  $\frac{1}{2}$  daun, dan lebar daun 4 – 5 cm (sedang), panjang telinga daun sekitar 1 kali lebar (lemah), dan berkedudukan serong keatas. Batang berwarna ungu, berdiameter 2,5 - 3 cm (sedang), susunan ruas yang berbentuk zig zag, berbentuk silindris dengan panjang kurang dari 13 cm (pendek). Cincin akar tidak sampai di atas mata akar jumlah mata akar 2-3 baris. Mata akar berbentuk bulat dengan kedudukan pada bekas pelepah daun (Simamora dkk., 2021).

### 2.2.2 Varietas GM186

Varietas GM186 memiliki ciri-ciri morfologi yaitu perbungaan yang jarang atau sporadis <5%, daun berwarna hijau dengan lebar 4 - 5 cm (sedang), lengkung helai daun ½ - 2 / 3 daun, telinga daun panjangnya 1 kali lebarnya dan kedudukan telinga daun tegak ke atas. Batang varietas ini berwarna hijau kekuningan yang memiliki susunan ruas zig-zag berbentuk silindris dan panjang ruas yaitu <13 cm (pendek) (Simamora, dkk., 2021).

### 2.3 Kolkisin

Kolkisin ( $C_{22}H_{25}NO_6$ ) merupakan suatu senyawa mutagen kimia yang berasal dari ekstrak biji *Colchicum autumnale* yang mampu menginduksi tanaman poliploidi. Pembentukan poliploidi tergantung pada jumlah konsentrasi kolkisin yang diberikan. (Pradana dan Sri, 2019). Senyawa ini memiliki struktur khas pada gugus aldehyd (R-COH) yang berikatan dengan sel tanaman saat terjadi proses mutasi. Secara lengkap struktur kimia mutagen ini dapat dilihat pada Gambar 2.



**Gambar 2.** Struktur kimia kolkisin (Tandhavadhana, 2019)

Kolkisin bersifat mampu menggandakan kromosom sehingga dapat memperbaiki sifat tanaman (Aili dkk., 2016). Aplikasi kolkisin pada tanaman tidak memiliki batasan konsentrasi dan lama perendaman. Keduanya tergantung pada jenis tanaman (Fitriani, 2017). Beberapa penelitian terkait dengan induksi mutagen kolkisin telah dilakukan, Kamukten dkk. (2016) dan Aili dkk. (2016) telah melakukan penelitian pada jagung (*Zea mays* L.). Hasil penelitian mengakibatkan penurunan tinggi tanaman dan lebar daun pada 4% dengan waktu perendaman 12 jam. Sedangkan berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Gultom (2016), pengaruh konsentrasi dan lama perendaman kolkisin menyebabkan penggandaan jumlah kromosom dengan konsentrasi yang efektif 0,001 – 1 %, dan lama perendaman 6 – 72 jam. Dari beberapa penelitian menunjukkan aksi mutagen kolkisin dapat memberikan respon yang berbeda pada setiap tanaman.

#### **2.4 Karakter Stomata**

Stomata adalah bagian sel epidermis daun yang berperan dalam transportasi CO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub> dan H<sub>2</sub>O selama berlangsungnya fotosintesis dan respirasi. Stomata dibatasi oleh sel khusus yang disebut sel penutup. Sel penutup dikelilingi oleh sel tetangga. Sel tetangga berperan dalam perubahan osmotik yang menyebabkan gerakan sel penutup yang mengatur lebar bukaan stomata.. Stomata umumnya digunakan sebagai salah satu ciri genetika untuk seleksi, karena berhubungan dengan produksi maupun ketahanan tanaman terhadap hama dan penyakit (Sumardi dkk., 2010).

Induksi kolkisin pada tanaman tidak hanya membawa perubahan karakter morfologi dan sitologi namun dapat membawa perubahan karakter anatomi. Perubahan yang dihasilkan karakter anatomi ialah stomata. Beberapa penelitian terkait dengan induksi kolkisin yang memengaruhi karakter stomata, Karimzadeh *et al.* (2016) menyatakan tanaman *Tanacetum parthenium* yang diinduksi kolkisin menyebabkan perubahan karakter stomata yaitu luas stomata menjadi lebih besar daripada kontrol. Lebih lanjut,

penelitian yang dikemukakan oleh Rohmah dkk. (2017) menyatakan tanaman *Olea europaea* L. yang diinduksi kolkisin pada konsentrasi 0,25% dan 0,75% berpengaruh terhadap ukuran stomata dan kerapatan stomata. Akan tetapi tidak berpengaruh pada tipe stomata. Lebih lanjut, Rahayu dkk. (2015) menunjukkan perlakuan kolkisin dapat berpengaruh signifikan terhadap ukuran stomata yaitu pada *Phalaenopsis amabilis* dan *Phalaenopsis amboinensis*. Penelitian tersebut menyatakan perlakuan kolkisin 0,5 ppm dan 0,7 ppm yang menyebabkan ukuran stomata berbeda signifikan dengan kontrol.

Stomata memiliki banyak variasi struktur yang dapat dikelompokkan berdasarkan susunan sel-sel yang menyusun dan mengelilingi stomata sebagai berikut :

1. Anomositik (*ranunculaceous* atau *irregular-celled*)

Stomata tipe *Anomocytic* yaitu stomata yang dikelilingi oleh sel tetangga yang tidak memiliki perbedaan dari sel-sel epidermis ditinjau dari ukuran dan bentuknya. Pada tipe ini, tidak terdapat jumlah maupun letak spesifik sel tetangga di sekitar stomata dan banyak ditemukan pada tumbuhan famili Apocynaceae, Boraginaceae, Chenopodiaceae, Cucurbita, dan lain-lainnya.

2. Anisositik (*Cruciferous* or *unequal-celled type*)

Stomata tipe anisositik yaitu stomata yang dikelilingi oleh sel tiga sel tetangga yang memiliki perbedaan ukuran, dimana salah satunya lebih kecil dibandingkan dua sel yang lainnya. Stomata tipe ini banyak ditemukan pada tumbuhan famili Cruciferae, Solanum, Petunia, Sedum dan Nicotiana.

3. Parasitik (*rubiceous* or *parallel-celled type*)

Stomata tipe parasitik yaitu stomata yang dikelilingi oleh satu atau lebih sel tetangga di kedua sisinya. Sumbu panjang sel tetangga sejajar dengan celah di antara sel-sel penutup. Stomata tipe ini banyak ditemukan pada

tumbuhan famili Rubiaceae, Convolvulaceae, Phaseolus, Arachis dan Psoralea, dan lain-lainnya.

4. Diasitik (*caryophyllaceous or cross-walled type*)

Stomata tipe diasitik yaitu stomata yang dikelilingi oleh sepasang sel tetangga. Dinding bersama dari kedua sel tetangga tegak lurus terhadap sumbu panjang sel penutup. Stomata tipe ini banyak ditemukan pada tumbuhan famili Aryophyllaceae, Acanthaceae, Hygrophila, Dianthus dan lain-lainnya.

5. Aktinositik

Stomata tipe aktinositik yaitu stomata yang memiliki sel penutup dan dikelilingi oleh minimal 5 sel tetangga yang pipih serta berbentuk lingkaran. Stomata tipe ini banyak ditemukan pada tumbuhan famili Ancistrocladus dan *Euclea pseudebenus* (Ebenaceae).

6. Gramineous

Stomata tipe Gramineous yaitu stomata yang memiliki dua sel penutup berbentuk sempit di tengah dan lebih lebar di ujung. Sel tetangga sejajar dengan sumbu panjang dari celah. Stomata tipe ini banyak ditemukan pada tumbuhan famili Gramineae and Cyperaceae (Fahn, 1991).

## 2.5 Kadar Klorofil

Klorofil merupakan pigmen hijau yang terdapat di kloroplas pada daun. Terdapat dua jenis klorofil, yaitu klorofil a ( $C_{55}H_{72}O_5N_4Mg$ ) berwarna hijau tua dan klorofil b ( $C_{55}H_{70}O_6N_4Mg$ ) berwarna hijau muda. Klorofil dibedakan menurut daya absorpsi sinar pada panjang gelombang 400 – 700 nm. Karimzadeh *et al.* (2016) menyatakan perlakuan kolkisin 0.1 ppm pada *Tanacetum parthenium* dapat memengaruhi peningkatan kadar klorofil. Hal ini ditunjukkan dengan warna daun perlakuan kolksin lebih hijau dibandingkan dengan perlakuan kontrol. Friska dan Budi. (2017) juga

menyatakan perlakuan induksi kolkisin 0.1 ppm pada jahe merah (*Zingiber officinale* var. *rubrum*) menghasilkan kadar klorofil lebih tinggi dan berbeda signifikan daripada kontrol.

Susanti dkk. (2015) menyatakan kadar klorofil pada daun akan memengaruhi reaksi fotosintesis. Lebih lanjut, Nurcahyani *et al.* (2020) menyatakan rendahnya kadar klorofil dapat menghasilkan bahan organik yang rendah. Menurut Wang *et al.* (2013) menyatakan bahan organik yang dihasilkan dari fotosintesis digunakan selama pertumbuhan dan perkembangan pada tanaman.

## 2.6 Penanda Molekuler

Pada awal abad ke-20 ilmuwan menemukan bahwa faktor Mendel mengendalikan warisan (gen) yang terletak dalam urutan linear pada struktur sitogenetik yang jelas dan disebut kromosom. Hal tersebut menunjukkan bahwa kombinasi gen dapat diwariskan dalam kelompok yaitu gen yang terkait bersama karena dekat satu sama lain pada kromosom yang sama. Gen individu yang mengapit dalam menentukan interval terdekat dikenal sebagai penanda molekuler DNA. Penanda molekuler adalah urutan DNA yang dapat diidentifikasi dan ditemukan pada lokasi genom tertentu yang terkait dengan pewarisan sifat atau gen *linked* (Food and Agriculture Organization, 2011).

Penanda molekuler bersifat polimorfik yaitu terdapat perbedaan bentuk sehingga kromosom pembawa gen mutan dapat dibedakan dengan membawa bentuk penanda kromosom gen normal. Polimorfisme dapat dideteksi pada tiga tingkatan yaitu morfologi, biokimia dan molekuler. Penanda molekuler DNA digunakan untuk menggambarkan penggunaan kombinasi beberapa sistem deteksi lokus tunggal dan menyelidiki berbagai aspek genom tanaman. Hal ini berkaitan dengan karakterisasi variabilitas genetik, *finger printing* genom, pemetaan genom, lokalisasi gen, analisis evolusi genom, genetika

populasi, taksonomi, peternakan dan diagnostik tanaman (Joshi *et al.*, 2011).

## 2.7 *Polymerase Chain Reaction (PCR)*

*Polymerase Chain Reaction (PCR)* adalah sintesis asam nukleat secara *in vitro*. Proses tersebut melibatkan dua primer oligonukleotida yang mengapit fragmen DNA yang akan diamplifikasi dengan serangkaian siklus berulang. Yusuf (2010) memaparkan terdapat tiga tahapan dalam proses PCR sebagai berikut:

### 1. Pembukaan Untaian Ganda DNA (*Denaturation*)

Dalam proses PCR denaturasi merupakan proses pembukaan DNA untai ganda menjadi DNA untai tunggal. Hal ini disebabkan karena suhu denaturasi yang tinggi menyebabkan putusnya ikatan hidrogen di antara basa-basa yang komplemen. Proses ini dilakukan pada suhu 90 - 95°C dengan waktu 60 detik.

### 2. Penempelan Primer DNA (*Anneling*)

Tahap ini merupakan proses penempelan primer *forward* dan *reverse* DNA. Kriteria yang umum digunakan untuk merancang primer yang baik yaitu primer berukuran 18 – 25 basa dan mengandung 50 – 60 % G+C serta kedua primer tersebut sama. Selain itu, sekuens DNA dalam masing-masing primer tidak saling berkomplemen karena hal ini mengakibatkan terbentuknya struktur sekunder pada primer tersebut sehingga mengurangi efisiensi PCR. Proses ini umumnya berlangsung pada suhu 50-60°C selama 30 - 45 detik. Namun, semakin panjang ukuran primer dapat maka semakin tinggi kisaran temperaturnya.

### 3. Perpanjangan Untai DNA (*Extension*)

Tahap ini merupakan proses perpanjangan untai DNA baru oleh *taq polymerase* pada suhu 72°C selama 1-2 menit. *Taq polymerase* melakukan aktivitas memperpanjang DNA primer dari ujung 3'. Kecepatan

penyusunan nukleotida oleh enzim tersebut berkisar 35-100 nukleotida/detik. Hal ini dipengaruhi oleh buffer, pH, konsentrasi garam, dan molekul DNA target. Umumnya siklus akhir PCR pada tahapan ini diperpanjang sampai 5 menit sehingga seluruh produk PCR diharapkan terbentuk DNA untai ganda. Proses PCR mampu menghasilkan jutaan *copy* DNA (amplikon) dalam waktu yang sangat singkat. Hal ini menyebabkan PCR sangat sensitif sehingga dapat mengakibatkan timbulnya kontaminasi yang mengakibatkan hasil PCR yang tidak tepat. DNA target yang disintesis pada siklus sebelumnya dan hasilnya adalah akumulasi eksponensial dari target fragmen spesifik. DNA genom dari dua individu yang berbeda sering menghasilkan amplifikasi yang berbeda dan fragmen khusus yang dihasilkan dari satu individu tetapi tidak untuk lainnya (Yuwonto, 2005).

## **2.8 *Random Amplified Polymorphic (RAPD)***

Penanda molekuler *Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)* merupakan suatu teknik untuk mendeteksi polimorfisme urutan nukleotida DNA dengan menggunakan primer tunggal (Williams *et al.*, 1990 dalam Jonah, 2011). Tabasum *et al.* (2010) menyatakan dari 40 genotipe tebu terdapat 36 *S. officinarums* dan 4 *S. barberi* yang menunjukkan bahwa tingkat polimorfisme yang terdeteksi tinggi dengan 30 penanda RAPD. Hal ini disebabkan terdapat satu alel yang berbeda pada lokus dan teridentifikasi oleh penanda molekuler.

Hussain (2003) dalam penelitian menyatakan bahwa dari 50 primer yang digunakan ternyata hanya 8 primer yaitu OPB3, OPB5, OPB8, OPB10, OPB11, OPB14, OPB15, OPB3 yang memiliki tingkat polimorfiknya tinggi sebesar 16 %. Lebih lanjut, penelitian yang dikemukakan oleh Ahmed dan Kahled (2008) menyatakan terdapat 44 fragmen pada tiap genotipe tebu kemudian digunakan primer yaitu OPA-01, OPA-04, OPA-07, OPB-07, OPB-10, OPO-10, OPO-14 untuk menilai keragaman genetik 17 kultivar

tebu. Hasil penelitian ini 7 primer yang menghasilkan pita spesifik yaitu OPA-04, OPA-17, OPAB-17, OPC-08, OPC-16, OPG-05, OPG-17. Kendari (2022) menyatakan bahwa fragmen pada tebu dengan 3 primer yang yaitu OPN-07, OPB-19, OPA-04 memiliki tingkat polimorfik yang cukup tinggi. Berdasarkan hal tersebut dari 5 primer RAPD yaitu OPN-07, OPD-08, OPA-07, OPC-16, dan OPA-01 sangat efektif untuk mendeteksi polimorisme karakter unggul pada tebu.

### III. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret – Oktober 2022. Analisis karakter stomata dan molekular dilakukan di Laboratorium *Polymerase Chain Reaction* (PCR) sedangkan analisis kadar klorofil dilakukan di lapangan alur semai PT Gunung Madu Plantation Km 90 Terbanggi Besar, Gunung Batin Udik, Terusan Nunyai, Kabupaten Lampung Tengah, Provinsi Lampung.

#### 3.2 Alat dan Bahan

Adapun 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, plastik kiloan, gunting, silet, pensil, *cover glass*, *object glass* dan mikroskop BX53, Mikroskop Olympus S53, dan klorofilmeter SPAD 520A.

Adapun bahan yang digunakan adalah sampel daun dari mutan GM1183 dan GM186. Reagen dan bahan kimia yang digunakan antara lain kolkisin, liquid nitrogen cair (N<sub>2</sub>), buffer ekstraksi (CTAB), CI (*chloroform* dan *isoamil alkohol*), isopropanol dingin, sodium acetate pH 5,2, etidium bromide, Etanol 70%, TE *Buffer* pH 7,6, bubuk agarose, TBE buffer, DNA ladder 100bp, loading dye, ddH<sub>2</sub>O steril, Gel red, NFP, akuades, minyak immersi, dan kutek bening. Selain itu, terdapat jenis primer RAPD yang terdapat pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Jenis Primer RAPD

No	Primer	Sekuen	<i>Annealing</i> (°C)
1.	OPN-07	CAGCCCAGAG	37,3
2.	OPD-08	GTGTGCCCCA	36,9
3.	OPA-07	GAAACGGGTG	33,4
4.	OPC-16	CACACTCCAG	32,6
5.	OPA-01	AGTCGTCCCC	37,7

(Hussain, 2003)

### 3.3 Rancangan Penelitian

Rancangan pada penelitian ini yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari dua faktor yaitu konsentrasi kolkisin yang terdiri atas 4 taraf konsentrasi (0 ppm, 0,1 ppm, 0,5 ppm, dan 1 ppm) dan lama genangan kolkisin (1 dan 2 hari). Masing-masing konsentrasi dilakukan 4 kali pengulangan. Perlakuan pada rancangan penelitian ditampilkan dalam Tabel 2.

**Tabel 2.** Rancangan Acak Lengkap

No	Sampel Perlakuan	Perlakuan
1.	Kontrol (K)	Genang air 1 hari
2.	Kontrol (K)	Genang air 2 hari
3.	Percobaan (M)	Pemberian Kolkisin 0,1 ppm selama 1 hari
4.	Percobaan (M)	Pemberian Kolkisin 0,1 ppm selama 2 hari
5.	Percobaan (M)	Pemberian Kolkisin 0,5 ppm selama 1 hari
6.	Percobaan (M)	Pemberian Kolkisin 0,5 ppm selama 2 hari
7.	Percobaan (M)	Pemberian Kolkisin 1 ppm selama 1 hari
8.	Percobaan (M)	Pemberian Kolkisin 1 ppm selama 2 hari

Berdasarkan Tabel 2 dalam penelitian merupakan hasil kombinasi antar faktor dari seluruh taraf perlakuan. Dengan demikian, terdapat 4 x 2 kombinasi atau 8 kombinasi. Pada masing-masing 8 kelompok perlakuan diambil 4 sampel ulangan sehingga menghasilkan 32 kombinasi perlakuan, yaitu 4x8 perlakuan atau 4x2x4 unit percobaan pada satu varietas. Total unit percobaan dari kedua varietas dalam penelitian ini yaitu 64 unit percobaan. Adapun tata letak satuan percobaan disajikan pada Gambar 3.

**Gambar 3.** Tata Letak Satuan Percobaan

Alur 4	Alur 5	Alur 6	Alur 1
M1	M9	M21	K13
M37	M45	M57	K29
M2	M10	M22	K14
M38	M46	M58	K65
M3	M11	M23	K49
M39	M47	M59	K15
M4	M12	M24	K50
M40	M48	M60	K66
M5	M17	M25	K30
M41	M53	M61	K51
M6	M18	M26	K31
M42	M54	M62	K67
M7	M19	M27	K52
M43	M55	M63	K32
M8	M20	M28	K68
M44	M56	M64	K16

Keterangan :

K13-K16 dan K49-K52 = Kolkisin konsentrasi 0 ppm 1 hari (Kontrol)

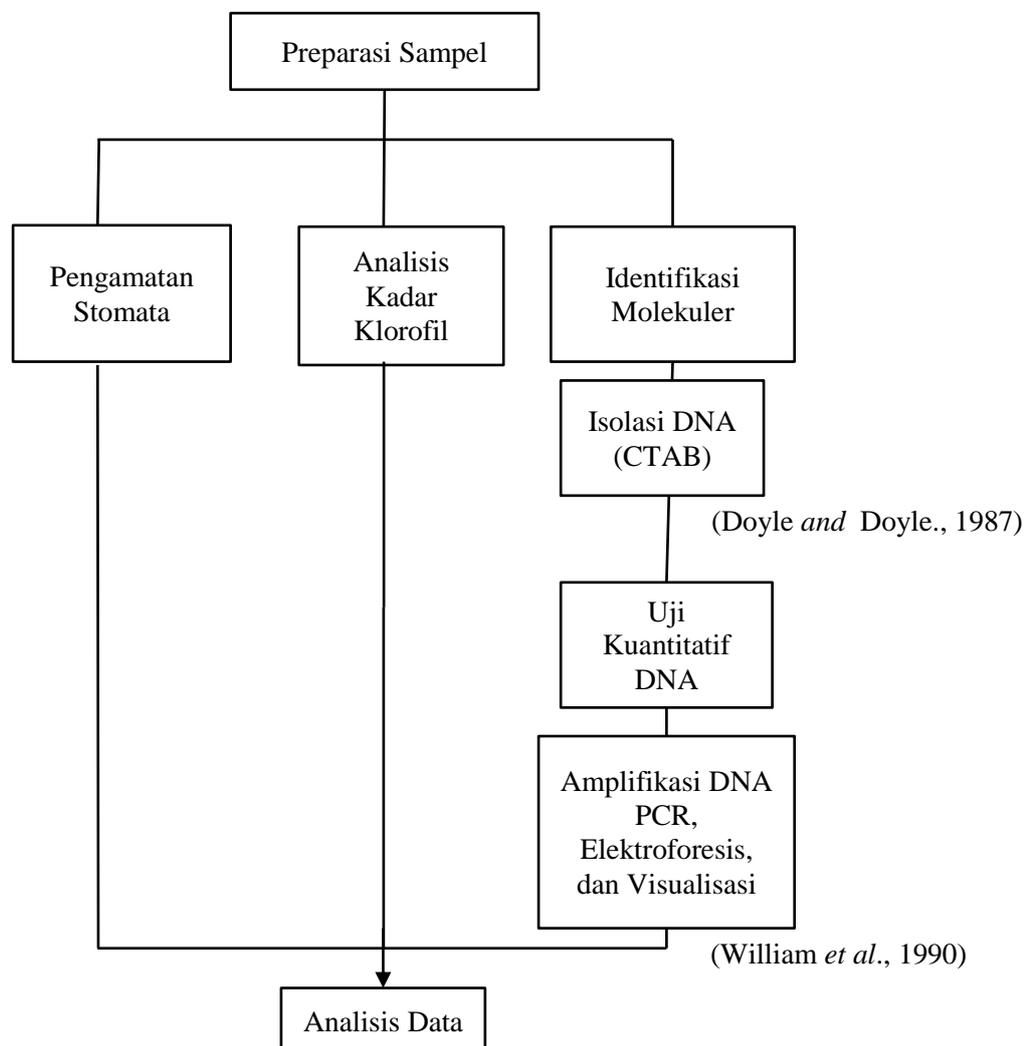
K29-K32 dan K65-K68 = Kolkisin konsentrasi 0 ppm 2 hari (Kontrol)  
M1-M4 dan M37-M40 = Kolkisin konsentrasi 0,1 ppm 1 hari  
M5-M8 dan M41-M44 = Kolkisin konsentrasi 0,1 ppm 2 hari  
M9-M12 dan M45-M48 = Kolkisin konsentrasi 0,5 ppm 1 hari  
M17-M20 dan M53-M56 = Kolkisin konsentrasi 0,5 ppm 2 hari  
M21-M24 dan M57-M60 = Kolkisin konsentrasi 1 ppm 1 hari  
M25-M28 dan M61-M64 = Kolkisin konsentrasi 1 ppm 2 hari  
M1-M28 = Varietas GM1183  
M37-M64 = Varietas GM186

### 3.4 Bagan Alir Penelitian

Penelitian ini terdiri dari beberapa tahap yaitu:

1. Preparasi sampel, preparasi dilakukan berdasarkan data sekunder karakter agronomis (Mawardi, 2022) dari 9 kelompok perlakuan diseleksi 4 sampel dengan nilai terbaik berdasarkan karakter agronomis.
2. Pengamatan stomata dan kadar klorofil dilakukan dalam waktu yang sama.
3. Identifikasi molekuler diawali dengan isolasi DNA dilanjutkan uji kuantitatif dengan spektrofotometer UV-VIS.
4. Amplifikasi dalam identifikasi molekuler menggunakan program PCR dengan primer RAPD kemudian diuji kuantitatif menggunakan elektroforesis dan visualisasi.
5. Analisis data dilakukan secara kuantitatif dan kualitatif yang meliputi pengamatan jumlah karakter stomata, sel epidermis, indeks stomata, luas stomata, dan lebar bukaan stomata, kadar klorofil, dan karakter molekuler meliputi visualisasi DNA, *Polimorfisme Information Content (PIC)*, indeks similaritas, dan hubungan kekerabatan.

Tahap penelitian disajikan dalam bentuk bagan alir seperti Gambar 4.



**Gambar 4.** Bagan Alir Penelitian

### 3.5 Pelaksanaan Kegiatan

#### 3.5.1 Preparasi Sampel

Preparasi sampel merupakan persiapan untuk menyeleksi sampel yang berumur 10 minggu setelah tanam (MST) dan memiliki karakter dari varietas GM1183 memiliki tinggi batang 125-135 cm dan jumlah daun hijau berkisar 5-7 daun, warna batang hijau kekuningan sedangkan

varietas GM186 memiliki tinggi batang 125-130 cm jumlah daun hijau 7-9, warna batang merah kehitaman. Penyeleksian ini berdasarkan data sekunder dari penelitian Simamora (2021) dengan nilai karakter agronomis dari 4 parameter yaitu jumlah daun, jumlah anakan, tinggi batang, dan jumlah ruas yang lebih tinggi dari pada kontrol. Kemudian ditambahkan dengan nilai karakter agronomis yang bersifat spesifik dan unik yaitu memiliki ukuran batang besar, daun lebar, dan ukuran tinggi tanaman kecil.

### 3.5.2 Karakter Stomata

Tahapan karakter stomata dilakukan dengan metode sayatan segar. Metode ini modifikasi dari Narahayaan *et al.* (2018) diawali dengan sampling daun yang terpilih dari preparasi sampel. Sampling daun stomata dilakukan pukul 09.00 – 10.00 WIB kemudian diambil pada daun ke 3 dari daun cincin pertama pada tebu. Setelah itu, daun dibersihkan menggunakan tisu dan difiksasi menggunakan alkohol 70% selama 2 menit lalu dibersihkan dengan akuades dan dikeringkan dengan tisu. Pemberian alkohol 70% untuk mempertahankan kondisi struktur dan jaringan dan memudahkan jaringan daun menyerap warna safranin. Setelah itu disayat daun dengan tipis di bagian permukaan bawah (abaksial) kemudian ditempatkan pada *object glass* dan diberi larutan safranin 0.25% sebanyak 4 tetes dan diamkan selama 3 menit, dilanjutkan dengan pemberian alkohol 96%. Tahapan ini bertujuan untuk dekolorisasi pewarnaan safranin agar lebih jernih pada saat pengamatan stomata. Kemudian preparat dikeringkan dengan tisu kering pada bagian yang basah pada *object glass* lalu diimprint dengan kutek bening dan *cover glass*. Selanjutnya diamati menggunakan mikroskop Olympus S52 dengan perbesaran 400x dan 1000x.

### 3.5.3 Kadar Klorofil

Tahapan kadar klorofil dilakukan menggunakan alat klorofilmeter SPAD (*Soil Plant Analysis Development*) 502 yang dinyatakan dalam satuan unit. Pengukuran kadar klorofil diawali dengan sampling yang dilakukan pada waktu 08.00 -10.00 WIB menggunakan daun bagian ke 3 dari daun cicin pertama. Setelah mendapatkan daun dibersihkan dengan tisu, diusahkkan daun dalam kondisi kering tidak lembab. Dilanjutkan dengan kalibrasi klorofilmeter kemudian ditempelkan kepala klorofilmeter pada daun. Pengukuran kadar klorofil ini dilakukan dengan tiga ulangan setiap satu sampel, yaitu menempatkan 3 titik pada daun bagian pangkal, tengah, dan ujung daun. Setelah itu, dicatat nilai yang keluar dari klorofilmeter (Syafii dkk., 2021).

### 3.5.4 Karakter Molekuler

Karakter molekuler dilakukan dengan beberapa tahap yaitu isolasi DNA, Uji kuantitatif DNA dengan spektrofotometer UV-VIS, Program PCR *Random Amplified Polymorphic* (RAPD) DNA, Uji kualitatif DNA yang dapat diuraikan sebagai berikut:

#### 3.5.4.1 Isolasi DNA

Panduan yang digunakan untuk isolasi DNA adalah prosedur ekstraksi berbasis *Cetyl-Trimetyl-Monium 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  $-20^{\circ}$  C. Daun dimasukkan dalam tube steril 2 mL, ditambah liquid nitrogen cair (N<sub>2</sub>). Sampel daun digrinding dengan *tissuelyser* hingga menjadi bubuk (3x 60 detik). Selanjutnya, ditambahkan *buffer* ekstraksi CTAB (sebelumnya dipanaskan

di dalam 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 1x 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 *chloroform-isoamyl alcohol* (CI), 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 etanol 70% sebanyak 500 µl dan dihomogenkan 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 alkohol tidak ada).

Tahap selanjutnya adalah resuspensi DNA menggunakan TE Buffer pH 7,6 (steril) sebanyak 40-50 µl, kemudian ditambahkan 1 µl RNase (10 mg/ml). kedua reagen tersebut dicampurkan menggunakan *micropipette*, diinkubasi pada suhu ruang selama 5 menit, dan disimpan pada suhu -20°C.

#### **3.5.4.2 Uji Kuantitatif DNA**

Uji Kuantitatif DNA menggunakan spektrofotometer UV-VIS. Tingkat kemurnian DNA diukur dengan menghitung nilai absorbansi 260nm/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, 2001).

### 3.5.4.3 Amplifikasi DNA Tebu dengan Marka RAPD

Amplifikasi DNA menggunakan 5 primer RAPD (OPA-01, OPA-07, OPC-16, OPD-08, dan OPN-07). Komposisi PCR dilakukan pada volume 25  $\mu$ l, yang terdiri dari primer 1,5  $\mu$ l, PCR Mix 5,5  $\mu$ l, ddH<sub>2</sub>O 14  $\mu$ l, sampel DNA 4  $\mu$ l. Amplifikasi DNA primer RAPD dilakukan dengan menggunakan Thermal cycler T100 (BioRAD) dengan tahapan pada Tabel 3 sebagai berikut :

**Tabel 3.** Tahapan PCR dengan Marka RAPD

No	Tahapan	Suhu (°C)	Waktu	Siklus
1.	Pre denaturasi	94	3 menit	1x
2.	Denaturasi	94	1 menit	
3.	Annealing	32,6-37,7	30 detik	44x
4.	Ekstensi	72	1 menit	
5.	Post ekstensi	72	5 menit	1x

Pemanasan pertama dilakukan pada suhu 94°C selama 3 menit, kemudian diikuti 44x siklus yang terdiri dari denaturasi (pemisahan) pada suhu 94°C selama 1 menit, annealing (penempelan) sesuai dengan suhu primer, ekstensi (pemanjangan) pada suhu 72°C selama 1 menit, dan post ekstensi pada suhu 72 °C selama 5 menit (Williams *et al.*, 1990).

### 3.5.4.4 Uji Kualitatif DNA

Uji kualitatif DNA menggunakan elektroforesis horizontal dengan tahapan pertama yaitu membuat gel agarose dengan konsentrasi 2% (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  $\mu\text{l}$  GelRed, elektroforesis dilakukan dengan menggunakan Power Pro (*Cleaver Scientific Ltd*) selama 85 menit pada 100 volt. Hasil pemisahan fragmen DNA dideteksi menggunakan UV transluminator, kemudian file disimpan. Standar ukuran 10 kbp plus DNA ladder (*Geneid*) untuk menetapkan ukuran pita hasil amplifikasi DNA.

### 3.6 Analisis Data

Analisis data pada penelitian ini dibagi menjadi tiga sebagai berikut:

#### 1. Analisis data karakter stomata

Data hasil pengamatan karakter stomata dianalisis secara kualitatif dan kuantitatif dengan menganalisis 5 karakter stomata yaitu luas stomata, jumlah sel epidermis, jumlah stomata, indeks stomata, dan kerapatan stomata. Terdapat rumus perhitungan pada indeks dan kerapatan stomata sebagai berikut :

##### a. Indeks Stomata:

$$\frac{\text{Jumlah Stomata}}{\text{Sel Epidermis} + \text{Jumlah stomata}}$$

##### b. Kerapatan Stomata:

$$\frac{\text{Jumlah Stomata}}{\text{Luas Bidang Pandang}}$$

$$\begin{aligned} \text{Luas Bidang Pandang} &= \text{Panjang} \times \text{Lebar} \\ &= 0,75 \mu\text{m} \times 0,16 \mu\text{m} \\ &= 0,124\mu\text{m}^2 \text{ (Xu and Zhou, 2008).} \end{aligned}$$

Data hasil pengamatan karakter stomata yang diperoleh dianalisis secara menggunakan Analisis Variansi Multivariat (MANOVA) dan analisis uji korelasi *Rank Spearman*. Kemudian apabila data terdapat perbedaan

signifikan dilanjutkan dengan uji *Least Significant Difference* (LSD) pada taraf 5% menggunakan *software Statistical Product and Service Solutions* (SPSS) versi 23.0.

## 2. Analisis Kadar Klorofil

Data hasil pengamatan kadar klorofil yang diperoleh dianalisis menggunakan Analisis Variansi Multivariat (MANOVA) dan analisis uji korelasi *Rank Spearman*. Kemudian apabila data terdapat perbedaan signifikan dilanjutkan dengan uji *Least Significant Difference* (LSD) pada taraf 5% menggunakan *software Statistical Product and Service Solutions* (SPSS) versi 23.0.

## 3. Analisis data karakter molekuler

Data hasil pengamatan karakter molekuler dianalisis secara deskriptif dan skoring dilanjutkan menghitung nilai *Polimorfisme Information Content* (PIC) dengan rumus Mateescu *et al.* (2005) sebagai berikut:

$$\text{PIC} : 2 \cdot f_i \cdot (1 - f_i)$$

Keterangan:

$f_i$  = frekuensi *band*

$(1 - f_i)$  = frekuensi *non band*

Hasil data skoring dilanjutkan dengan pembuatan pohon filogenetik untuk mengetahui hubungan kekerabatan dengan metode *Unweighted Pair Group Method dan Arithmetic Mean* (UPGMA) menggunakan *software Numerical Taxonomy System* (NTSYS-pc) versi 2.30.

## V. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Perlakuan induksi kolkisin varietas GM186 dan GM1183 memengaruhi peningkatan bervariasi pada karakter stomata dan konsisten pada kadar klorofil, serta variasi genetik antara mutan dengan kontrol.
2. Pada varietas GM186 induksi kolkisin dapat meningkatkan kadar klorofil dan indeks stomata tinggi serta luas stomata contoh nomor mutan M55, M53, dan 39 sedangkan varietas GM1183 meningkatkan kadar klorofil dan kerapatan stomata tinggi serta bukaan stomata lebar, contoh nomor mutan M1, M6 dan M22. Dari kedua varietas ini dominan berpengaruh terhadap tinggi batang.
3. Mutasi Induksi kolkisin pada GM186 berpotensi memperbaiki karakter yang diharapkan yaitu tinggi batang dan jumlah batang pokok sedangkan pada GM1183 cukup berpotensi memperbaiki karakter yang diharapkan yaitu pada jumlah daun hijau dan tinggi batang.

## 5.2 Saran

Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Hasil penelitian ini perlu dilanjutkan dengan menghitung peningkatan laju fotosintesis dan pengamatan kromosom agar hasil penelitian menjadi lebih komprehensif secara sitologi.
2. Perlu penelitian lanjutan sekuensing DNA untuk mengetahui urutan basa nitrogen yang terkait dengan peningkatan karakter agronomis.
3. Hasil penelitian ini perlu dilanjutkan untuk mengetahui potensi mutan unggul terhadap cekaman kekeringan secara *in vitro*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aili, E.N., Arifin, N.S., dan Respatijarti. 2016. Pengaruh Pemberian Kolkisin Terhadap Penampilan Fenotip Galur Inbrida Jagung Pakan (*Zea Mays* L.) Pada Fase Pertumbuhan Vegetatif. *Jurnal Produksi Tanaman*. 4(5): 370–337.
- Alfarisy, Fikry Bagus. 2019. Perbedaan Perlakuan Berbagai Jenis Pupuk Terhadap Pertumbuhan Dua Klon Tebu (*Saccharum officinarum* L.). *Skripsi*. Universitas Muhammadiyah Gresik.Gresik.
- Chahal, Chahal, G.S. and S.S. Gosal, 2002. *Principles and Procedures of Plant Breeding Biotechnological and Conventional Approaches*. Alpha Science International Ltd.Harrow.U.K. 413-428.
- Cronquist, A. 1988 *The Evolution and Classification of Flowering Plants*. New York Botanical Garden, Bronx.
- Doyle, J.J. and Doyle, J.L. 1987. A Rapid DNA Isolation Procedure for Small Quantities of Fresh Leaf Tissue. *Phytochemical Bulletin*, 19, 11-15.
- Ermayanti, Muji T.,Wijayanta, A. N., dan Diah Ratnadewi. 2018. Induksi Poliploidi pada Tanaman Talas (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) Kultivar Kaliurang dengan Perlakuan Kolkisin secara In Vitro. *Jurnal Biologi Indonesia*. 14(1): 91-102.
- Fahn, A. 1991. *Anatomi Tumbuhan*. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Food and Agriculture Organization. 2011. *Current world fertilizer trends and outlook to 2015*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome.
- Friska, M. dan Daryono, B.S. 2017. Arakter Fenotip Jahe Merah (*Zingiber officinale* Var. *rubrum*) Hasil Poliploidisasi Dengan Kolkisin. *Journal of Biology*. 10(2): 91-97.
- Hapsoro, D. 2019. *Kultur In Vitro Tanaman Tebu dan Manfaatnya Untuk Mutagenesis dengan Sinar Gamma*. AURA : Anugerah Utama Raharja.

Lampung.

- Hartati, R.R.S., Sri, S., Rossa, Y., dan Syafruddin. 2018. Induksi mutasi dengan kolkisin dan seleksi in vitro tebu toleran kekeringan menggunakan polyethylen glycol. *Jurnal Littri*. 24(2): 93-104.
- Hussain, A. 2003. Isolation, purification and characterization of invertases from sugarcane grown under saline condition. *Thesis*. Faculty of Science University of Agriculture.21-30.
- Ginting, D. E. S. E. B.R., Made S., dan Ardiartayasa, W. 2021. Induksi Mutasi Kromosom dengan Kolkisin pada Tanaman Anggur Merah (*Vitis vinifera* L. Varietas Prabu Bestari) Melalui Pembentukan Kalus Secara In Vitro. *Journal of Tropical Agroecotechnology*. 10(3): 337-345.
- Indrawanto, C., Purwono, Siswanto, Syakir, M., dan Rumini, W. 2010. *Budidaya dan Pasca Panen Tebu*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan. Eska Media. Jakarta.
- Iriyanto, Iwan. 2019. *Pengaruh Komposisi Media Tanam Terhadap Pertumbuhan Bibit Beberapa Varietas Tebu (Saccharum officinarum L.) dengan Metode Bud Chips*. Kudus. Universitas Muria Kudus.
- Jonah, P.M., Bello, L. L., Lucky, O., Midau, A., Moruppa, S. M .2011. The Importance of Molecular Markers in Plant Breeding Programmes. *Global Journal of Science Frontier Research*. 11.
- Joshi, S.P., Prabhakar, K., Ranjekar, P.K and Gupta, V.S. 2011. *Molecular markers in plant genome analysis*.  
<http://www.ias.ac.in/currsci/jul25/articles> 15. Htm. 19. Diakses pada 05 Januari 2022.
- Kamukten, P. P., Arifin, N. S., Nur, B., dan Darmawan, S. 2016. Identifikasi Perubahan Fenotip Pada Empat Galur Inbred Jagung Pakan (*Zea Mays* L.) Akibat Perlakuan Kolkisin. *Jurnal Produksi Tanaman*. 4(3): 224-230.
- Karimzadeh, G., Mohammad, M., Reza,O., dan Ghader M. 2010. Induction of Tetraploidy to Feverfew (*Tanacetum parthenium* Schulz-Bip.): Morphological, Physiological, Cytological, and Phytochemical Changes. *Hortscience*. 45(1):16–21.
- Kurniawan, A. 2009. *Belajar Mudah SPSS Untuk Pemula: Untuk Mahasiswa dan Umum Disertai Latihan Soal dan Kunci Jawaban*. Mediakom Yogyakarta.
- Pratama, M., Machudor, Y., M., Suskandiri, R.,D., dan Febi, E., K. 2020. Penggunaan Metode Dempster-Shafer Sebagai Dasar Sistem Pakar Diagnosis Penyakit Tebu Berbasis Web. *Journal of Tropical Upland Resources*. 2(2): 259– 268.

- Mateescu, R. G., Zhang, Z., Tsai, K., Phavaphutanon, J., Burton-Wurster, N. I., Lust, G., and Todhunter, R. J. 2005. Analysis of allele fidelity, polymorphic information content, and density of microsatellites in a genome-wide screening for hip dysplasia in a crossbreed pedigree. *Journal of Heredity*, 96(7), 847– 853.
- Mawardi, I. 2022. Pengamatan Karakter Morfologi Mutan Hasil Induksi Kolkisin Pada Varietas Tebu (*Saccharum officinarum* L.) Komersil di PT Gunung Madu Plantations. *Skripsi*. Universitas Lampung. Lampung.
- Nurchaya, C., Widayari, W. B., dan Yunisari, N. A. 2021. Stabilitas Genetik Hasil Tebu Pada Beberapa Varietas Tebu Unggul Harapan. *Indonesian Sugar Research Journal*. 1(1): 46–58.
- Nurya, Y., Suhesti S., dan Trikoesoemaningtyas. 2020. Hubungan antara Ukuran Genom dan Karakter Agronomi, Morfologi, Fisiologi dengan Produksi pada Mutan Putatif Tebu Hasil Induksi Kolkisin. *Tesis*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Nurchayani, E, Rahmadani D.D., Wahyuningsih S., Mahfut. 2020. Analisis kadar klorofil pada buncis (*Phaseolus vulgaris* L.) terinduksi indole acetic acid (IAA) secara in vitro. *Anal Enviromental Chemical*. 5: 15–23.
- Narahayaan, C. S., Hiariej, A., and Riupassa, P. A. 2022. Study of Stomata Characteristics of Plantain and Horn Plants AAB genome. *Jurnal Penelitian Pendidikan IPA*. 8(2): 614–619.
- Pandey, R.N., Sujeet, P., S., Jyoti, R., Sharma, M.,L., and Singh R. K. 2012. Early assessment of genetic fidelity in sugarcane (*Saccharum officinarum*) plantlets regenerated through direct organogenesis with RAPD and SSR markers. *Australian Journal Crop Science*. 6(4):618-624.
- Pradana, D.A, dan Sri, Hartatik. 2019. Pengaruh Kolkisin Terhadap Karakter Morfologi Tanaman Terung (*Solanum melongena* L.). *Berkala Ilmiah Pertanian*. 2 (4).
- Pratama, A., Kamsia, D. S., dan Widya. L. 2020. Pengaruh Perendaman Kolkisin Terhadap Pertumbuhan dan Produksi Tanaman Ciplukan (*Phisalis angulata* L.). *Jurnal Mahasiswa Agroteknologi*. 1(1): 21–29.
- Rahayu, E. M. D., Sukma, D., Syukur, M., dan Irawati. 2015. Induksi Poliploidi *Phalaenopsis amabilis* (L) Blume dan *Phalaenopsis amboinensis* J.J Smith dengan Kolkisin dalam Kultur In Vitro. *Jurnal Agronomi Indonesia*. 43(3): 219-226.

- Rifliyah, K. 2019. Pengelompokan Genom Kultivar Pisang Berdasarkan Karakter Morfologi dan Marka Molekuler ISSR (Inter Simple Sequence Repeat). *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Rohmah, A., Tintrim R., dan Ari, H. 2017. Pengaruh Pemberian Kolkisin terhadap Karakter Stomata Daun Zaitun (*Olea europaea* L.). *Biosaintropis*. 2(2): 10-17.
- Sambrook, J. and Russell, D. W. 2001. *Molecular Cloning a Laboratory Manual 3rd Edition*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.
- Saputra, Y. H. 2020. Perspektif ketersediaan gula domestik dan swasembada gula nasional. *Jurnal Perspektif*. 19(1): 63–78.
- Saputri, N. K. dan Respatiadi, H. 2018. *Reformasi Kebijakan untuk Menurunkan Harga Gula di Indonesia*. Center for Indonesian Policy Studies. Jakarta.
- Sari, B. P., Karno, K., dan Anwar, S. 2017. Karakteristik morfologi dan sitology tanaman Sutra Bombay (*Portulaca grandiflora* Hook) hasil poliploidisasi dengan kolkisin pada berbagai konsentrasi dan frekuensi aplikasi. *Journal of Agro Complex*.1(2): 39.
- Simamora, Yemima . 2021. Pengaruh Induksi Mutasi Kolkhisin Terhadap Agronomis Varietas Tebu (*Saccharum officinarum* L.). *Praktik Kerja Lapangan*. Universitas Lampung. Lampung.
- Steenis, V. 2006. *Flora*. PT. Pradya Paramita. Jakarta.
- Susanti, A., Ganies R.A., Sutikno, And Rina, S.K. 2015. Karakterisasi Morfologi dan Anatomi Stroberi (*Fragaria x ananassa* D. cv. Festival) Hasil Induksi Kolkisin. *Jurnal Ilmiah Biologi*. 3(2): 66-75.
- Sumardi, I., Nugroho, H., dan Purnomo. 2010. *Struktur dan Perkembangan Tumbuhan*. Penebar Swadaya. Jakarta
- Syafii, M., Rozik, M.H., Torimania, A.F and Indriana, J.N.N. 2021. Review Teknologi Simple Phenotyping sebagai Data Base Pengembangan Robot Pendeteksi dan Pemupuk Nitrogen Padi. *Rekayasa*. 14(2): 175-182
- Tabasum S, F.A. Khan, S. Nawaz, M.Z., Iqbal and Saeed, A. 2010. DNA Profiling Of Sugarcane Genotypes Using Randomly Amplified Polymorphic DNA. *Genetics and Molecular Research*. 9(1): 471-483.
- Tandhavadhana, S. and Chayan P. 2019. Reduction of Colchicine Content from Radix Gloriosae Superbae Preparata. *Pharmacognosy Journal*. 11(2): 310-314.

- Wang, J., Spurthi N., Karen K., and Ray M. 2013. Carbon partitioning in sugarcane (*Saccharum* sp.). *Frontiers in Plant Science*. 4(201): 201.
- Williams, J.G., Kubelik, A.R., Livak, K.J., Rafalsky, J.A., and Tingev, S.V. 1990. *DNA polymorphism amplified by arbitrary 75 primers are useful as genetic markers*. *Nucleic Acid Research* 18. ISSN: 6531 – 6535.
- Xu, Zhenzu and Zhou, G. 2008. Responses of leaf stomatal density to water status and its relationship with photosynthesis in a grass. *Journal of Experimental Botany*. 59(12): 3317–3325.
- Yuwonto, T. 2005. *Biologi Molekuler*. Erlangga. Yogyakarta.
- Yusuf, Z.K. 2010. Polymerase Chain Reaction (PCR). *Jurnal Sainstek*. 5(2): 1-6.
- Zhang, Q., Zhang, F., Li B., Zhang, L., and Shi, H. 2016. Production of tetraploid plants of *Trollius chinensis* Bunge induced by colchicine. *Czech Journal. Genetic Plant Breeding*. 52: 34–38.