

**IDENTIFIKASI PERUBAHAN KARAKTER STOMATA, KADAR  
KLOOROFIL, DAN MOLEKULER PADA TEBU (*Saccharum officinarum*  
L.) MUTAN VARIETAS GM047 DAN GMP6 DI PT GUNUNG MADU  
PLANTATIONS**

**(Skripsi)**

**Oleh**

**DAVID ASADUDIN**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2023**

## ABSTRAK

### IDENTIFIKASI PERUBAHAN KARAKTER STOMATA, KADAR KLOOROFIL, DAN MOLEKULER PADA TEBU (*Saccharum officinarum* L.) MUTAN VARIETAS GM047 DAN GMP6 DI PT GUNUNG MADU PLANTATIONS

Oleh

DAVID ASADUDIN

Tebu (*Saccharum officinarum* L.) adalah tanaman yang digunakan sebagai bahan baku industri gula. Permintaan gula setiap tahunnya mengalami peningkatan namun belum diikuti dengan peningkatan produktivitas. Salah satu upaya dalam meningkatkan produktivitas tebu yaitu dengan melakukan pemuliaan tanaman dengan kolkisin untuk memperoleh tebu unggulan. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi dan menganalisis perubahan karakter stomata, kadar klorofil, dan molekuler tebu mutan varietas GM047 dan GMP6 tersebut terhadap potensi peningkatan laju fotosintesis, serta memperoleh mutan unggulan. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium PCR dan Alur Semai PT Gunung Madu Plantations (GMP) pada bulan Maret-Juli 2022. Perlakuan disusun dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial dengan 4 ulangan. Faktor pertama yaitu konsentrasi kolkisin dengan 4 taraf (0 ppm, 0,1 ppm, 0,5 ppm, dan 1 ppm). Faktor yang kedua yaitu lama genangan (1 hari dan 2 hari). Data karakter kadar klorofil dan stomata dianalisis menggunakan uji *Least Significant Difference* (LSD) taraf 5%. Data karakter molekuler dianalisis secara deskriptif dan dilakukan skoring untuk pembuatan dendogram kekerabatan antar mutan dengan metode *Unweighted Pair-Group With Arithmetic Average* (UPGMA). Hasil dari penelitian ini yaitu mutan varietas GM047 mengalami perubahan pada karakter stomata, kadar klorofil dan molekuler yang bervariasi, sedangkan pada mutan varietas GMP6 mengalami perubahan stomata yang semakin luas dan bukaan yang lebih lebar serta kadar klorofil yang meningkat, dan menunjukkan variasi genetik secara karakter molekuler. Perubahan tersebut berpotensi meningkatkan laju fotosintesis. Kemudian diperoleh mutan unggulan M5 pada mutan varietas GM047 dan M9, M10, M13, M20, M24 pada mutan varietas GMP6.

Kata kunci: Tebu (*Saccharum officinarum* L.), kolkisin, stomata, klorofil, molekuler

**IDENTIFIKASI PERUBAHAN KARAKTER STOMATA, KADAR  
KLOROFIL, DAN MOLEKULER PADA TEBU (*Saccharum officinarum*  
L.) MUTAN VARIETAS GM047 DAN GMP6 DI PT GUNUNG MADU  
PLANTATIONS**

**Oleh**

David Asadudin

**Skripsi**

**Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar  
SARJANA SAINS**

**Pada**

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



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2023**

Judul Penelitian : **IDENTIFIKASI PERUBAHAN KARAKTER STOMATA, KADAR KLOOROFIL DAN MOLEKULER PADA TEBU (*Saccharum officinarum* L.) MUTAN VARIETAS GM047 DAN GMP6 DI PT GUNUNG MADU PLANTATIONS.**

Nama Mahasiswa : **David Asadudin**

NPM : 1917061009

Jurusan : Biologi

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



**Menyetujui,**  
Komisi Pembimbing

Pembimbing I

Pembimbing II

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

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

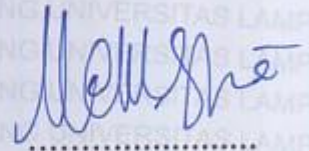
**Mengetahui,**  
Ketua Jurusan Biologi FMIPA Unila

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

**MENGESAHKAN**

**1. Tim Penguji:**

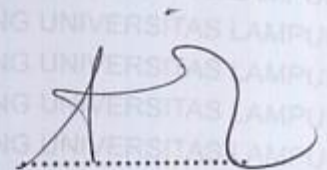
**Ketua : Dr. Mahfut, S.Si., M.Sc.**



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



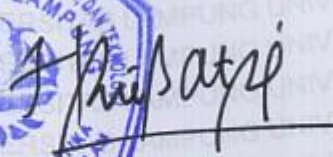
**Penguji  
Bukan Pembimbing : Dra. Tundjung Tripeni H., M.S.**



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



**Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si**  
NIP. 197110012005111002



**Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 28 Maret 2023**

## SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : David Asadudin  
NPM : 1917061009

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 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, 30 Maret 2023

Yang menyatakan



David Asadudin

NPM. 1917061009

## RIWAYAT HIDUP



**David Asadudin**, atau akrab disapa David ketika masa kuliah dan dudin ketika masa SMA, lahir di Tanjung Kurung, 25 Desember 2000. Penulis merupakan anak pertama dari pasangan Bapak Sakiran Yuhandi dan Ibu Ponia.

Penulis menempuh pendidikan pertamanya di TK Maarif Bandar Sari 2006 dan melanjutkan pendidikan dasar di SDN 1 Bandar Sari tahun 2007-2013 dan melanjutkan jenjang pendidikannya di SMPN 1 Padang Ratu dan selesai pada tahun 2016. Penulis melanjutkan jenjang pendidikannya di SMAN 1 Kalirejo 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, dan Teknik Biomolekuler, Fitopatologi, Biologi FMIPA Unila. Selain itu, penulis juga aktif mengikuti organisasi seperti Himpunan Mahasiswa Biologi (HIMBIO) sebagai Ketua Umum periode 2021 dan wakil koordinator 2 IKAHIMBI wilayah kerja 2, anggota Paguyuban Hidroponik dan PMII Rayon MIPA Unila sebagai anggota.

Selama menjadi mahasiswa, penulis menerima dana hibah Program Wirausaha Mahasiswa (PWM) periode 2020 dan menjadi wirausahawan muda pemula (WMP) FMIPA Unila. Kemudian mendirikan usaha Gondrong Hidroponik 18 Mei 2020, serta menjadi delegasi Kampus Mengajar 2 di SDN 2 Kuripan.

Penulis melaksanakan Praktik Kerja Lapangan (PKL) di PT Gunung Madu Plantations pada bulan Januari-Februari 2022 dengan judul **“Gambaran Pemeriksaan Real Time Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) Berdasarkan Jenis Kelamin”** dan melakukan penelitian mengenai **“Identifikasi Perubahan Karakter Stomata, Kadar Klorofil, dan Molekuler Tebu (*Saccharum Officinarum* L.) Mutan Varietas GM047 dan GMP6 Di PT Gunung Madu Plantations”** serta melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Sinar Petir, Kec. Talang Padang, Kab. Tanggamus, Lampung, pada Juni – Agustus 2022



## **PERSEMBAHAN**

Dengan mengucap syukur kehadirat 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 Sakiran dan Ibu Ponia 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**

**“Orang Tua Segalanya”**

**(Penulis)**

**“Gaji yang besar tidak dapat membeli momen bersama keluarga”**

**(Ibu Penulis)**

**Berhati-hatilah dalam Berbicara**

**(Ayah Penulis)**

**Apapun yang terjadi pasti ada sesuatu yang baik**

**(Penulis)**

**Berpasrah dengan keadaan tidak akan merubah apapun**

**(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 **“Identifikasi Perubahan Karakter Stomata, Kadar Klorofil, dan Molekuler Tebu (*Saccharum Officinarum L.*) Mutan Varietas GM047 dan GMP6 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 Sakiran dan Ibu Ponia 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 Dra. Tundjung Tripeni H., M.S. 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 Gina Dania Pratami, S.Si., M.Si. 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 Ibu Gina Dania Pratami, S.Si., M.Si. selaku ketua program studi S1 Biologi Terapan FMIPA Universitas Lampung
- 8 Bapak Dr. Jani Master, S.Si., M.Si., selaku ketua jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung;
- 9 Bapak Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si. selaku Plt. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
- 10 Ibu Prof. Dr. Ir. Lusmeilia Afriani, D.E.A., I.P.M. selaku Rektor Universitas Lampung.
- 11 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.
- 12 PT. Gunung Madu Plantations yang telah memberikan kesempatan penelitian kepada penulis.
- 13 Aryan Yuhandi Putera, Imron Mawardi, Maulidya, Octary Permata, dan Denada Iqlima selaku rekan seperjuangan selama menjalankan penelitian yang telah membantu, mendukung, memberikan motivasi, berbagi keluhan, dan menghibur penulis;
- 14 Karyawan dan teman-teman Laboratorium PCR, serta Lapangan yang telah banyak membantu dan berbagi cerita selama penelitian di PT Gunung Madu Plantations (GMP).

- 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 Teman-teman seperjuangan kepengurusan HIMBIO FMIPA Unila 2021, terima kasih untuk rasa kekeluargaan yang terjalin selama ini;
- 17 Teman-teman Kampus Mengajar 2 SDN 2 Kuripan yang selama 5 bulan menjalani kebersamaan mengabdikan;
- 18 Teman-teman KKN Desa Sinar Petir yang telah menjalani kebersamaan selama 40 hari dan terjun langsung ke masyarakat;
- 19 Teman-teman HIDROPONIKERS yang sudah saling berbagi ilmu untuk usaha Gondrong Hidroponik.
- 20 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;
- 21 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, 30 Maret 2023

Penulis,

**David Asadudin**  
NPM.1917061009

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>i</b>
<b>ABSTRAK .....</b>	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN.....</b>	<b>iii</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>iv</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>v</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>vi</b>
<b>I. PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Tujuan Penelitian .....	3
1.3 Manfaat Penelitian .....	3
1.4 Kerangka Pikir .....	3
1.5 Hipotesis Penelitian.....	4
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>5</b>
2.1 Tebu ( <i>Saccharum officinarum</i> L.).....	5
2.1.1 Klasifikasi Tebu .....	5
2.1.2 Deskripsi Umum, Distribusi, dan Habitat Tebu.....	5
2.2 Varietas Tebu .....	7
2.2.1 Varietas GM047 .....	7
2.2.2 Varietas GMP6.....	8
2.3 Induksi Kolkisin dalam Pemuliaan Tebu .....	8
2.4 Karakter Stomata.....	9
2.5 Karakter Kadar Klorofil .....	10
2.6 Karakter Molekuler .....	11
2.7 <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR).....	12
<b>III. METODE PENELITIAN .....</b>	<b>14</b>
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian .....	14
3.2 Alat dan Bahan .....	14
3.3 Metode Penelitian.....	15

3.4 Bagan Alir Penelitian .....	16
3.5 Pelaksanaan Kegiatan.....	17
3.5.1 Pengukuran Kadar Klorofil .....	17
3.5.2 Pengambilan Sampel Tebu.....	17
3.5.3 Pengamatan Stomata .....	17
3.5.4 Pengamatan Molekuler.....	16
3.6 Analisis data .....	20
3.6.1 Analisis Data Klorofil .....	20
3.6.2 Analisis Data Stomata .....	21
3.6.3 Analisis Data Molekuler .....	21
<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>22</b>
4.1 Hasil .....	22
4.1.1 Pengamatan Karakter Stomata .....	22
4.1.2 Pengamatan Karakter Kadar Klorofil.....	25
4.1.3 Data Karakter Stomata dan Kadar Klorofil Pada Masing-Masing Mutan Varietas GM047 dan GMP6 .....	27
4.1.4 Pengamatan Karakter Molekuler.....	32
4.2 Pembahasan.....	38
4.2.1 Pengamatan Karakter Stomata .....	38
4.2.2 Pengamatan Karakter Kadar Klorofil.....	40
4.2.3 Data Karakter Stomata dan Kadar Klorofil Pada Masing-Masing Mutan Varietas GM047 dan GMP6 .....	41
4.2.1 Pengamatan Karakter Molekuler.....	42
<b>V. KESIMPULAN.....</b>	<b>44</b>
5.1 Kesimpulan.....	44
5.2 Saran.....	44
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>45</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>51</b>
Lampiran 1. Dokumentasi Penelitian .....	52
Lampiran 2. Hasil Analisis Data .....	54

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Morfologi Tebu ( <i>Saccharum officinarum</i> L.).....	7
Gambar 2. Struktur Kimia Kolkisin .....	9
Gambar 3. Bagan Alir Penelitian.....	16
Gambar 4. Perbandingan Anatomi Stomata Mutan Varietas GM047 dan GMP6 Dengan Kontrol. ....	23
Gambar 5. Profil DNA Produk PCR .....	33
Gambar 6. Pohon Kekerabatan Mutan Varietas GM047.....	35
Gambar 7. Pohon Kekerabatan Mutan Varietas GMP6 .....	37
Gambar 8. Bersama Analisis Lab. PCR.....	52
Gambar 9. Pembuatan Sayatan.....	52
Gambar 10. Preparasi Pengambilan Sampel . ....	52
Gambar 11. Uji Kemurnian DNA .....	52
Gambar 12. Perawatan Sampel Tebu .....	52
Gambar 13. Uji Kuantitatif DNA .....	52
Gambar 14. Mutan Unggulan Varietas GMP6.....	53
Gambar 15. Mutan Unggulan Varietas GM047 .....	53



## DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 1. Sekuens Primer Amplifikasi PCR .....	15
Tabel 2. Kelompok Perlakuan .....	15
Tabel 3. Uji Statistik Manova GM047 .....	23
Tabel 4. Uji Statistik Manova GMP6 .....	24
Tabel 5. Uji LSD Parameter Lebar Bukaan Stomata dan Luas Stomata .....	25
Tabel 6. Uji Statistik ANOVA Karakter Kadar Klorofil GM047 .....	26
Tabel 7. Uji Statistik ANOVA Karakter Kadar Klorofil GMP6 .....	26
Tabel 8. Uji LSD Karakter Kadar Klorofil GMP6 .....	27
Tabel 9. TabulasiData Karakter Stomata dan Kadar Klorofil Masing-Masing Mutan Varietas GM047 .....	28
Tabel 10. Hubungan Karakter Stomata dan Kadar Klorofil dengan Karakter Morfologi Varietas GM047 .....	29
Tabel 11. TabulasiData Karakter Stomata dan Kadar Klorofil Masing-Masing Mutan Varietas GM047 .....	30
Tabel 12. Hubungan Karakter Stomata dan Kadar Klorofil dengan Karakter Morfologi Varietas GMP6 .....	31
Tabel 13. Nilai PIC dan Polimorfik Primer .....	34
Tabel 14. Uji Korelasi Karakter Stomata dan Karakter Kadar Klorofil .....	53
Tabel 15. Kemurnian DNA Varietas GMP6 .....	53
Tabel 16. Kemurnian DNA Varietas GM047 .....	54
Tabel 17. Indeks Similaritas Mutan Varietas GMP6 .....	55
Tabel 18. Indeks Similaritas Mutan Varietas GM047 .....	56

## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Tebu (*Saccharum officinarum* L.) adalah tanaman yang digunakan sebagai bahan baku industri gula. Gula termasuk salah satu komoditas pokok yang diperlukan dalam kehidupan sehari-hari. Lampung termasuk salah satu provinsi pemasok gula pasir nasional dengan jumlah rata-rata produksi sebesar 759,935 ton atau menyumbang 29,09% dari produksi gula nasional (Pusat Data Sistem Informasi Pertanian, 2016). Berdasarkan data tahun 2014 -2019 produksi gula secara nasional mengalami penurunan menjadi 21,03 % atau sekitar 3,51% setiap tahunnya yang disebabkan oleh kekurangan bibit unggul dan penurunan lahan (Dianpratiwi dkk., 2020). Salah satu upaya untuk meningkatkan produktivitas tebu dapat dilakukan dengan pembuatan bibit tebu unggul hasil pemuliaan tanaman.

PT Gunung Madu Plantations (GMP) merupakan perusahaan pemasok gula nasional sekaligus perkebunan yang melakukan budidaya tebu di Lampung. Perusahaan ini membudidayakan beberapa varietas tebu, seperti GM047 dan GMP6. Tetapi kedua varietas tersebut belum menghasilkan produktivitas gula yang tinggi sehingga diperlukan perakitan bibit tebu unggul hasil pemuliaan tanaman. Salah satu upaya pemuliaan tanaman dapat dilakukan menggunakan induksi mutagen kolkisin .

Kolkisin adalah senyawa alkaloid yang mempengaruhi penyusunan mikrotubula. Salah satu efeknya adalah penggandaan jumlah kromosom

tanaman atau terbentuknya tanaman poliploid. Sifat umum yang ditampilkan oleh tanaman poliploid adalah tanaman menjadi lebih kekar, ukuran sel, stomata, batang yang semakin besar (Sirojuddin dkk., 2017). Pembentukan kromosom yang poliploidi bertujuan untuk meningkatkan kualitas dan memperbaiki sifat dari tanaman secara kualitatif dan kuantitatif dalam meningkatkan produktivitas (Aili dkk., 2016). Potensi hasil tanaman dikendalikan oleh banyak gen (poligenik) sehingga penggunaan kolkisin dapat menambah gen yang dihasilkan (Ramdhani dkk., 2013). Dengan adanya induksi kolkisin ini, diharapkan dapat menghasilkan tebu mutan unggul sehingga dapat meningkatkan produktivitas gula. PT GMP sudah melakukan pengembangan varietas tebu unggul varietas GM047 dan GMP6 yang diinduksi kolkisin. Tetapi sejauh ini, identifikasi varietas tersebut hanya dilakukan berdasarkan karakter morfologi dan belum dilakukan identifikasi berdasarkan karakter stomata, kadar klorofil, dan molekuler.

Beberapa penelitian sebelumnya telah dilakukan pengaruh induksi kolkisin pada tebu. Hartati (2018) yang melaporkan penggandaan kromosom hasil perlakuan induksi kolkisin, ditunjukkan dengan penghambatan pertumbuhan tunas kalus tebu. Penelitian serupa juga dilakukan oleh Aili (2016) yang melaporkan bahwa jagung (*Zea mays* L.) yang diinduksi kolkisin dengan konsentrasi 0.5 ppm – 1 ppm secara sitologi memiliki ukuran sel dan stomata yang lebih besar serta kandungan klorofil yang lebih tinggi dilihat dari daun yang berwarna hijau pekat. Pangaribuan (2020) juga melaporkan tanaman marigold (*Tagetes erecta* L.) hasil induksi kolkisin dengan konsentrasi 0,1 ppm -0,5 ppm secara molekuler menggunakan penanda *Random Amplified Polimorphism* DNA (RAPD) menunjukkan pita polimorfik dengan persentase 90% -100% menggunakan 3 primer dan ukuran pita berkisar 306-702 bp.

Berdasarkan uraian, penulis mengajukan penelitian “Identifikasi Perubahan Karakter Stomata, Kadar Klorofil, dan Molekuler Pada Tebu (*Saccharum officinarum* L.) Mutan Varietas GM047 di PT. Gunung Madu Plantations” yang diharapkan dapat menjadi acuan pemuliaan tanaman dan menghasilkan varietas tebu unggulan secara karakter stomata, kadar klorofil, dan molekuler.

## 1.2 Tujuan

Adapun tujuan dilakukannya penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Mengidentifikasi perubahan karakter stomata, kadar klorofil, molekuler tebu (*Saccharum officinarum* L.) mutan varietas GM047 dan GMP6 di PT Gunung Madu Plantations.
2. Menganalisis dampak perubahan karakter stomata dan kadar klorofil tebu (*Saccharum officinarum* L.) mutan varietas GM047 dan GMP6 terhadap laju fotosintesis di PT Gunung Madu Plantations.
3. Memperoleh tebu (*Saccharum officinarum* L.) mutan unggul pada mutan varietas GM047 dan GMP6 di PT Gunung Madu Plantations.

## 1.3 Manfaat

Adapun manfaat dilakukannya penelitian ini yaitu

1. Memberikan informasi ilmiah perkembangan ilmu pengetahuan, khususnya pemuliaan tebu (*Saccharum officinarum* L.) menggunakan mutagen kolkisin.
2. Memperoleh tebu (*Saccharum officinarum* L.) mutan unggul pada mutan varietas GM047 dan GMP6.

## 1.4 Kerangka Pikir

Tebu (*Saccharum officinarum* L.) termasuk tanaman yang digunakan sebagai bahan baku produksi gula. Produktivitas tebu mengalami penurunan sedangkan permintaan gula semakin meningkat tiap tahunnya di Indonesia. Hal ini juga dialami oleh PT Gunung Madu Plantations (GMP) sebagai salah satu pemasok gula nasional mengalami penurunan produktivitas yang disebabkan oleh kekurangan varietas bibit unggul. Permasalahan tersebut dapat diatasi pemuliaan tanaman untuk memperoleh varietas bibit unggul yang dapat meningkatkan produktivitas tebu. Produktivitas tebu berhubungan dengan gula yang dihasilkan dari proses fotosintesis yang didukung oleh stomata dan kadar klorofil yang meningkat. Salah satu cara untuk

meningkatkan produktivitas tebu tersebut dengan memperbanyak gen dengan menggunakan agen mutan, seperti kolkisin. Kolkisin dapat membantu tanaman untuk penggandaan kromosom, sehingga dapat diperoleh varietas tebu mutan yang diharapkan memiliki potensi laju fotosintesis yang meningkat. PT GMP sudah melakukan pengembangan varietas tebu unggul varietas GM047 dan GMP6 yang diinduksi kolkisin. Tetapi sejauh ini, identifikasi varietas tersebut hanya dilakukan berdasarkan karakter morfologi dan belum dilakukan identifikasi berdasarkan karakter stomata, kadar klorofil dan molekuler. Oleh karena itu dilakukan penelitian “Identifikasi Perubahan Karakter Stomata, Kadar Klorofil, dan Molekuler Pada Tebu (*Saccharum officinarum* L.) Mutan Varietas GM047 dan GMP6 di PT Gunung Madu Plantations” yang diharapkan dapat menghasilkan varietas tebu unggulan secara stomata, kadar klorofil dan molekuler.

### **1.5 Hipotesis Penelitian**

1. Terdapat perubahan karakter stomata, kadar klorofil, dan molekuler tebu (*Saccharum officinarum* L.) pada mutan varietas GM047 dan GMP6 di PT Gunung Madu Plantations.
2. Terdapat Perubahan karakter stomata, dan kadar klorofil tebu (*Saccharum officinarum* L.) pada mutan varietas GM047 dan GMP6 di PT Gunung Madu Plantations yang berpotensi meningkatkan laju fotosintesis.
3. Terdapat tebu (*Saccharum officinarum* L.) mutan unggul pada mutan varietas GM047 dan GMP6 di PT Gunung Madu Plantations hasil perlakuan kolkisin.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

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

#### 2.1.1 Klasifikasi

Tebu (*Saccharum officinarum* L.) termasuk kedalam famili Poaceae yaitu kelompok padi-padian. Adapun klasifikasi tebu menurut Steenis (2006), adalah sebagai berikut :

Kingdom : Plantae

Divisio : Magnoliophyta

Classis : Liliopsida

Ordo : Poales

Familia : Poaceae

Genus : *Saccharum*

Spesies : *Saccharum officinarum* L.

#### 2.1.2 Deskripsi Umum, Distribusi dan Habitat

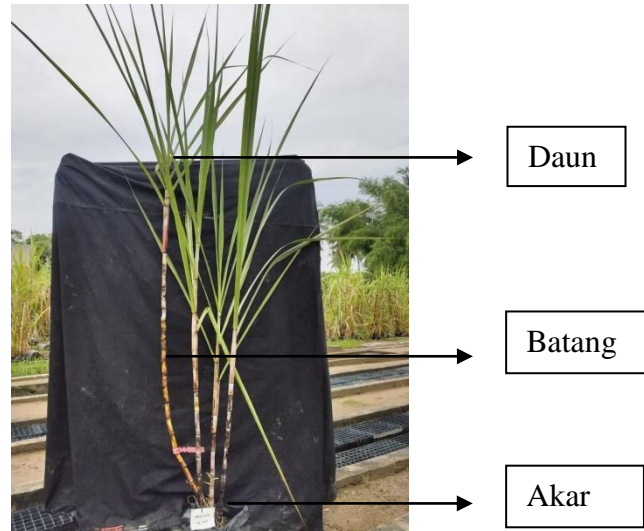
Tebu merupakan tanaman perkebunan semusim yang memiliki kandungan gula pada bagian batang. Menurut Taringan dan Sinulingga (2006) varietas tebu yang umum dibudidayakan merupakan hasil pemuliaan antara tebu liar atau galgah (*Saccharum spontaneum* L.) dan tebu tanam (*Saccharum officinarum* L.) atau hasil berbagi jenis tebu. Purnama (2006) menyatakan tebu dapat ditanam di daratan rendah sampai di daratan tinggi dengan ketinggian 0-1400

meter di atas permukaan laut. Tebu membutuhkan curah hujan yang tinggi pada fase pertumbuhan vegetatif. Curah hujan yang tinggi setelah fase vegetatif akan menurunkan rendeman gula. Batang tebu mengandung serat dan kulit batang (12,5%), dan nira yang terdiri dari air, gula, mineral dan bahan-bahan non gula lainnya (87,5%), tanaman ini bisa dipanen dibawah umur 1 tahun (Nasir, 2013).

Tebu tumbuh pada berbagai jenis tanah seperti tanah alluvial, grumosol, latosol dan regusol yang memiliki pH 6 – 7,5 tetapi masih toleran dibawah 8,5 atau diatas 4,5. Tebu dapat hidup pada lahan marginal yang mempunyai curah hujan antara 1.000 – 1.300 mm per tahun dengan sekurang-kurangnya 3 bulan kering dengan suhu ideal 24°C – 34°C. Tebu tumbuh pada kondisi tanah yang tidak terlalu kering dan tidak terlalu basah.

Steenis (2006) menyebutkan bahwa tebu memiliki morfologi yang tidak jauh berbeda dengan tumbuhan yang berasal dari famili rumput-rumputan, tanaman ini memiliki ketinggian sekitar 2-5 meter dan morfologi tebu secara garis besar dapat dikelompokkan menjadi 4 bagian, yaitu : a) akar berbentuk serabut, tebal dan berwarna putih, b) batang berbentuk ruas-ruas yang dibatasi oleh buku-buku, agak pipih, berwarna hijau kekuningan, c) daun berbentuk pelepah dengan panjang 1-2 m dan lebar 4-8 cm, permukaan kasar dan berbulu, berwarna hijau kekuningan hingga hijau tua, d) bunga berbentuk bunga mejemuk dengan panjang sekitar 30 cm. Menurut Indrawanto (2010) daun tebu adalah daun tidak lengkap, karena terdiri dari helai daun dan pelepah daun saja, sedangkan tangkai berpangkal pada buku. Panjang helaian daun antara 1-2 meter dan tebalnya 4-7 cm, ujungnya meruncing dan tepinya bergerigi tajam.

Secara lengkap morfologi tebu (*Saccharum officinarum* L.) ditampilkan pada Gambar 1.



**Gambar 1.** Morfologi Tanaman Tebu Varietas GMP6 (Dokumentasi Pribadi, 2022).

## 2.2 Varietas Tebu

Varietas tebu di Indonesia sangatlah beragam, hal ini menentukan pertumbuhan dan produktivitas setiap hektar perkebunan. Hal itu terjadi karena setiap varietas mempunyai karakteristik tersendiri yang merupakan genetik dari tanaman. Beberapa hal yang harus diperhatikan dalam membudidayakan tebu adalah daya tahan terhadap hama dan penyakit, banyaknya rendemen yang dihasilkan, jumlah anakan, daya adaptasi terhadap lingkungan, serta respon terhadap pupuk yang diberikan (Iriyanto, 2019).

### 2.2.1 Varietas GM047

Varietas tebu GM047 merupakan salah satu varietas yang dikembangkan oleh PT GMP. Varietas ini memiliki karakter morfologi yaitu lengkung helai daun dengan panjang  $1/3 - 1/2$  daun yang berwarna hijau dengan lebar daun 4 - 5 cm (sedang) dan memiliki panjang telinga daun 1 kali lebarnya (lemah) serta memiliki kedudukan telinga daun yang serong. Varietas GM047 memiliki warna batang hijau keunguan dengan diameter batang 2,5 - 3 cm (sedang), memiliki susunan ruas



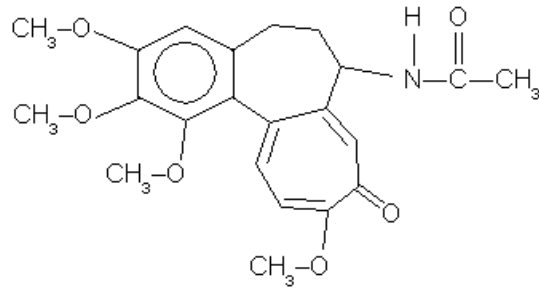
yang lurus, dengan bentuk ruasnya silindris, panjang ruas 13 - 15 cm (sedang), memiliki cicin akar yang terletak tidak sampai diatas mata serta dengan jumlah mata akar 2 - 3 baris. Varietas GM047 memiliki kedudukan mata yang terletak pada bekas pelepah daun, dengan bentuk mata bulat telur, serta memiliki warna pelepah daun hijau (Simamora dkk., 2021).

### **2.2.2 Varietas GMP6**

Varietas GMP6 merupakan salah satu varietas unggul hasil persilangan yang berhasil dilakukan oleh PT GMP setelah melalui proses seleksi panjang. Varietas GMP6 mempunyai ciri-ciri morfologi yaitu batang yang berwarna hijau keungunan, diameter batang sekitar 2 - 2,4 cm. GMP6 mempunyai susunan ruas yang lurus, berbentuk silindris, dengan panjang ruas antara 13 - 15 cm, cincin akar tidak sampai diatas mata dengan jumlah mata akarnya 2 - 3 baris, kedudukan mata pada bekas pelepah daun yang memiliki bentuk bulat telur. Daun varietas GMP6 berwarna hijau dengan lengkung helai daun  $1/3 - 1/2$  daun dan lebar  $> 5$  cm. Panjang telinga daun 2 - 3 kali lebarnya (Simamora dkk.,2021).

## **2.3 Induksi Kolkisin dalam PemuliaanTebu**

Salah satu metode untuk meningkatkan keragaman genetik adalah dengan pemuliaan mutasi (*mutation breeding*). Mutagen yang dapat digunakan salah satunya yaitu kolkisin. Kolkisin merupakan suatu senyawa yang berasal dari ekstrak biji *Colchicum autumnale* yang mampu menginduksi tanaman menjadi poliploidi. Secara kimia mutasi dapat dilakukan dengan menggunakan mutagen kolkisin (Hartati *et al.*, 2018). Kolkisin termasuk senyawa alkaloid toksik dan bersifat karsinogen yang memiliki struktur kimia  $C_{22}H_{25}NO_6$  yang secara lengkap pada Gambar 2.



**Gambar 2.** Struktur Kimia Kolkisin (Barceloux, 2012).

Kolkisin berperan sebagai inhibitor mitosis, yang menghambat pembentukan benang spindel dan mengakibatkan tanaman menjadi poliploidi. Sifat poliploidi menyebabkan gen yang dihasilkan oleh tanaman menjadi banyak sehingga berpotensi meningkatkan produktivitas tebu karena dikendalikan oleh banyak gen. Perubahan tanaman poliploidi yang diakibatkan oleh kolkisin dapat dilihat melalui pendekatan stomata, klorofil dan molekuler. Selain itu, penggunaan kolkisin digunakan sebagai bahan pemuliaan tanaman (Aili dkk., 2016). Induksi kolkisin telah banyak dilakukan salah satunya dilakukan oleh Zhang *et al.* (2010) pada melon simadu dan jeruk simadu (Yulianti dkk., 2015) menghasilkan tetua dengan kualitas unggul. Penelitian serupa juga dilakukan oleh Syaifudin dkk. (2013) pada tanaman cabai dan dapat meningkatkan produktivitas.

#### 2.4 Karakter Stomata

Stomata merupakan kombinasi dari dua sel penutup yang terdiri dari sel-sel epidermis khusus terletak di epidermis daun, terdapat pula lubang diantara dua sel penutup yang disebut dengan porus stomata (Palit, 2008). Stomata merupakan derivat epidermis berfungsi didalam proses pertukaran gas CO<sub>2</sub> selama proses respirasi yang nantinya akan digunakan untuk bahan fotosintesis. Disamping itu stomata juga berfungsi untuk mengatur hilangnya air melalui proses transpirasi. Pengendalian kehilangan air sangat penting guna menghindari dehidrasi daun karena transpirasi yang berlebihan (Izza dan Laily, 2015).

Jumlah stomata erat kaitannya dengan kerapatan stomata, semakin tinggi jumlah stomata maka semakin tinggi juga kerapatan stomatanya. Hal ini berpeluang mempengaruhi fotosintesis dan transpirasi. Seperti menurut Das (2002) kerapatan dan jumlah stomata serta ukuran stomata yang lebih besar pada mangrove berpengaruh terhadap penyerapan gas karbon dan laju fotosintesis. Penelitian sebelumnya dilakukan oleh Aili dkk. (2016) pada galur hibrida jagung pakan (*Zea mays* L.) yang diinduksi kolkisin memiliki kerapatan stomata yang lebih rendah namun ukuran stomata yang lebih besar. Hasil penelitian yang sama juga diperoleh pada penelitian yang dilakukan oleh Rochmah dkk. (2017) pada tanaman Zaitun (*Olea europaea* L.).

## 2.5 Kadar Klorofil

Klorofil merupakan pigmen hijau yang ditemukan pada daun tanaman dan berfungsi untuk menangkap cahaya matahari. Peningkatan jumlah klorofil dapat mengakibatkan cahaya yang diterima tanaman semakin meningkat sehingga mampu mempercepat laju fotosintesis (Anonim, 2016). Putri *et al.* (2016) menjelaskan bahwa nilai klorofil memiliki hubungan erat dengan kesehatan dan kesuburan tanaman. Tanaman yang subur dan tercukupi nutrisi akan terlihat hijau pada daunnya, jika tanaman subur maka produktivitas tanaman akan meningkat (Cen *et al.*, 2006).

Kandungan kadar klorofil dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti ketersediaan air, dan unsur N pada tanah. Jika tanaman memiliki kadar klorofil yang rendah maka akan mempengaruhi laju fotosintesis. Salisbury dan Ross (1992) menyatakan bahwa tanaman dengan kekurangan air memiliki kadar klorofil yang rendah dan berdampak terhadap penurunan laju fotosintesis. Penelitian sebelumnya dilakukan oleh Aili dkk. (2016) pada galur hibrida jagung pakan (*Zea mays* L.) yang diinduksi kolkisin menghasilkan tanaman dengan kadar klorofil yang lebih tinggi dilihat dari warna hijau daun yang lebih pekat. Penelitian serupa juga dilakukan oleh Damayanti dkk. (2012) yang menghasilkan tanaman dengan kloroplas yang lebih banyak sehingga berdampak terhadap kadar klorofil yang lebih tinggi.

## 2.6 Karakter Molekuler

Keragaman genetik yang disebabkan oleh penggandaan jumlah kromosom (fusiendomitosis), perubahan struktur kromosom (pindah silang), perubahan gen, dan sitoplasma dapat diketahui melalui bantuan penanda molekuler (Hutami dkk., 2006). Penerapan teknologi penanda molekuler berperan untuk memonitor variasi susunan DNA dalam spesies tanaman (Pabendon, 2004). Salah satu penanda molekuler yang umum digunakan antara lain *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD).

Teknik RAPD banyak digunakan karena lebih murah, cepat, dan mudah dalam pengerjaannya dibandingkan penanda lainnya (Bardakci, 2001). Teknik ini digunakan untuk identifikasi genotip dalam studi taksonomi tanaman (Nezhad *et al.*, 2010) serta digunakan untuk melihat perbedaan genetik masing-masing individu. Teknik RAPD memiliki kelemahan yaitu tingkat keberulangannya (*reproducibility*) yang rendah, namun hal ini dapat diatasi dengan konsistensi kondisi PCR yang sesuai, terutama suhu primer saat menempel pada DNA *template* (Prana dan Hartati, 2003).

Teknik RAPD membutuhkan amplifikasi daerah genom tertentu dari suatu organisme. Amplifikasi ini membutuhkan primer spesifik yaitu sekuen oligonukleotida khusus untuk daerah tersebut. Keberhasilan teknik ini lebih didasarkan kepada kesesuaian primer dan optimasi proses PCR. Primer yang tidak spesifik dapat menyebabkan teramplifikasinya daerah lain dalam genom yang tidak dijadikan sasaran atau sebaliknya tidak ada daerah genom yang teramplifikasi. Optimasi PCR juga diperlukan untuk menghasilkan karakter yang diinginkan. Optimasi ini terkait suhu *denaturation* dan *annealing* DNA dalam mesin PCR (Suryanto, 2003).

## 2.7 Polymerase Chain Reaction (PCR)

*Polymerase Chain Reaction (PCR)* adalah suatu metode enzimatik untuk amplifikasi DNA dengan cara *in vitro*. Proses PCR diperlukan beberapa komponen utama, yaitu DNA *template*, oligonukleotida primer, deoksiribonukleotida trifosfat (dNTP), Enzim DNA polimerase, dan senyawa *buffer*.

Yusuf (2010) menjelaskan ada tiga tahapan penting dalam proses PCR yang selalu terulang dalam 30-40 siklus dan berlangsung dengan cepat yaitu sebagai berikut.

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

Dalam proses PCR, denaturasi dilakukan sebelum enzim *Taq polymerase* ditambahkan ke dalam tabung reaksi. Denaturasi DNA merupakan proses pembukaan DNA untai ganda menjadi DNA untai tunggal. Biasanya berlangsung sekitar 3 menit, untuk meyakinkan molekul DNA terdenaturasi menjadi DNA untai tunggal. Denaturasi yang tidak lengkap mengakibatkan DNA mengalami renaturasi (membentuk DNA untai ganda lagi) secara cepat dan akan mengakibatkan gagalnya proses PCR. Waktu denaturasi yang terlalu lama juga dapat mengurangi aktifitas enzim *Taq polymerase*.

### 2. Penempelan Primer (*Annealing*).

Kriteria yang umum digunakan untuk merancang primer yang baik adalah bahwa primer sebaiknya berukuran 18-25 basa, mengandung 50-60% G+C dan untuk kedua primer tersebut sebaiknya sama. Sekuens DNA dalam masing-masing primer juga sebaiknya tidak saling berkomplemen, karena akan mengakibatkan terbentuknya struktur sekunder pada primer dan mengurangi efisiensi PCR. Waktu *annealing* yang biasa digunakan adalah 30-45 detik. Semakin panjang ukuran primer maka semakin tinggi temperturnya. Kisaran temperatur yang digunakan pada tahap ini adalah antara 36°C - 72°C.

### 3. Pemanjangan Primer (*Extention*)

Selama tahap ini *Taq polymerase* memulai aktivitasnya memperpanjang DNA primer dari ujung 3'. Kecepatan penyusunan nukleotida oleh enzim ini pada suhu 72°C diperkirakan 35-100 nukleotida/detik, tergantung pada *buffer*, pH, konsentrasi garam, dan molekul DNA target. Untuk produk PCR dengan panjang 2000 pasang basa, waktu 1 menit sudah lebih dari cukup untuk tahap perpanjangan primer ini. Biasanya di akhir siklus PCR waktu yang digunakan untuk tahap ini diperpanjang sampai 5 menit.

### III. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret - September 2022. Analisa stomata dan molekular dilakukan di Laboratorium *Polymerase Chain Reaction* (PCR), sedangkan analisa kadar klorofil dilakukan di alur semai PT. Gunung Madu Plantations, Gunung Batin Baru, Lampung Tengah.

#### 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, silet, pensil, *cover glass*, *object glass* dan mikroskop BX53, *Soil Plant Analysis Development* (SPAD) 502.

Bahan-bahan yang digunakan adalah sampel daun dari mutan RGM00-477 dan GMP6. Reagen dan bahan kimia yang digunakan antara lain kolkisin,

liquid nitrogen cair (N<sub>2</sub>), buffer ekstraksi (CTAB), CI (*chloroform* dan *isoamil alcohol*), isopropanol dingin, sodium acetate pH 5.2, etidium bromide, Ethanol 70%, TE Buffer pH 7.6, bubuk agarose, TBE buffer, kit PCR Boline, primer OPN-07, OPC-16, OPA-07, OPD-08, OPA-01, (Tabel 1), DNA ladder 100bp, loading dye, ddH<sub>2</sub>O steril, Gel red, NFP, akuades, minyak immerse, gliserin dan kutek bening.

**Tabel 1.** Sekuens Primer Spesifik Untuk Amplifikasi PCR

No	Primer	Sequence (5'-3')	Annealing temp (°C)
1	OPA-07	GAAACGGGTG	33.4°C
2	OPC-16	CACACTCCAG	32.6°C
3	OPD-08	GTGTGCCCCA	40.1°C
4	OPA-01	AGTCGTCCCC	37.7°C
5	OPN-07	CAGCCCAGAG	37.3°C

(Hariyati *et al.*, 2013)

### 3.3 Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan dua faktor yaitu konsentrasi kolkisin dan lama genangan sehingga diperoleh 8 kelompok perlakuan dengan masing masing 4 pengulangan yang secara lengkap pada (Tabel 2).

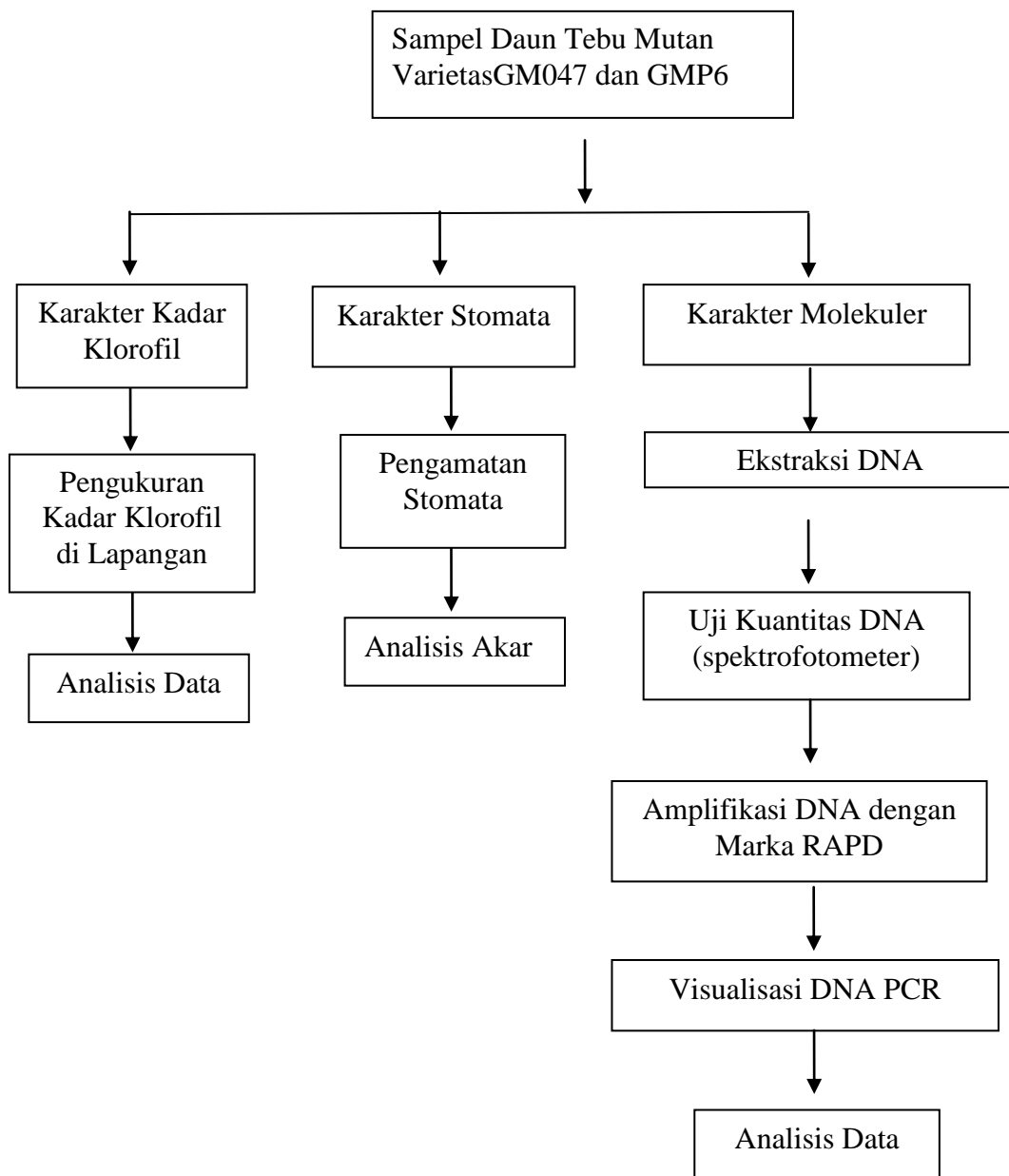
**Tabel 2.** Kelompok Perlakuan

Perlakuan	Uraian	Ulangan
(K)	Tanpa perlakuan	4
Perlakuan 1 (K2)	Digenangi 0,0 ppm 1 hari	4
Perlakuan 2 (K3)	Digenangi 0,0 ppm 2 hari	4
Perlakuan 3 (P1)	Digenangi kolkisin 0,1 ppm 1 Hari	4
Perlakuan 4 (P2)	Digenangi kolkisin 0,1 ppm 2 Hari	4
Perlakuan 5 (P3)	Digenangi kolkisin 0,5 ppm 1 Hari	4
Perlakuan 6 (P4)	Digenangi kolkisin 0,5 ppm 2 Hari	4
Perlakuan 7 (P5)	Digenangi kolkisin 1 ppm 1 Hari	4
Perlakuan 8 (P6)	Digenangi kolkisin 1 ppm 2 Hari	4

### 3.4 Bagan Alir Penelitian



Penelitian ini dilakukan dengan 3 tahapan yaitu pengamatan kadar klorofil, stomata, dan molekuler yang secara lengkap ditampilkan pada **Gambar 3**.



**Gambar 3.** Bagan Alir Penelitian.

### 3.5 Pelaksanaan kegiatan

### 3.5.1 Pengambilan Sampel Tebu

Pengambilan sampel tanaman tebu pada penelitian ini dilakukan di Kebun Percobaan, PT. Gunung Madu Plantation. Sampel daun mutan varietas GM047 dan GMP6 yang digunakan pada pengamatan stomata dan molekuler adalah daun berumur 5 bulan, sedangkan pada pengamatan kadar klorofil berumur 7 bulan.

### 3.5.2 Pengukuran Kadar Klorofil

Pengukuran kadar klorofil dilakukan dengan menggunakan alat *Soil Plant Analysis Development* (SPAD) 502 dengan pengulangan 3 kali (Putri *et al.*, 2016). Daun yang diukur adalah daun ketiga setelah daun bendera dan diukur pada bagian pangkal, tengah, dan ujung.

### 3.5.3 Pengamatan Stomata

Pengamatan stomata dilakukan dengan pembuatan preparat menggunakan metode modifikasi *whoule mount*, yaitu dengan cara sampel daun difiksasi menggunakan alkohol 70% selama 2 menit agar struktur anatominya tetap. Kemudian bagian abaksial (permukaan bawah) daun sayat tipis menggunakan silet dan hasil sayatan diwarnai dengan safranin 0,25% selama 5 menit. Setelah warna menyerap sayatan daun dibilas menggunakan alkohol 90%.selanjutnya diimprint menggunakan kutek bening dan tutup dengan *cover glass* dan diamati menggunakan mikroskop pada perbesaran 40X untuk menghitung kerapatan dan indeks stomata, lalu perbesaran 100X untuk mengukur luas dan lebar bukaan stomata. (Khoiroh dkk., 2014).

### 3.5.4 Pengamatan Molekuler

Sampel daun yang digunakan pada analisa molekuler adalah daun pertama setelah daun bendera yang berumur 5 bulan. Analisis

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

#### A. Isolasi DNA

Panduan yang digunakan untuk isolasi DNA adalah prosedur ekstraksi berbasis *cetyl-trimethyl-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  $-20^{\circ}\text{C}$ . Daun dimasukkan dalam tube steril 2 mL, ditambah gotri steril dan liquid nitrogen cair ( $\text{N}_2$ ). Sampel daun digrinding dengan *tissue lyser* hingga menjadi bubuk (3x 60 detik). Selanjutnya, ditambahkan *buffer* ekstraksi CTAB (sebelumnya dipanaskan didalam waterbath  $65^{\circ}\text{C}$  selama 15 menit) sebanyak 800  $\mu\text{l}$ /sampel dan ditambahkan 10  $\mu\text{l}$  (2 $\beta$ -mercaptoethanol).

Langkah selanjutnya, sampel diinkubasi dalam waterbath ( $65^{\circ}\text{C}$  selama 60 menit) dan diinversi setiap 10 menit 1 x lalu disentrifugasi 14.000 rpm,  $20^{\circ}\text{C}$  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  $4^{\circ}\text{C}$  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 suspensi DNA dengan menambahkan 0.6x volume Isopropanol dingin dan 0.1x volume 3 M Sodium acetate pH 5.2, lalu diinkubasi didalam freezer suhu  $-20^{\circ}\text{C}$  selama 3-4 jam. Setelah itu purifikasi DNA, campuran disentrifugasi 14.000 rpm,  $4^{\circ}\text{C}$  selama 10 menit kemudian pelet diambil, ditambahkan Etanol 70% sebanyak 500  $\mu\text{l}$  dan di mix dengan vortex 10 detik. Kemudian disentrifugasi 14.000 rpm,  $4^{\circ}\text{C}$

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, DNA diresuspensi dengan TE Buffer pH 7.6 (steril) sebanyak 40-50  $\mu$ l, kemudian ditambahkan 1  $\mu$ l RNase (10 mg/ml), dimix/pipetting dengan *micropipette*, diinkubasi disuhu ruang selama 5 menit dan selanjutnya disimpan pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$ .

## **B. Uji Kuantitatif DNA**

Uji Kuantitatif DNA dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer. Tingkat kemurnian DNA diukur dengan menghitung nilai absorbansi 260 nm dibagi dengan nilai absorbansi 280 nm. 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).

## **C. 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  $\mu$ l, yang terdiri dari primer 2  $\mu$ l, PCR Mix 10  $\mu$ l, ddH<sub>2</sub>O 6 $\mu$ l, sampel DNA 2  $\mu$ l. Amplifikasi DNA primer RAPD dilakukan dengan menggunakan Thermal cycler T100 (BioRAD). Pemanasan pertama dilakukan pada suhu  $94^{\circ}\text{C}$  selama 3 menit, kemudian diikuti 30 kali siklus yang terdiri dari *denaturation* (pemisahan) pada suhu  $94^{\circ}\text{C}$  selama 1 menit, *annealing* (penempelan) sesuai dengan suhu TM primer, *extention* (pemanjangan) pada suhu  $72^{\circ}\text{C}$

selama 2 menit, dan final extention pada suhu 72 °C selama 5 menit (Pharmawati, 2015).

#### D. Visualisasi DNA Hasil PCR

DNA hasil PCR divisualisasi dengan mengelektroforesis menggunakan gel agarose dengan konsentrasi 1% (1,26g 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 90 menit pada 100 volt. Hasil pemisahan fragmen DNA dideteksi menggunakan UV transluminator, kemudian file disimpan. Standar ukuran 10 bp plus DNA ladder (*Geneid*) untuk menetapkan ukuran pita hasil amplifikasi DNA (Pharmawati, 2015).

### 3.6 Analisis Data

#### 3.6.1 Analisis Data Karakter Stomata

Data hasil pengamatan stomata terdapat 4 parameter yaitu luas stomata, kerapatan stomata, indeks stomata, dan bukaan stomata. Rumus perhitungan kerapatan stomata dan indeks stomata menurut (Lestari, 2006) sebagai berikut:

a. Kerapatan Stomata:

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

b. Indeks Stomata:

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

Keterangan: Luas Bidang Pandang:  $0,124 \mu\text{m}^2$

Data dianalisis menggunakan Analisis Variansi Multivariat (MANOVA), kemudian dilanjutkan dengan uji lanjut *Least Significant Difference* (LSD) taraf 5% menggunakan software *Statistical Product and Service Solutions* (SPSS) versi 2.3. kemudian dilanjutkan dengan uji lanjut *Least Significant Difference* (LSD) taraf 5% menggunakan software *Statistical Product and Service Solutions* (SPSS) versi 2.3.

### 3.6.2 Analisis Data Karakter Klorofil

Data hasil pengamatan kadar klorofil dianalisis menggunakan *Analysis of variance* (ANOVA) kemudian dilanjutkan dengan uji lanjut *Least Significant Difference* (LSD) taraf 5% menggunakan software *Statistical Product and Service Solutions* (SPSS) versi 2.3.

### 3.6.3 Analisis Data Karakter Molekuler

Data hasil pengamatan molekuler RAPD dianalisis secara deskriptif dan dilakukan skoring serta dihitung nilai *Polimorfisme Information Content* (PIC) dengan rumus menurut Roldan-Ruiz (2000):

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

Keterangan:  $F_i$ : Frekuensi *band*

$1-F_i$ : Frekuensi *non-band*

Data skoring dilanjutkan dengan pembuatan dendogram kekerabatan untuk mengetahui hubungan kekerabatan antar mutan dengan metode *Unweighted Pair-Group With Arithmetic Average* (UPGMA) menggunakan software *Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System* (NTSys).

## V. KESIMPULAN

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa :

1. Perlakuan kolkisin pada mutan varietas GM047 tidak memberikan perbedaan terhadap karakter stomata dan kadar klorofil, namun memberikan variasi secara karakter molekuler. Sedangkan pada mutan varietas GMP6 memberikan perubahan terhadap karakter stomata yang semakin luas dan bukaan yang semakin lebar, serta kadar klorofil yang cenderung meningkat dan menunjukkan variasi secara karakter molekuler.
2. Perubahan pada karakter stomata yang semakin luas dan bukaan yang lebar serta diikuti kadar klorofil berpengaruh pada perubahan karakter morfologi seperti pada mutan unggulan.
3. Diperoleh mutan unggulan pada mutan varietas GM047 yaitu M5, sedangkan pada mutan varietas GMP6 yaitu M9, M10, M13, M20, M24.

### 5.2 Saran

1. Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai acuan untuk memperoleh mutan unggulan hasil perlakuan kolkisin.
2. Mutan unggulan dilanjutkan dengan penelitian tahan kekeringan dengan PEG 6000 untuk melihat ketahanan tanaman terhadap cekaman kekeringan akibat mutasi kolkisin.

## 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.
- Anonim. 2016 .*Fats Growing Versus Slow Growing Plants*. New Zealand Institute of Agricultural and Horticultural Science.
- Arifin, R. 2009. Distribusi Spasial dan Temporal Biomassa Fitoplankton (Klorofil-a) dan Keterkaitannya Dengan Kesuburan Perairan Estuari Sungai Brantas, Jawa Timur. *Skripsi*. IPB. Bogor.
- Barceloux, D. G. 2012.*Medical Toxicology of Natural Substance: Foods, Fungi, Medicininal Herbs, Plants, and Venomous Animals*. New York. 694.
- Bardacki, F. 2001. Random Amplified Polimorphic DNA (RAPD) Markers. *Journal of Biology*. Turkish. 25: 185-196.
- Botsein, D., White, R.L., Skolnick, M., and Davis, R.W. 1980. Construction of a Genetic Linkgae Map in Man Using Retrixtion Fragment Length Polymorphysm. *Journal Human Genetic*. 32: 314-331.
- Cen, H., Shao, Y., Song, H., dan He, Y. 2006.*Non-destructive Estimations of Rape Nitrogen Status Using SPAD Chloropyll Meter*. ISCP. 532
- Das, S., 2002. *On the Ontogeny of Stomata and Grandular Hairs in Some Indian Mangroves*. Acta Bot. Croat. 61(2): 199-205.
- Damayanti, F. 2012. Analisis Kromosom dan Anatomi Stomata Pada Beberapa Plasma Nutfah Pisang (*Musa sp.*) Asal Kalimantan Timur. *Journal Bioscientiae*. 2 (4): 53-61.
- Doyle, J.J., and Doyle, J.L. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical.Bulletin*. 19(1):11-15.
- Dianpratiwi, T., Danang, P., dan Lilik, K.P. 2020. Analisis Kinerja dan Prospek Komoditas Gula. Bogor. Jawa Barat. 24-25



- Fauziah, A. 2015. Pengaruh Hidroksiiquinolol Pada Pembuatan Preparat Kromosom Akar dan Kalus Bawang Putih (*Allium Sativum L.*). *Jurnal Kultur Jaringan Tumbuhan dan Mikroteknik*. Malang. 3(1): 66-67.
- 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.
- Herman., Irma, N. M., dan Dewi, I.R. 2013. Pengaruh Mutagen Kolkisin Pada Biji Kacang Hijau (*Vigna radiata L.*) Terhadap Jumlah Kromosom dan Jumlah Tumbuhan. *Jorunal BioEti*. FMIPA Universitas Riau. Pekanbaru 3: 13-120.
- Hariyati, T., Joni, K., and Esti, L.A. 2006. Genetic diversity of hybrid durian resulted from cross breeding between *Durio kutejensis* and *Durio zibethinus* based on random amplified polymorphic DNAs (RAPDs). *Jurnal of Molecular Biology*. 3: 153-157.
- Hidayat, T. 2012. Pengaruh Naungan Terhadap Upaya Pengembangan Tanaman Cabai Lahan Pesisir Pantai. *Jurnal Agronomi*. 24(2) : 93-104.
- Hutami S., Mariska, I., dan Supriati, Y. 2006. Peningkatan Keragaman Genetik Tanaman Melalui Keragaman Somaklonal. *Jurnal AgroBiogen*. 2(2): 81-88.
- Indrawanto, C. 2010. Budidaya dan Pasca Panen Tebu. ESKA Media Jakarta.
- Iriyanto, I. 2019. Pengaruh komposisi media tanam terhadap pertumbuhan bibit beberapa varietas tebu (*Saccharum Officinarum L.*) dengan metode Bud Chips. *Skripsi*. Universitas Muria Kudus. Jawa Tengah. 34-35.
- Izza, F., dan Ainun, N. L. 2015. Karakteristik stomata tempuyung dan hubungannya dengan transpirasi tanaman. *Seminar Nasional Konservasi dan Pemanfaatan Sumber Daya Alam*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang. 32-33.
- Kendari, P., and Mahfut., 2022. Stomata Character of Commercial Sugarcane on 21 Mutants of GMP3 Variety at PT Gunung Madu Plantations, Indonesia. *Biodiversitas*. In-review.
- Khoiroh, Y., Nunung, H., dan Retno, M. 2014. Pertumbuhan Serta Hubungan Kerapatan Stomata Dan Berat Umbi Pada *Amorphopallus muelleri* Blume Dan *Amorphopallusvariabilis* Blume. *Jurnal Biotropika*. Universitas brawijaya. Malang. 2(5): 250-252.
- Lestari, E.G., 2006. Hubungan antara Kerapatan Stomata dengan Ketahanan Kekeringan pada Somaklon Padi Gajahmungkur, Towuti, dan IR 64. *Jurnal Biodiversitas*. 7(1): 44-48.

- Lozykowska, K. S. 2003. Determination of The Ploidy Level In Chamomile (*Chamomile recutia* L.) Stain Rich In A-bisabolol. *Journal aplyed Genetic*. 44(2):151-155.
- Mawardi, I. 2022. Pengaruh Induksi Kolksisin Terhadap Karakter Morfologi Tebu Mutan Komersil Di PT Gunung Madu Plantations. *Skripsi*. Universitas Lampung. Lampung. 27-35
- Nasir, M. 2013. *Bioteknologi Potensi dan Keberhasilan Dalam Bidang pertanian*. Raja Grafindo Persad .Jakarta. 154-155.
- Nezhad, M.N., Solouki, M., dan Siasar, B. 2010. The Comparation of Long and Short Primers Used for RAPD Technique in Grape. *Journal of Sciences*. Iran. 8(1): 38-41.
- Nita, E., dan Setyawan, A. D. 2000. Studi Sitotaksonomi Pada Genus Zingiber. *Jurnal Biodiversitas*. Surakarta. 1(1):8-13.
- Palit, J. 2008. Teknik Perhitungan Jumlah Stomata Beberapa Kultivar Kelapa. *Buletin Teknik Pertanian*. 13(1): 9-11
- Pabendon, B.M. 2004. Pemanfaatan Marka Molekuler untuk Identifikasi Varietas Tanaman dalam Bidang Pemuliaan Tanaman. *Makalah pribadi*. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 121-125.
- Pangaribuan, O. 2020. Analisi Keragaman Genetik Tanaman Marigold (*Tagetes erecta* L.) Yang Diberikan Kolkisin Dan Sinar Gamma Dengan Menggunakan Marka RAPD. *Skripsi*. Universitas Sumatra Utara. Medan. 32-33.
- Pertamawati. 2010. Pengaruh Fotosintesis Terhadap Pertumbuhan Tanaman Kentang (*Solanum Tuberosum* L. ) Dalam Lingkungan Fotoautotrof Secara In-Vitro. *Jurnal Sains dan Teknologi*. 12 (1): 31-37.
- Pharmawati, M. 2009. Optimalisasi Ekstraksi DNA dan PCR-RAPD pada *Grevillea* spp. (Proteaceae). *Jurnal Biologi*. 13(1): 12-16.
- Prana, T.K., dan Hartati, N.S.. 2003. Identifikasi sidik jari DNA talas (*Colocasia esculenta* L.) Indonesia dengan teknik RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*): skrining primer dan optimalisasi kondisi PCR. *Jurnal Natur Indonesia*. Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI. Cibinong. 5 (2): 107-112.
- Purnama. 2006. Kajian Peningkatan Kinerja Industri Gula Tebu Melalui Introduksi Pendekatan Produksi Benih. *Skripsi*. Fakultas Teknologi Pertanian Bogor. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 96-98.
- Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian. 2016. *Outlook Tebu: Komoditas Pertanian Subsektor Perkebunan*. Kementerian Pertanian. Jakarta.

- Putri, R. E., Yahya, A., Adam, N. M., dan Aziz, S. A. 2016. *Variability of Rice Yield With Respect To Crop Health. Jurnal Teknologi*. 78 (2): 79-82.
- Rachmawati. 2006. Uji Pencemaran Udara Oleh Partikulat Debu Di Sekitar Terminal Lebak Bulus Berdasarkan Bioindikator Stomata Pada Tanaman Glodogan (*Polyalthia longifolia*). *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. Jakarta
- Ramdhani, F., Lollie, A.P.P., dan Hasmawi, H. 2013. Evaluasi Karakteristik Beberapa Varietas Kedelai (*Glycine Max*) Hasil Mutasi Kolkisin M2 pada Kondisi Nanungan. *Jurnal Online Agroteknologi*. 1(13): 454-458.
- Rifliyah, K. 2019. Pengelompokan Genom Kultivar Pisang Berdasarkan Karakter Morfologi dan Marga Molekuler ISSR (*Inter-Simple Sequence Repeat*). *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Rohmah, A., Tintrim, R., dan Ari, H. 2017. Pengaruh Pemberian Kolkisin terhadap Karakter Stomata Daun Zaitun (*Olea europaea L.*). *Jurnal Ilmiah BIOSAINTROPIS*. 2(2): 10-17.
- Roldan-Ruiz, I., Dendauw, J., Van, B. E. And Depicker, A. 2000. AFLP markers reveal high polymorphic rates in ryegrasses (*Lolium spp.*) *Journal Molecular Breeding*. 6: 125-134.
- Sambrook J., and Russel. D.W. 1989. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. Cold-Spring Harbor Laboratory. New York.
- Sari, D.P., dan Harlita. 2018. Preparasi Hands Free Section dengan Teknik Replika untuk Identifikasi Stomata. *Proceeding Biology*. Jawa Tengah. 15(1):660-664.
- Sari, H.E., Mahfut, dan Ahyar, A.N. 2021. Uji Dosis *Polyethilen Glycol* (PEG 6000) Untuk Skrining Ketahanan Kekeringan Pada Planlet Tanaman Tebu (*Saccharum officinarum L.*) Secara *In Vitro*. *Skripsi*. Universitas Lampung. Lampung.
- Salisbury, F.B., and Ross C.W. 1992. *Plant Physiology*. 4rd Ed. Wadsworth Publishing Company. California.
- Simamora, Y., Mahfut, dan Bangsawan, R. 2021. Pengaruh induksi mutasi kolkisin terhadap agronomis varietas tebu (*Saccharum Officinarum L.*) *Praktik Kerja Lapangan*. Universitas Lampung. Lampung.
- Sirojuddin., Tintrim R, dan Saimul L. 2017. Pengaruh Pemberian Berbagai Konsentrasi Kolkisin dan Lama Perendaman terhadap Respon Fenotipik Zaitun (*Olea europaea*). *e-Jurnal Ilmiah BIOSAINTROPIS*. 2(2): 36 - 41
- Steenis, V. 2006. *Flora*. Cetakan kelima. PT. Pradya Paramita. Jakarta.
- Sudarka, W. 2009. *Pemuliaan Tanaman Edisi Revisi*. Budidaya Pertanian Fakultas Pertanian. Universitas Udayana.

- Suharni, S. 2004. Evaluasi Morfologi, Fisiologi, dan Sitologi Tanaman Rumput Pakan Yang Terdapat Perlakuan Kolkhisin. *Thesis*. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Suryanto, D. 2003. *Melihat Keanekaragaman Organisme Melalui Beberapa Teknik Genetika Molekuler*. Universitas Sumatra Utara.
- Syaifudin, A., Ratnasari, E., dan Isnawati. 2013. Pengaruh pemberian berbagai konsentrasi kolkhisin terhadap pertumbuhan dan produksi tanaman cabai (*Capsicum annum*) varietas lada f1. *Jurnal Lentera Biologi*. 2(2):167-171.
- Taringan, B. Y., dan Sinulingga, J. N. 2006. *Laporan Praktek Kerja Lapangan di Pabrik Gula Sei Semayang PTPN II Sumatera Utara*. Fakultas Pertanian Universitas Sumatera Utara, Medan.
- Trimanto. 2012. Karakterisasi dan Jarak Kemiripan Uwi (*Dioscorea alata* L.) Berdasarkan Penanda Morfologi Umbi. *Bulletin Kebun Raya*. 15: 47-59.
- Yohanis, N. 2009. *Biokimia: Struktur dan Fungsi Biomolekul*. Graha Ilmu. Yogyakarta.
- Yulianti, F., Purwito, A., Husni, A., dan Dinarti, D. 2015. Induksi tetraploid tunas pucuk jeruk siam simadu (*Citrus nobilis* Lour) menggunakan kolkhisin secara in vitro. *Jurnal Agronomi Indonesia*. 43(1): 66-71
- Yustiningsih, M. 2019. Intensitas Cahaya dan Efisiensi Fotosintesis Pada Tanaman Naungan dan Tanaman Terpapar Cahaya Langsung. *Journal BIOEDU*. 4(2): 43-48.
- Yusuf, Z.K. 2010. Polymerase Chain Reaction (PCR). *Jurnal Saintek*. 5(6):1- 6.
- Zhang, W., Hao, H., Ma, L., and Yu, L.X. 2010. Tetraploid muskmelon alters morphological characteristics and improves fruit quality. *Journal Scientia Horticulturae*. 125(3):396-4