



VOL 4, NO 2, DESEMBER 2023.



# BIOFAAL JOURNAL

BIOLOGI, FAAL HEWAN, FAAL TUMBUHAN  
PROGRAM STUDI BIOLOGI F-MIPA UNIVERSITAS PATTIMURA  
IKATAN AHLI ILMU FAAL INDONESIA



*Intsia bijuga*  
Photographed by D. E. Sahertian

**E-ISSN: 2723 - 4959**



## INDUKSI POLIPLIROID PADA KULTUR ANTERA *Lilium longiflorum* THUNB.

### *POLYPLOID INDUCTION ON ANTHER CULTURE OF Lilium longiflorum* THUNB.

Anggraeni\*<sup>1</sup>, Iriawati<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Biologi, Fakultas Pertanian Perikanan dan Biologi Universitas Bangka Belitung, Bangka Belitung - Indonesia

<sup>2</sup>Program Studi Biologi, Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati Institut Teknologi Bandung, Bandung – Indonesia

\*Corresponding Author e-mail: [sanggieib@gmail.com](mailto:sanggieib@gmail.com)

#### ABSTRACT

**Keywords:** *Lilium longiflorum* Thunb., Antera, Colchicine, Poliploid

Poliploidisasi memiliki peranan penting dalam upaya pemuliaan beberapa tanaman hias, seperti pada bunga lili (*Lilium* sp.), dengan tujuan untuk menghasilkan bunga yang berukuran lebih besar dengan tangkai perbungaan yang lebih kokoh. Poliploid dapat diinduksi dengan senyawa colchicine pada waktu perendaman tertentu. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan konsentrasi colchicine dan waktu perendaman yang optimum untuk menginduksi poliploidisasi. Eksplan yang digunakan berupa antera dari kuncup bunga *L. longiflorum* Thunb. yang berukuran 0,6-2,0 cm dan ditanam pada media inisiasi MS + 7,5  $\mu$ M NAA + 0,75  $\mu$ M BAP. Konsentrasi perlakuan colchicine yaitu 0, 100, 200, 400 ppm, dan perlakuan waktu perendaman yaitu 12, 24, 48, 72 jam. Hasil penelitian menunjukkan persentase pertumbuhan tunas dan akar terbaik pada perlakuan 100 ppm 12 jam dengan nilai persentase masing-masing (60,00  $\pm$  7,30)% dan (100,00  $\pm$  0,00)% dengan rata-rata pertumbuhan tunas sebesar 1,40  $\pm$  0,83 dan akar 5,13  $\pm$  0,30. Konsentrasi colchicine optimum untuk menginduksi tanaman *L. longiflorum* poliploid adalah 200 ppm dan lamanya waktu perendaman 12 jam dengan menghasilkan tanaman tetraploid sebanyak 20%. Colchicine menyebabkan terbentuknya tanaman *L. longiflorum* tetraploid dengan menginduksi peningkatan jumlah kromosom ( $2n=4x=48$ ), ukuran sel stomata, dan perubahan karakter fenotip.

#### Article History:

Dikirim: 07 November 2023

Diterima: 26 November 2023

Disetujui: 30 November 2023

© 2023 Jurusan Biologi FMIPA Universitas Pattimura

#### How to cite:

Anggraeni, & Iriawati. 2023. Induksi Poliploid Pada Kultur Antera *Lilium longiflorum* Thunb.. Biofaal Journal. 4(2): 128-136.

Copyright © 2023 Biofaal Journal

Homepage: <https://ojs3.unpatti.ac.id/index.php/biofaal/index>

E-mail: [biofaaljournal@gmail.com](mailto:biofaaljournal@gmail.com)



This article is an open access article distributed under a [Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

## A. PENDAHULUAN

*Lilium longiflorum* atau dikenal dengan bunga *Easter Lily* merupakan salah satu komoditas tanaman hias yang memiliki nilai jual cukup tinggi. Perbanyakan bunga lili umumnya dilakukan secara vegetatif dengan menggunakan umbi dan penyilangan, namun upaya pemuliaan ini memiliki kendala karena *L. longiflorum* memiliki sifat *self-incompatible* (Kamenetsky dan Okubo, 2013). Salah satu alternatif yang digunakan untuk menghasilkan bibit tanaman lili dalam jumlah banyak dalam waktu yang relatif singkat adalah melalui kultur *in vitro*. Propagasi tanaman lili melalui kultur *in vitro* umumnya menggunakan eksplan berupa umbi (Dhyani dkk., 2014) dan daun (Saetiew dan Umamanit, 2015). Upaya pemuliaan tanaman secara *in vitro* dapat juga dilakukan melalui kultur antera. Teknik kultur antera merupakan metode yang paling efisien untuk menghasilkan tanaman poliploid dalam waktu singkat (Ali dkk., 2021).

Induksi tanaman poliploid dapat dilakukan melalui penggandaan kromosom atau poliploidisasi (Dhooghe dkk., 2011), dengan memberikan senyawa mutagenik, antara lain dengan menggunakan senyawa colchicine (Jeloudar dkk., 2019). Colchicine merupakan agen antimitosis yang efektif dalam penggunaannya karena menghasilkan persentase tanaman poliploid yang lebih tinggi dibandingkan senyawa lain, pada konsentrasi nontoksik untuk tanaman (Heo dkk., 2016).

Poliploidisasi pada tanaman lili telah dilakukan oleh Han dkk. (1999) pada lili Asiatic hybrid 'Connecticut King' pada konsentrasi colchicine 0,25-0,5 mM pada waktu perendaman selama 48-72 jam dengan menginduksi tanaman 'double haploid'. Induksi tanaman *L. formosanum* 'double haploid' dan tetraploid juga telah berhasil dilakukan pada konsentrasi colchicine 0,5 mM dengan waktu perendaman 72 jam (Han dan Nimi, 2005). Hasil penelitian Jeloudar dkk. (2019) menunjukkan konsentrasi colchicine 0,01% selama 24 jam adalah perlakuan paling efektif menginduksi poliploidi pada planlet *L. Regale* yang berasal dari eksplan umbi. Konsentrasi colchicine 0,05% selama 9 jam perendaman juga mampu menginduksi poliploid sekitar 50% dari total jumlah umbi *L. leichtlinii* var. *maximowiczii* (Heo dkk., 2016).

Hasil penelitian-penelitian sebelumnya terlihat bahwa terjadi perbedaan konsentrasi colchicine dan waktu perendaman pada jenis lili yang berbeda dalam menginduksi poliploid, dan sebagian besar eksplan yang digunakan berasal dari bagian umbi. Selain itu, publikasi mengenai induksi tanaman poliploid pada *L. longiflorum* melalui kultur antera dengan induksi colchicine belum ada, oleh sebab itu penelitian dilakukan untuk mendapatkan tanaman poliploid dari eksplan antera setelah diberi perlakuan colchicine.

## B. METODE PENELITIAN

### Waktu dan Tempat

Pelaksanaan penelitian *in vitro* dan uji sitologi dilakukan di Laboratorium Analisis Struktur dan Perkembangan Tumbuhan SITH ITB. Determinasi tingkat ploidi menggunakan *flowcytometry* dilakukan di Laboratorium Bioteknologi PT. East West Seed Indonesia.

## Alat dan Bahan

Peralatan laboratorium yang digunakan dalam proses penelitian yaitu botol kultur, gelas ukur, erlenmeyer, cawan petri, mikropipet, timbangan digital, pH meter, pinset, *scalple*, gunting, *hand sprayer*, bunsen, *magnetic stirer*, *hotplate*, *autoclave*, *laminar air flow cabinet*, rak kultur, *incubator shaker*, *microfilter*, *refrigerator*, lemari asam, gelas objek, cover glass, *clickcounter*, *slide micrometer*, kuvet, mikroskop cahaya, mikroskop stereo, mikroskop inverted, kamera dan *Cell Counter Analysis* (CCA Partec).

Eksplan yang digunakan dan komposisi media inisiasi dalam penelitian ini mengacu pada Anggraeni & Iriawati (2017), yaitu kuncup bunga *L. longiflorum* Thunb. ( $2n = 2x = 24$ ) dengan panjang kuncup 0,6-2,0 cm dan media NAA 7,5  $\mu\text{M}$  + BAP 0,75  $\mu\text{M}$  untuk menginduksi kalus. Media untuk regenerasi setelah perlakuan perendaman berdasarkan Han dan Niimi (2005) yaitu MS + 0,1 ppm NAA + 0,01 ppm BAP. Sumber sukrosa adalah 30 g/L gula, selain itu 8 g/L agar-agar, pH larutan media sebelum autoclave adalah 5,7. Pada uji sitologi bahan tanaman yang digunakan adalah antera untuk pengamatan mikrospora, daun dan akar untuk pengamatan stomata dan kromosom, akuades, asam asetat glasial, etanol 96%, HCl 1 N, aceto-orcein 2%, dan cat kuku yang bening. Determinasi tingkat ploidi menggunakan flowcytometry menggunakan buffer Otto's dan DAPI.

## Prosedur Penelitian

### 1. Perendaman kalus dalam larutan colchicine dan penanaman

Perlakuan konsentrasi colchicine dan lama waktu perendaman berdasarkan pada hasil optimasi pada uji pendahuluan yang mengacu pada Fernandez dkk. (1997) dan Han dan Niimi (2005) dengan perbandingan:

Konsentrasi colchicine : 0, 100, 200 dan 400 ppm dalam media MS cair

Lamanya waktu perendaman : 12, 24, 48 dan 72 jam

Eksplan yang digunakan untuk perlakuan ini berupa kalus hasil inisiasi kultur antera. Selama perendaman, erlenmeyer berisi kalus diagitasi menggunakan *incubator shaker* dengan kecepatan 100 rpm pada suhu 25<sup>0</sup>C dengan waktu perendaman sesuai dengan perlakuan. Setelah perendaman, kalus dibilas dengan akuades steril sebanyak 3x, kemudian dipindahkan pada media regenerasi yang mengacu pada Han dan Niimi (2005) yaitu MS + 0,1 ppm NAA + 0,01 ppm BAP untuk menginduksi tunas dan akar. Pengamatan dimulai 1 MSP (minggu setelah perlakuan) dengan interval waktu pengamatan 2 minggu sekali. Parameter yang diamati adalah persentase dan rata-rata kalus menginduksi pertumbuhan tunas dan akar.

### 2. Determinasi tingkat ploidi

Determinasi tingkat ploidi dilakukan dengan menggunakan analisis *flowcytometry* yang mengacu dari XiQing dkk. (2017). Sampel yang diuji adalah daun dari tunas yang berumur 10 MSP. Sekitar 0,5 cm<sup>2</sup> daun dicacah dengan pisau silet tajam dalam cawan petri yang telah dibasahi dengan 1000  $\mu\text{L}$  larutan buffer Otto's I (100 mM asam sitrat monohidrat; 0,5% v/v Tween 20 pH 2-3) (Otto, 1990; Dolezel dan Gohde, 1995). Selanjutnya, 250  $\mu\text{L}$  cairan tersebut disaring dengan Celltrix berukuran 40  $\mu\text{mesh}$  *nylon filter* dan ditampung dalam *cuvette*. Cairan hasil isolasi ditambahkan buffer Otto's II (400 mM Na<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.12 H<sub>2</sub>O pH 8-9 dan DAPI 2 mg/L) sebanyak 750  $\mu\text{L}$ . Analisis *flowcytometry* dilakukan dengan menggunakan alat *Cell Counter Analysis* (CCA Partec) dan divisualisasi menggunakan

software Partec Flowmax. Pembacaan *peak* dilakukan pada *Gain* 382. Analisis dilakukan pada masing-masing perlakuan dengan 5 ulangan. Parameter yang diamati adalah perbedaan ukuran *peak* pada histogram yang mengindikasikan tingkat ploidi sampel.

### 3. Analisis jumlah kromosom

Analisis jumlah kromosom dilakukan dengan menggunakan metode squash yang diaplikasi dari Zhang dkk. (2017). Sampel yang diamati kromosomnya berasal dari setiap perlakuan, masing-masing perlakuan dengan 5 ulangan. Pengamatan pada setiap ulangan dilakukan pada 10 bidang pandang mikroskop dan diulang minimal tiga kali untuk setiap ulangan. Parameter yang diamati adalah jumlah kromosom.

### 4. Analisis ukuran dan kerapatan stomata

Pengamatan stomata menggunakan metode modifikasi dari Asri dkk. (2015). Potongan daun dioleskan cat kuku bening pada bagian abaksial daun, selanjutnya ditempelkan selotip pada bagian daun yang telah diolesi cat kuku bening tersebut. Daun yang diamati stomatanya berasal dari setiap perlakuan, masing-masing perlakuan dengan 3 ulangan. Parameter yang diukur adalah panjang serta lebar stomata menggunakan *micrometer* pada pembesaran mikroskop 400x dan dihitung kerapatan stomatanya. Pengamatan kerapatan stomata pada setiap ulangan dilakukan pada 20 bidang pandang mikroskop dan diulang minimal tiga kali untuk setiap ulangan. Pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 200x. Luas bidang pandang yang digunakan adalah 1,05 mm<sup>2</sup>.

## Analisis Data

Data dianalisis menggunakan ANOVA dengan uji lanjut LSD pada taraf nyata 5% untuk mengetahui pengaruh beda antar perlakuan. Pada data yang tidak normal dianalisis menggunakan Kruskal Wallis dan dilanjutkan dengan uji Mann Whitney. Pengolahan data menggunakan program SPSS 16.0. Penghitungan persentase rasio perkembangan mikrospora, persentase dan rata-rata pertumbuhan, jumlah kromosom, ukuran stomata dan kerapatan stomata dengan menggunakan *microsoft office excel*.

## C. HASIL DAN PEMBAHASAN

### Pengaruh Colchicine terhadap Respon Pertumbuhan Tunas dan Akar

Pertumbuhan tunas dan akar tertinggi juga terjadi pada perlakuan 100 ppm 12 jam dengan nilai persentase masing-masing ( $60,00 \pm 7,30$ )% dan ( $100,00 \pm 0,00$ )% dengan rata-rata pertumbuhan tunas sebesar  $1,40 \pm 0,83$  dan akar  $5,13 \pm 0,30$  (Tabel 1). Analisis ragam pada persentase dan rata-rata pertumbuhan tunas sebagian besar menunjukkan nilai yang tidak berbeda nyata antar perlakuan.

Hasil ini menunjukkan bahwa kalus merespon pertumbuhan tunas dan akar pada konsentrasi colchicine terendah dan waktu perendaman tersingkat, walaupun hasil respon tersebut masih lebih rendah bila dibandingkan dengan kontrol (tanpa perlakuan colchicine). Hasil ini diperkuat oleh penelitian yang pernah dilakukan oleh Sajjad dkk. (2013) pada *Lilium leichtlinii* var. *maximowiczii* bahwa perlakuan colchicine pada konsentrasi terendah dan durasi perendaman tersingkat cenderung memberikan pertumbuhan dan kesintasan yang tinggi pada eksplan. Hal ini disebabkan karena tingginya konsentrasi colchicine menginduksi

kerusakan pada beberapa bagian sel penyusun troposom dan memberikan efek negatif bagi sel-sel meristematik (Heo dkk., 2016).

Tabel 1. Respon pertumbuhan tunas dan akar pada kombinasi konsentrasi colchicine dan waktu perendaman

Konsentrasi Colchicine (ppm)	Waktu Perendaman (jam)	Respon Pertumbuhan			
		Tunas (%)	Rata-rata Tunas	Akar (%)	Rata-rata Akar
0	12	73.33 ± 5.57 <sup>de</sup>	1.93 ± 0.64 <sup>ef</sup>	100.00 ± 0.00 <sup>b</sup>	5.27 ± 0.37 <sup>f</sup>
	24	66.67 ± 6.66 <sup>cde</sup>	2.53 ± 1.76 <sup>def</sup>	93.33 ± 2.98 <sup>b</sup>	4.53 ± 2.02 <sup>def</sup>
	48	93.33 ± 2.98 <sup>e</sup>	3.53 ± 1.63 <sup>f</sup>	93.33 ± 2.98 <sup>b</sup>	6.80 ± 1.22 <sup>g</sup>
	72	53.33 ± 3.65 <sup>cd</sup>	1.13 ± 0.45 <sup>de</sup>	100.00 ± 0.00 <sup>b</sup>	5.27 ± 0.60 <sup>fg</sup>
100	12	60.00 ± 7.30 <sup>cde *</sup>	1.40 ± 0.83 <sup>de *</sup>	100.00 ± 0.00 <sup>b *</sup>	5.13 ± 0.30 <sup>f *</sup>
	24	26.66 ± 5.57 <sup>abc</sup>	0.73 ± 0.43 <sup>bcd</sup>	80.00 ± 3.65 <sup>b</sup>	3.07 ± 0.86 <sup>de</sup>
	48	53.33 ± 5.96 <sup>cd</sup>	1.33 ± 0.53 <sup>de</sup>	73.33 ± 5.57 <sup>b</sup>	1.93 ± 0.72 <sup>bcd</sup>
	72	40.00 ± 8.69 <sup>abcd</sup>	1.13 ± 0.87 <sup>cde</sup>	80.00 ± 3.65 <sup>b</sup>	1.47 ± 0.84 <sup>abc</sup>
200	12	33.33 ± 8.16 <sup>abcd</sup>	0.73 ± 0.43 <sup>cd</sup>	93.33 ± 2.98 <sup>b</sup>	1.73 ± 0.49 <sup>bc</sup>
	24	20.00 ± 5.96 <sup>abc</sup>	0.67 ± 0.62 <sup>abcd</sup>	80.00 ± 3.65 <sup>b</sup>	2.60 ± 0.76 <sup>cd</sup>
	48	26.66 ± 5.57 <sup>abc</sup>	0.93 ± 0.55 <sup>cde</sup>	73.33 ± 5.57 <sup>b</sup>	1.67 ± 0.53 <sup>bc</sup>
	72	6.66 ± 2.98 <sup>ab</sup>	0.20 ± 0.45 <sup>abc</sup>	33.33 ± 4.71 <sup>a</sup>	0.87 ± 0.90 <sup>ab</sup>
400	12	46.66 ± 7.60 <sup>bcd</sup>	1.07 ± 0.55 <sup>de</sup>	93.33 ± 2.98 <sup>b</sup>	2.73 ± 0.28 <sup>de</sup>
	24	13.33 ± 3.65 <sup>ab</sup>	0.53 ± 0.77 <sup>abcd</sup>	60.00 ± 8.69 <sup>ab</sup>	1.47 ± 1.07 <sup>abcd</sup>
	48	0.00 ± 0.00 <sup>a</sup>	0.00 ± 0.00 <sup>a</sup>	20.00 ± 5.96 <sup>a</sup>	0.40 ± 0.60 <sup>a</sup>
	72	6.66 ± 2.98 <sup>ab</sup>	0.13 ± 0.30 <sup>ab</sup>	26.66 ± 5.57 <sup>a</sup>	0.40 ± 0.28 <sup>a</sup>

Ket. Asterisk: respon pertumbuhan tertinggi. Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata menurut uji Kruskal-Wallis yang dilanjutkan uji Mann-Whitney pada taraf  $\alpha = 5\%$ .

### Pengaruh Colchicine terhadap Tingkat Ploidi

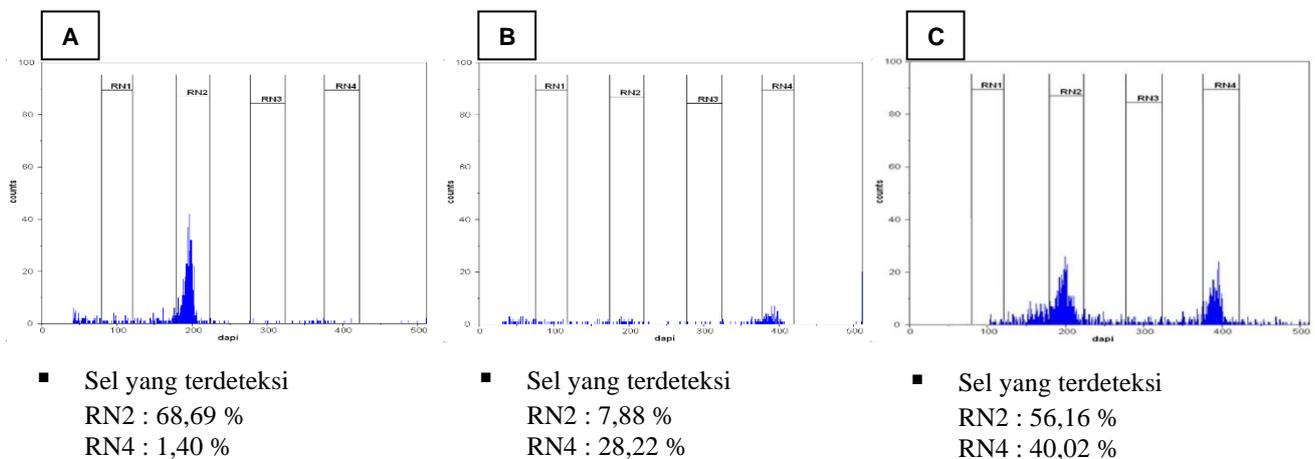
Berdasarkan hasil pengamatan, 3 dari 15 (20%) regeneran pada perlakuan 200 ppm 12 jam didapatkan memiliki tingkat ploidi tetraploid dengan jumlah kromosom  $2n=4x=48$ , dan sebanyak 4 regeneran teridentifikasi memiliki tingkat ploidi mixoploid, yaitu pada perlakuan 100 ppm 72 jam sebanyak 6,66% , 200 ppm 48 jam sebanyak 6,66%, dan pada perlakuan 200 ppm 72 jam sebanyak 13,33% (Tabel 2).

Hasil ini didukung juga oleh hasil determinasi tingkat ploidi menggunakan *flowcytometry* (Gambar 1). Pada regeneran yang mengandung sel dengan tingkat ploidi tetraploid menghasilkan histogram dengan puncak tunggal pada kolom 400 ppm, sedangkan pada regeneran yang mengandung sel dengan tingkat ploidi mixoploid terdeteksi dengan menghasilkan histogram 2 puncak pada kolom 200 ppm dan 400 ppm. Puncak tunggal yang dihasilkan menunjukkan bahwa sampel daun dan kalus yang digunakan mempunyai komposisi genetik yang relatif sama sehingga tidak mengindikasikan terjadinya variasi somaklonal, seperti yang dilaporkan oleh Roostika dkk. (2013).

Tabel 2. Determinasi tingkat ploidi regeneran pasca-perlakuan pada kombinasi konsentrasi colchicine dan lamanya waktu perendaman yang berbeda

Konsentrasi Colchicine (ppm)	Waktu Perendaman (Jam)	Tingkat Ploidi (%)		
		Diploid	Tetraploid	Mixoploid
0	12	100.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
	24	100.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
	48	100.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
	72	100.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
100	12	100.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
	24	100.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
	48	100.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
	72	93.33 ± 2.98	0.00 ± 0.00	6.66 ± 2.98
200	12	80.00 ± 8.94	20.00 ± 8.94	0.00 ± 0.00
	24	100.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
	48	93.33 ± 2.98	0.00 ± 0.00	6.66 ± 2.98
	72	86.66 ± 5.96	0.00 ± 0.00	13.33 ± 5.96
400	12	100.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
	24	100.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
	48	100.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
	72	100.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00

Pada regeneran tetraploid terjadi penggandaan kromosom dari kromosom dasarnya. Penggandaan kromosom ini mengindikasikan terjadinya proses depolimerisasi tubulin sehingga mencegah pembentukan benang-benang kumparan mitosis (XiQing dkk., 2017). Colchicine menghambat terbentuknya polimerisasi tubulin menjadi mikrotubula dan menyebabkan depolimerisasi mikrotubula dengan bergabungnya colchicine pada ujung perakitan polimer mikrotubula. Pengikatan colchicine pada tubulin akan membentuk kompleks colchicine-tubulin (C-tubulin) dan menghentikan penambahan sub unit tubulin selanjutnya (Fernandes dkk., 2013).



Gambar 1. Histogram tingkat ploidi pada daun dan kalus *L. longiflorum* pasca-perlakuan colchicine menggunakan *flowcytometry*. (A) 0 ppm 48 jam (diploid:  $2n=2x=24$ ), (B) 200 ppm 12 jam (tetraploid:  $2n=4x=48$ ), (C) 200 ppm 72 jam (mixoploid). X-axes: tingkat pendaran DAPI; Y-axes: jumlah nukleus. RN1: haploid; RN2: diploid; RN3: triploid; RN4: tetraploid.

Pada pengamatan sitologi juga menunjukkan, regeneran tetraploid memiliki ukuran sel yang lebih besar dari regeneran diploid dan mixoploid, namun ukuran kromosomnya lebih kecil (Gambar 2). Doyle dan Coatet (2019) menyatakan dalam penelitiannya bahwa semakin tinggi tingkat ploidi, maka ukuran luas sel semakin besar dan ukuran panjang kromosom semakin kecil, sejalan dengan bertambahnya jumlah kromosom.



Gambar 2. Determinasi tingkat ploidi berdasarkan jumlah kromosom pada akar *L. longiflorum* pasca-perlakuan colchicine. (A) sel diploid ( $2n=2x=24$ ), (B) sel tetraploid ( $2n=4x=48$ ), (C) sel aneuploid ( $2n=30$ ). Pembesaran: 400x. Bar: 10  $\mu\text{m}$ .

Pada tanaman diploid (Gambar 2A) memiliki jumlah 24 kromosom, sedangkan pada tanaman tetraploid (Gambar 2B) memiliki kromosom dua kali lebih banyak dari tanaman diploid, yaitu 48 kromosom. Regeneran aneuploid juga ditemukan penelitian ini dengan jumlah 30 kromosom. Peristiwa aneuploid pada ploidisasi tidak merugikan pertumbuhan sel, sebab keseluruhan set dari gen tetap terdapat dalam genom (Perwati, 2009).

### Pengaruh Colchicine terhadap Ukuran dan Kerapatan Stomata

Interaksi konsentrasi colchicine dan lamanya waktu perendaman juga memberikan korelasi positif antara panjang dan lebar stomata, namun berkorelasi negatif terhadap rata-rata kerapatan stomata (Tabel 3). Regeneran diploid memiliki panjang stomata berkisar antara 68,80-100,00  $\mu\text{m}$  dan lebar stomata berkisar antara 42,80-58,50  $\mu\text{m}$ . Regeneran mixoploid memiliki panjang stomata berkisar antara 106,80-127,60  $\mu\text{m}$  dan lebar stomata berkisar antara 58,80-74,80  $\mu\text{m}$ . Regeneran tetraploid memiliki panjang stomata 125,20  $\mu\text{m}$  dan lebar stomata 73,20  $\mu\text{m}$ .

Rata-rata panjang dan lebar stomata pada regeneran mixoploid (200 ppm 72 jam) menunjukkan hasil yang paling tinggi, tetapi hasil analisis ragam menunjukkan panjang, lebar dan kerapatan stomata antara regeneran tetraploid dan mixoploid tidak berbeda nyata. Pada penelitian ini, rata-rata kerapatan stomata pada regeneran diploid antara 12-28 stomata per  $\text{mm}^2$ , sedangkan pada regeneran mixoploid dan tetraploid berkisar antara 4-5 stomata per  $\text{mm}^2$ . Doyle dan Coatet (2019) mengungkapkan bahwa tunas yang memiliki set kromosom lebih banyak dari biasanya menyebabkan peningkatan ukuran sel dan stomata. Sel pada regeneran dengan tingkat ploidi yang lebih tinggi memiliki vakuola yang lebih besar yang berperan penting dalam regulasi tekanan osmotik pada sel (Jeloudar dkk., 2019). Hasil ini mengindikasikan bahwa penambahan jumlah kromosom berdampak pada penambahan ukuran sel penjaga stomata, sehingga berkorelasi positif terhadap penambahan panjang dan lebar stomata.

Tabel 3. Pengaruh kombinasi perlakuan konsentrasi colchicine dan lamanya waktu perendaman pada kultur M3K4 terhadap rata-rata panjang, lebar dan kerapatan stomata.

Konsentrasi Colchicine (ppm)	Waktu Perendaman (Jam)	Rata-rata		Rata-rata Kerapatan Stomata (mm <sup>2</sup> )
		Panjang Stomata (µm)	Lebar Stomata (µm)	
0	12	68.80 ± 4.13 <sup>a</sup>	42.80 ± 2.70 <sup>a</sup>	28.15 ± 2.64 <sup>de</sup>
	24	70.40 ± 7.35 <sup>ab</sup>	43.60 ± 2.27 <sup>ab</sup>	23.56 ± 3.81 <sup>k</sup>
	48	71.60 ± 6.91 <sup>ab</sup>	44.80 ± 3.67 <sup>b</sup>	23.18 ± 3.64 <sup>j</sup>
	72	74.40 ± 6.58 <sup>b</sup>	44.80 ± 4.54 <sup>ab</sup>	20.25 ± 3.42 <sup>j</sup>
100	12	85.20 ± 9.24 <sup>cd</sup>	51.60 ± 6.65 <sup>c</sup>	17.19 ± 1.72 <sup>i</sup>
	24	100.00 ± 12.50 <sup>f</sup>	58.00 ± 4.32 <sup>def</sup>	12.86 ± 1.84 <sup>h</sup>
	48	96.40 ± 5.14 <sup>f</sup>	56.40 ± 3.50 <sup>def</sup>	12.61 ± 1.74 <sup>d</sup>
	72	124.40 ± 11.38 <sup>h</sup>	70.80 ± 10.33 <sup>g</sup>	4.96 ± 1.26 <sup>ef</sup>
200	12	125.20 ± 11.93 <sup>h</sup>	73.20 ± 11.32 <sup>g</sup>	4.33 ± 1.36 <sup>a</sup>
	24	98.80 ± 8.65 <sup>f</sup>	58.40 ± 7.58 <sup>def</sup>	7.89 ± 1.00 <sup>a</sup>
	48	106.80 ± 7.55 <sup>g</sup>	58.80 ± 4.63 <sup>ef</sup>	5.09 ± 1.47 <sup>c</sup>
	72	127.60 ± 10.05 <sup>h</sup>	74.80 ± 3.79 <sup>g</sup>	4.20 ± 1.90 <sup>b</sup>
400	12	83.20 ± 7.00 <sup>cd</sup>	50.80 ± 7.31 <sup>c</sup>	15.66 ± 1.04 <sup>a</sup>
	24	90.00 ± 3.88 <sup>de</sup>	55.60 ± 3.50 <sup>def</sup>	12.99 ± 1.56 <sup>g</sup>
	48	93.60 ± 7.35 <sup>def</sup>	56.80 ± 4.13 <sup>def</sup>	12.22 ± 1.91 <sup>f</sup>
	72	94.40 ± 7.10 <sup>f</sup>	58.50 ± 3.17 <sup>f</sup>	12.10 ± 1.92 <sup>def</sup>

## D. KESIMPULAN

Colchicine menyebabkan terbentuknya tanaman *L. longiflorum* tetraploid dengan menginduksi peningkatan jumlah kromosom ( $2n=4x=48$ ), ukuran sel stomata, dan perubahan karakter fenotip. Konsentrasi colchicine optimum untuk menginduksi tanaman *L. longiflorum* poliploid adalah 200 ppm dan lamanya waktu perendaman 12 jam dengan menghasilkan tanaman tetraploid sebanyak 20%.

## E. DAFTAR PUSTAKA

- Ali J, Nicolas KLC, Akther S, Tobari A, Ebadi AA, Nazarea CMM, and Mahender A. 2021. Improved anther culture media for enhanced callus formation and plant regeneration in rice (*Oryza sativa* L.). *Plant*. 10:1-16.
- Anggraeni dan Iriawati. 2017. Respon anthera *Lilium longiflorum* Thunb dengan berbagai stadium perkembangan mikrospora pada kombinasi konsentrasi zat pengatur tumbuh. *Agrosainstek*. 1(2): 1-7
- Asri A. W, Sulistyaningsih E dan Murti RH. 2015. Karakter dan sitologi tanaman bawang daun (*Allium fistulosum* L.) hasil induksi kolkisin pada generasi vegetatif kedua. *Vegetalika*, 4(1): 37-45.
- Dhooghe E, Laere KV, Eeckhaut LL, dan Huylenbroeck JV. 2011. Mitotic chromosome doubling of plant tissue in vitro. *Plant Cell Tissue Organ Culture*. 104: 359-373.
- Dhyani A, Sharma G, Nautiyal BP, and Nautiyal MC. 2014. Propagation and conservation of *Lilium polyphyllum* D. Don ex Royle. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*. 1(4): 144-147.
- Dolezel J dan Gohde W. 1995. Sex determination in dioecious plants *Melandrium album* and *M. rubrum* using high-resolution flow cytometry. *Cytometry*. 19: 103-106.
- Doyle JJ and Coatet JE. 2019. Polyploidy, the nucleotype, and novelty: The impact of genome doubling in the biology of the cell. *Int. J. Plant Sci*. 180(1): 1-52.
- Fernandes TCC, Pizano MA dan Maria MAM. 2013. *Chapter 19: Characterization, Modes of Action and Effect of Trifluralin: A Review*. Agriculture and Biological Sciences, CC by 30 Licence.

- Fernandez AMA, Nakazaki T, Yamagata H, dan Tanisaka T. 1997. production of double-haploid plant from *Lilium longiflorum* Thunb. anther culture. *Plant Science*. 123: 179-187.
- Han DS dan Niimi Y. 2005. production of haploid and double haploid plants from anther-derived callus of *Lilium formosanum*. *Proc. IX Intl Symp. on Flower Bulbs*, 389-393.
- Han DS, Niimi Y, dan Nakano M. 1999. Production of double haploid through colchicine treatment of anther-derived haploid calli in The Asiatic Hybrid Lily 'Connecticut King'. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 68(5): 979-983.
- Heo JY, Jeong SH and Park SM. 2016. Polyploidy production in *Lilium leichtlinii* var. *maximowiczii* using colchicine. *Anim. Plant Sci.* 26: 1111-16.
- Jeloudar NI, Chamani E, Shokouhian AA, and Zakaria RA. 2019. Induction and identification of polyploidy by colchicine treatment in *Lilium regale*. *Cytologia*. 84(3): 271-276.
- Kamenetsky R dan Okubo H. 2013. *Ornamental Geophytes: From Basic Science to Sustainable Production*. CRC Press Taylor and Francis Group. Hal 94-100.
- Otto FJ. 1990. *DAPI Staining of Fixed Cells for High-resolution Flow Cytometry of Nuclear DNA*. In: *Methods in Cell Biology*. Darzynkiewickz., Z. and H.A. Crissman (Eds.), Academic Press, San Diego. 33: 105-110.
- Perwati LK. 2009. Analisis Derajat Ploidi dan Pengaruhnya terhadap Variasi Ukuran Stomata dan Spora pada *Adiantum radianum*. *BIOMA*. 11(2): 39-44.
- Roostika I, Darwati I, dan Megia R. 2013. Optimasi dan evaluasi metode kriopreservasi purwoceng. *Jurnal Litri*. 19(3): 147-157.
- Sajjad Y, Jaskani MJ, Mehmood A, Ahmad I and Abbas H. 2013. Effect of colchicine on in vitro polyploidy induction in African Marigold (*Tagetes erecta*). *Pakistan J. Bot.* 45(3): 1255- 1258.
- XiQing Z, Juan WL, Zheng CQ, and Xia JG. 2017. Polyploidy induction and identification in *Lilium concolor* var. *pulchellum*. *Journal of Beijing Forestry University*. 39(7): 96-102.
- Zhang TX, Guo YH, Xie XH and Sun M. 2016. Studies on root tip chromosome squashes in *Lilium* and karyotype analysis of four *Lilium* species. *ISHS Acta Horticulture*. 1171: XII Internasional Symposium on Flower Bulb and Herbaceous Perennial.

# BIOFAAL JOURNAL

E-ISSN 2723-4959

Volume 4 Number 2 | Desember 2024

## EDITOR IN CHIEF

Laury Marcia Ch. Huwae, S.Si., M.Si

## Associate Editor

Dr. Windi Mose, S.Pd

Dr. E. Sahertian, S.Si., M.Si

E. Samson, S.Si., M.Si

Veince B. Silahooy, S.Si., M.Si

## Expert Editor Board

Prof. Dr. Pieter Kakisina, S.Pd., M.Si (Universitas Pattimura, Ambon)

Dr. dr. Ermita I. Ibrahim Ilyas, M.S., AIFO (Universitas Indonesia, Jakarta)

Sri Sumartiningih, S.Si., M.Kes., Ph.D., AIFO (Universitas Negeri Semarang, Semarang)

Dr. Ir. Alfred O. M. Dima, M.Si (Universitas Nusa Cendana, Kupang)

Dr. Safrida, S.Pd., M.Si (Universitas Syiah Kuala, Aceh)

Dr. dr. Yetty Machrina, M.Kes, AIFO-K (Universitas Sumatera Utara, Medan)

Dr. Saidah Rauf, S.Kep., M.Sc (Politeknik Kesehatan Kemenkes Maluku, Masohi)

Dr. Jusak Syaranamual, M.Pd., AIFO (Universitas Pattimura, Ambon)

Dr. Theopilus W. Watuguly, M.Kes., AIFO (Universitas Pattimura, Ambon)

Dr. Maria Nindatu, M.Kes (Universitas Pattimura, Ambon)

Dr. Martha Kaihena, M.Kes (Universitas Pattimura, Ambon)

Dr. La Eddy, S.Pd., M.Si (Universitas Pattimura, Ambon)

Dr. Drs. Amos Killay, M.Kes (Universitas Pattimura, Ambon)

Dr. Ch. D. Umi Baszary, S.Si., M.Si (Universitas Pattimura, Ambon)

Dr. Meilissa C. Mainassy, S.Si., M.Si (Universitas Pattimura, Ambon)

## Asistant Editorial

Dr. Adrien Jems Akiles Unitly, S.Si., M.Si

E. T. Apituley, S.Si., M.Si

## Publisher

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Pattimura, bekerja sama dengan  
Ikatan Ahli Ilmu Faal Indonesia (IAIFI)

## Editorial Address

Jurusan Biologi - Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Pattimura

Jl. Ir. M. Putuhena, Kampus Poka, Ambon, 97234, Maluku, Indonesia

E-mail : [biofaaljournal@gmail.com](mailto:biofaaljournal@gmail.com)



**E-ISSN: 2723 - 4959**

