

**INDUKSI POLIPLIOD MURBEI (*Morus nigra*) MELALUI  
PERLAKUAN KOLKISIN SECARA *IN VITRO***

**HASMAWATI**



**PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU KEHUTANAN  
FAKULTAS KEHUTANAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2023**

**INDUKSI POLIPLOID MURBEI (*Morus nigra*) MELALUI  
PERLAKUAN KOLKISIN SECARA *IN VITRO***

Tesis

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Magister

Program Studi

Magister Ilmu Kehutanan

Disusun dan Diajukan oleh

HASMAWATI

M012202001

Kepada

**PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU KEHUTANAN**

**FAKULTAS KEHUTANAN**

**UNIVERSITAS HASANUDDIN**

**MAKASSAR**

**2023**

## HALAMAN PENGESAHAN

### TESIS

Induksi Polyploid Murbei (*Morus nigra*) Melalui Perlakuan Kolkisin secara *In Vitro*

Disusun dan diajukan oleh:

HASMAWATI

Nomor Pokok : M012202001

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Tesis

pada tanggal Januari 2023

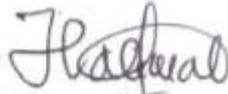
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui,

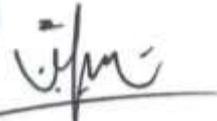
Komisi Penasihat

Ketua

Anggota



Dr. Siti Halimah Larekeng, S.P., M.P



Dr. Ir. Sitti Nuraeni, M.P

Ketua Program Studi S2  
Ilmu Kehutanan,



Mukrimin, S.Hut., M.Si., Ph.D



Dekan Fakultas Kehutanan,



Dr. A. Muetahid M., S. Hut., M.P

## PERNYATAAN KEASLIAN TESIS DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini menyatakan tesis yang berjudul "Induksi Polyploid Murbei (*Morus nigra*) Melalui Perlakuan Kolkisin secara *In Vitro*" adalah benar karya saya dengan arahan dari komisi pembimbing (Dr. Siti Halimah Larekeng, S.P., M.P sebagai pembimbing utama dan Dr. Ir. Sitti Nuraeni, MP sebagai pembimbing pendamping). Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi manapun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dipublikasikan pada Conference/Seminar Internasional (Prosiding pada 14<sup>th</sup> *International Symposium of Indonesian Wood Reserch Society*) sebagai artikel dengan judul "Induction of Mulberry Polyploid (*Morus* sp.) Through Colchicine Treatment by In Vitro".

Demikian saya melimpahkan hak cipta karya tulis saya berupa tesis ini kepada Universitas Hasanuddin

Makassar, Januari 2023



HASMAWATI  
NIM. M12202001

## KATA PENGANTAR

Assalamua Alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah *Subhanahu Wa Ta'ala* karena berkat limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga tesis dengan judul "**Induksi Polyploid Murbei (*Morus nigra*)** Melalui Perlakuan Kolkisin secara *In Vitro*" ini dapat diselesaikan dengan baik sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan studi Magister pada Program Studi Magister Ilmu Kehutanan. Tesis ini diselesaikan atas bimbingan dan dukungan dari berbagai pihak yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan penyusunan tesis ini.

Dengan penuh kerendahan hati penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada semua pihak terutama kepada yang terhormat:

1. Ibu **Dr. Siti Halimah Larekeng, S.P., M.P** dan Ibu **Dr. Ir. Sitti Nuraeni, MP** selaku dosen pembimbing yang telah memberikan bimbingan dan arahan sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini.
2. Bapak **Mukrimin, S.Hut., M.Si., Ph.D**, Bapak **Dr. Ir. Andi Sadapotto, M.P** dan **Dr. Ir. Astuti, S.Hut., M.Si., IPU** selaku dosen penguji penguji yang telah memberikan saran dan kritikan untuk perbaikan dan penyusunan tesis ini.
3. Seluruh **Dosen Pengajar** dan **Staf Administrasi** Fakultas Kehutanan Universitas Hasanuddin atas segala bantuan yang diberikan selama masa studi di Fakultas Kehutanan Universitas Hasanuddin.
4. **Siti Aminah** selaku Laboran di Laboratorium Bioteknologi dan Pemuliaan Pohon Fakultas Kehutanan yang telah banyak memberikan bimbingan dan ilmu tentang kultur jaringan tanaman.
5. **Hafizhah Al-Amanah dan Ibu Asti** yang telah mendampingi selama proses penelitian.
6. Sahabat terkasih Wulandari Mutiara Dewi, Mirnawati, Ainun, Warnida, Nurul, Timba, Heriah, Az, Fahmi, Maulana, Ichal dan Alius

terima kasih atas motivasi, semangat serta canda tawanya yang selalu hangat untuk dikenang.

7. Teman-teman KKN Gel.99 Desa Tanah Lemo terutama kepada Jeje, Erika, Ibnu dan Haryono terima kasih atas dukungan dan doanya.
8. Teman-teman angkatan **Pascasarjana Ilmu Kehutanan Angkatan 2020** atas kebersamaannya selama masa studi di Program Magister Ilmu Kehutanan.
9. Teman-teman **Virbius angkatan 2015** atas segala dukungan dan kebersamaannya selama menempuh masa studi di Fakultas Kehutanan Universitas Hasanuddin hingga saat ini.
10. Teman-teman **Laboratorium Bioteknologi dan Pemuliaan Pohon** atas segala bantuannya selama proses penelitian.

Penghormatan dan ucapan terima kasih yang sedalam-dalamnya penulis persembahkan tesis ini kepada orang tua tercinta, Ayahanda **Nurdin** serta Ibunda **Suria** atas segala doa, kasih sayang, motivasi dan didikannya selama ini, serta saudara tercinta kak Dirman, Kak Sultan, Kak Rizal, Kak Mina, Suharni, Sarlina dan Rais yang selalu mendoakan dan memberikan dukungan kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan studi di Program Studi Magister Ilmu Kehutanan. Ucapan terima kasih juga saya sampaikan kepada Kak Iswan atas segala doa dan dukungan yang telah diberikan selama ini. Semoga Allah SWT senantiasa memberikan limpahan berkah dan hidayah-Nya. Akhir kata penulis mengharapkan semoga tesis ini dapat bermanfaat bagi semua pihak khususnya bagi penulis sendiri.

Wassalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh.

Penulis



Hasmawati

## ABSTRAK

HASMAWATI. Induksi Polyploid Murbei (*Morus nigra*) Melalui Perlakuan Kolkisin secara *In Vitro* dibawah Bimbingan Siti Halimah Larekeng dan Sitti Nuraeni.

Murbei merupakan pakan utama ulat sutera yang memegang peranan penting dalam menunjang pengembangan persuteraan alam. Akan tetapi produktivitas daun murbei yang dibudidayakan petani tergolong masih rendah. Upaya perbaikan genetik tanaman perlu dilakukan dalam rangka meningkatkan keragaman genetik murbei dengan menginduksi tanaman poliploid menggunakan kolkisin secara *in vitro* sehingga didapatkan sifat yang lebih baik dengan produktivitas yang tinggi. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan konsentrasi dan lama perendaman kolkisin terbaik terhadap induksi poliploid murbei secara *in vitro* dengan menganalisis pengaruhnya terhadap karakter morfologi, stomata dan tingkat ploidi tanaman murbei. Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan acak lengkap faktorial 2 faktor yaitu konsentrasi (0,3%, 0,4%, 0,5%, 0,6%) dan lama perendaman kolkisin (6 jam, 9 jam, 12 jam) yang dianalisis menggunakan perangkat lunak *R Stastistic* dan *Microsoft Excel*. Hasil analisis menunjukkan bahwa konsentrasi dan lama perendaman kolkisin memberikan pengaruh terhadap karakter morfologi, stomata dan tingkat ploidi murbei yang diinduksi kolkisin secara *in vitro*. Konsentrasi dan waktu perendaman kolkisin terbaik terhadap karakter morfologi terdapat pada konsentrasi K4 (0,6%) dan waktu perendaman L3 (12 jam) yang mampu memberikan pengaruh signifikan terhadap peningkatan panjang daun, jumlah akar dan panjang akar. Konsentrasi kolkisin K4 (0,6%) dan lama perendaman L3 (12 jam) juga memberikan nilai terbaik terhadap karakter stomata tanaman murbei dengan meningkatkan ukuran (panjang dan lebar) stomata sedangkan hasil analisis terhadap tingkat ploidi tanaman murbei menunjukkan terjadinya peningkatan ploidi tanaman menjadi mixoploid pada beberapa perlakuan dengan nilai tertinggi terdapat pada konsentrasi kolkisin 0,5% (K3) dan lama perendaman 9 jam (L2).

**Kata Kunci:** Murbei, Kolkisin, *In Vitro*, Morfologi, Stomata, Ploidi

## ABSTRACT

HASMAWATI. Induction of Mulberry Polyploid (*Morus* sp.) Through Colchicine Treatment by In Vitro under the guidance of Siti Halimah Larekeng and Sitti Nuraeni.

Mulberry is the main feed for silkworms which plays an important role in supporting the development of natural silk. However, the productivity of mulberry leaves cultivated by farmers in South Sulawesi is still low. Efforts to improve plant genetics need to be carried out by inducing polyploid using colchicine directly in vitro to obtain better properties with high productivity. This study aimed to obtain colchicine's best concentration and soaking time against polyploid mulberry induction in vitro on morphological characteristics, stomata characteristics and ploidy levels. The research used Completely Randomized Factorial design with two factors, namely concentration (0.3%, 0.4%, 0.5%, 0.6%) and colchicine soaking time (6 hours, 9 hours, 12 hours) which were analyzed using software R Statistics and Microsoft Excel. The results of the analysis showed that the concentration and soaking time of colchicine used had an effect on the morphological characteristics, stomata characteristics and ploidy levels of mulberry induced in vitro. The best concentration and soaking time of colchicine on morphological characteristics found in the concentration of colchicine K4 (0.6%) and the soaking time of L3 (12 hours) which was able to give a significant effect on increasing the leaf length, number of roots and root length. The concentration of colchicine K4 (0.6%) and the soaking time of L3 (12 hours) used also give the highest effect on increasing the size (length and width) of the stomata in mulberry. In comparison, the ploidy levels showed an increase in plant ploidy to mixoploid in several treatments, and the highest value was found in the colchicine concentration of K3 (0.5%) and soaking time of L2 (9 hours).

**Keywords:** Mulberry, Colchicine, In Vitro, Morphological, Stomata, Ploidy

## DAFTAR ISI

HALAMAN PENGAJUAN.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN TESIS.....	iv
KATA PENGANTAR .....	v
ABSTRAK .....	vii
ABSTRACT.....	viii
DAFTAR ISI .....	ix
DAFTAR TABEL .....	xii
DAFTAR GAMBAR .....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xiv
BAB I.....	1
PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang .....	1
B. Rumusan Masalah .....	4
C. Tujuan Penelitian.....	4
D. Kegunaan Penelitian .....	4
BAB II.....	6
TINJAUAN PUSTAKA.....	6
A. Murbei .....	6
1. Taksonomi Murbei .....	6
2. Morfologi Murbei .....	7
4. <i>Morus nigra</i> .....	8
1. Komponen Media Kultur Jaringan.....	11
2. Tahapan Perbanyakkan Tanaman secara <i>in vitro</i> .....	13

C. Mutasi Kromosom .....	15
D. Kolkisin.....	16
1. Pengaruh Kolkisin terhadap Morfologi .....	17
2. Pengaruh Kolkisin terhadap Fisiologi.....	18
E. Kerangka Pemikiran .....	19
BAB III.....	23
METODE PENELITIAN.....	23
A. Waktu dan Tempat Penelitian .....	23
B. Alat dan Bahan.....	23
C. Prosedur Penelitian .....	23
1. Sterilisasi Alat dan Bahan .....	25
2. Pembuatan Media.....	26
3. Pemberian Perlakuan dan Penanaman .....	27
D. Variabel Penelitian .....	28
1. Pengamatan Morfologi.....	28
2. Pengamatan Stomata .....	28
3. Pengamatan kromosom.....	29
E. Rancangan Penelitian .....	29
F. Analisis Data .....	30
BAB IV .....	32
HASIL DAN PEMBAHASAN .....	32
A. Karakter Morfologi .....	32
1. Waktu muncul tunas .....	32
2. Jumlah Daun.....	34
3. Panjang dan Lebar Daun.....	35
4. Tinggi Tanaman.....	37

5. Jumlah Akar.....	38
6. Panjang Akar .....	39
B. Karakter Stomata .....	39
1. Jumlah Stomata.....	40
2. Panjang Stomata .....	41
3. Lebar Stomata .....	43
C. Tingkat Ploidi.....	44
D. Korelasi Antara Karakter Morfologi, Stomata dan Tingkat Ploidi ...	47
BAB V .....	50
PENUTUP.....	50
A. Kesimpulan.....	50
B. Saran.....	50
DAFTAR PUSTAKA.....	52

## DAFTAR TABEL

Tabel 1. Kombinasi perlakuan.....	30
Tabel 2. Uji lanjut Duncan rata-rata waktu muncul tunas .....	33
Tabel 3. Uji lanjut Duncan pengaruh kombinasi perlakuan konsentrasi dan lama perendaman kolkisin terhadap rata-rata panjang daun .....	36
Tabel 4. Uji lanjut Duncan rata-rata jumlah akar .....	38
Tabel 5. Uji lanjut Duncan rata-rata panjang akar.....	39
Tabel 6. Uji lanjut Duncan pengaruh konsentrasi terhadap rata-rata jumlah stomata .....	40
Tabel 7. Uji lanjut Duncan pengaruh lama perendaman terhadap rata-rata jumlah stomata.....	41
Tabel 8. Uji lanjut Duncan pengaruh kombinasi perlakuan konsentrasi dan lama perendaman kolkisin terhadap rata-rata panjang stomata .....	42
Tabel 9. Uji lanjut Duncan pengaruh kombinasi perlakuan konsentrasi kolkisin terhadap rata-rata lebar stomata .....	43
Tabel 10. Uji lanjut Duncan pengaruh konsentrasi kolkisin terhadap rata-rata tingkat ploidi diploid .....	45

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. <i>M. nigra</i> .....	9
Gambar 2. Kerangka pikir penelitian .....	22
Gambar 3. Alur penelitian .....	24
Gambar 4. Cara pengukuran panjang stomata dan lebar sel penjaga stomata .....	29
Gambar 5. Diagram batang rata-rata jumlah daun pada perlakuan konsentrasi dan lama perendaman kolkisin. ....	35
Gambar 6. Diagram batang rata-rata lebar daun pada perlakuan konsentrasi dan lama perendaman kolkisin .....	37
Gambar 7. Diagram batang rata-rata tinggi pada perlakuan konsentrasi dan lama perendaman kolkisin .....	38
Gambar 8. Histogram <i>flow cytometry</i> dari berbagai tingkat ploidi tanaman murbei.....	45
Gambar 9. Diagram batang rata-rata ploidi mixoploid pada kombinasi perlakuan konsentrasi dan lama perendaman kolkisin .....	46

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Komposisi larutan stok media MS .....	58
Lampiran 2. Anova waktu muncul tunas .....	59
Lampiran 3. Anova jumlah daun .....	59
Lampiran 4. Anova panjang daun .....	59
Lampiran 5. Anova lebar daun .....	59
Lampiran 6. Anova tinggi plantlet.....	59
Lampiran 7. Anova jumlah akar .....	59
Lampiran 8. Anova panjang akar .....	60
Lampiran 9. Anova jumlah stomata.....	60
Lampiran 10. Anova panjang stomata.....	60
Lampiran 11. Anova lebar stomata .....	60
Lampiran 12. Anova tingkat ploidi (diploid) .....	60
Lampiran 13 . Anova tingkat ploidi (mixoploid).....	60
Lampiran 14. Dokumentasi kegiatan.....	61

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **A. Latar Belakang**

Persuteraan alam sebagai salah satu komoditas Hasil Hutan Bukan Kayu (HHBK) unggulan nasional (Kemenhut, 2014) merupakan bagian dari kegiatan perhutanan sosial yang ditujukan untuk peningkatan perekonomian serta pemberdayaan masyarakat utamanya disekitar kawasan hutan. Sulawesi Selatan menjadi salah satu sentra persuteraan alam yang memasok lebih dari 80% total pasokan nasional sehingga sangat potensial untuk dikembangkan dengan kondisi agroklimat yang sesuai. Tekstur serat yang halus memberikan kesan yang mewah sehingga produk yang dihasilkan banyak digemari masyarakat baik didalam maupun diluar negeri. Hal ini menunjukkan bahwa pengembangan persuteraan alam di Sulawesi Selatan perlu dilakukan terhadap seluruh aspek pendukungnya mulai dari penanaman murbei, pemeliharaan ulat, pemintalan kokon, produksi benang, dan penenunan rakyat sehingga dapat diandalkan sebagai sumber mata pencaharian masyarakat dan berkontribusi terhadap pendapatan negara (Nuraeni, 2017).

Produktivitas persuteraan alam di Sulawesi Selatan berdasarkan hasil penelitian Sadapotto (2012) menunjukkan perkembangan yang fluktuatif dan cenderung mengalami penurunan karena pengaruh rendahnya tingkat produksi kokon sehingga produksi benang yang dihasilkan pun ikut menurun. Total kebutuhan benang nasional setiap tahun mencapai 900 ton dan sampai saat ini masih belum dapat dipenuhi oleh pasokan benang sutera dalam negeri yang hanya mampu memenuhi sekitar 5% dari kebutuhan, 95% sisanya harus diimpor dari Cina. Padahal menurut Assosiasi Sutera Indonesia (ASSIA) kualitas benang sutera lokal lebih baik dibandingkan produk Cina (Pudjiono dkk, 2016). Faktor utama yang berpengaruh terhadap fluktuasi ini adalah ketersediaan daun murbei

sebagai pakan utama ulat sutera. Kualitas dan kuantitas daun murbei berpengaruh terhadap kualitas kokon yang dihasilkan sehingga untuk mendapatkan hasil yang optimal diperlukan daun murbei yang berkualitas baik dengan produktivitas tinggi (Muin dkk, 2015). Daun murbei dengan nutrisi yang baik dapat meningkatkan daya tahan ulat terhadap serangan penyakit dan meningkatkan produksi kokon 20% lebih banyak (Kaomini, 2003).

Jenis murbei yang umum dibudidayakan oleh petani saat ini mempunyai produksi daun yang relatif masih rendah yaitu 7-10 ton/ha/tahun (Santoso, 2012). Hasil penelitian Akzad (2021) mengenai keragaman genetik dan kandungan nutrisi murbei pada beberapa provenansi di Sulawesi Selatan yakni Kabupaten Wajo, Kabupaten Enrekang, dan Kabupaten Soppeng menunjukkan keragaman genetik antar individu didalam populasi yang tergolong masih rendah terutama pada provenansi soppeng. Jenis murbei yang umum dibudidayakan di Kabupaten Soppeng salah satunya adalah *Morus nigra* (Isnani dan Muin, 2015). *M. nigra* termasuk jenis murbei yang adaptif dengan kandungan protein dan lemak yang tinggi yang mendekati standar kandungan pakan yang baik bagi pertumbuhan ulat sutera (Akzad, 2021). Protein merupakan nutrisi yang sangat dibutuhkan oleh ulat kecil (instar I, II, dan III) dan ulat besar (instar IV dan V) untuk pembentukan kelenjar sutera (Samsijah dan Andadari, 1992).

Upaya perbaikan genetik tanaman melalui kegiatan pemuliaan perlu dilakukan untuk meningkatkan keragaman genetik tanaman sehingga didapatkan sifat yang lebih baik yakni memiliki umur panen yang pendek dengan produktivitas yang tinggi. Keragaman genetik yang tinggi merupakan faktor penting dalam mengembangkan varietas tanaman baru pada pemuliaan tanaman. Pemuliaan untuk memperbaiki genetik tanaman dapat dilakukan melalui mutasi genetik dengan menginduksi terbentuknya tanaman poliploid. Tanaman poliploid adalah tanaman yang memiliki tiga atau lebih set kromosom dalam sel-selnya dengan ukuran/biomassa yang lebih besar, metabolisme yang lebih cepat, kandungan metabolit sekunder

yang lebih banyak, dan lebih tahan terhadap kondisi cekaman biotik atau abiotik sehingga didapatkan hasil yang lebih banyak (Yang dkk, 2011; Song dkk, 2012).

Mutasi genetik untuk menginduksi terbentuknya tanaman poliploid dapat dilakukan dengan menggunakan kolkisin yang merupakan mutagen (penyebab mutasi) kimia yang telah banyak digunakan pada pemuliaan tanaman karena dapat memberikan hasil panen yang lebih baik. Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa perlakuan kolkisin berpengaruh terhadap karakter morfologi, stomata dan tingkat ploidi tanaman yang telah diinduksi. Nofitahesti dan Daryono (2016) melaporkan bahwa perlakuan kolkisin konsentrasi 0,01% dan 0,02% dengan lama waktu perlakuan 10 jam mampu menginduksi terbentuknya poliploid pada tanaman kedelai dan meningkatkan ukuran stomata, tinggi tanaman, dan berat biji sedangkan pada penelitian Zuyasna dkk (2021) kolkisin juga mampu menginduksi poliploid tanaman nilam dimana konsentrasi 0,3% menghasilkan daun dengan luas permukaan terbesar dan konsentrasi 0,2% dengan lama perendaman 6 jam menghasilkan jumlah cabang terbanyak.

Induksi poliploid menggunakan kolkisin secara *in vitro* efektif dapat meningkatkan produksi benih baik dari segi kualitas maupun kuantitasnya sehingga didapatkan varietas unggul yang steril dalam jumlah banyak dengan waktu relatif singkat serta memungkinkan dalam manipulasi genetik (Mulyono, 2012). Hasil penggandaan kromosom secara *in vitro* akan lebih terlihat karena kolkisin bisa berpenetrasi ke bagian nukleus dan sitoplasma (Husni dkk, 1995). Keberhasilan induksi poliploid secara *in vitro* sangat dipengaruhi oleh konsentrasi dan lama perendaman eksplan pada larutan kolkisin yang digunakan. Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini penting dilakukan untuk mendapatkan konsentrasi dan lama perendaman kolkisin terbaik terhadap induksi poliploid murbei secara *in vitro* dengan menganalisis pengaruhnya terhadap karakter morfologi, stomata dan tingkat ploidi tanaman sebagai upaya dalam mendukung program pemuliaan tanaman murbei yang unggul sehingga dapat

meningkatkan produktivitas persuteraan alam yang ada khususnya di Sulawesi Selatan.

## **B. Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Bagaimana pengaruh kombinasi perlakuan konsentrasi dan lama perendaman kolkisin terhadap karakter morfologi tanaman murbei secara *in vitro*?
2. Bagaimana pengaruh kombinasi perlakuan konsentrasi dan lama perendaman kolkisin terhadap karakter stomata tanaman murbei secara *in vitro*?
3. Bagaimana pengaruh kombinasi perlakuan konsentrasi dan lama perendaman kolkisin terhadap tingkat ploidi tanaman murbei secara *in vitro*?

## **C. Tujuan Penelitian**

Tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Menganalisis pengaruh kombinasi perlakuan konsentrasi dan lama perendaman kolkisin terhadap karakter morfologi murbei secara *in vitro*.
2. Menganalisis pengaruh kombinasi perlakuan konsentrasi dan lama perendaman kolkisin terhadap karakter stomata murbei secara *in vitro*.
3. Menganalisis pengaruh kombinasi perlakuan konsentrasi dan lama perendaman kolkisin terhadap tingkat ploidi tanaman murbei secara *in vitro*.

## **D. Kegunaan Penelitian**

Hasil penelitian diharapkan akan dapat memberikan informasi terkait konsentrasi dan lama perendaman kolkisin terbaik dalam menginduksi terbentuknya poliploid tanaman murbei sebagai upaya dalam mendukung

program pemuliaan tanaman murbei yang unggul baik dari segi kualitas maupun kuantitasnya sehingga dapat meningkatkan produktivitas persuteraan alam yang ada khususnya di Sulawesi Selatan.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Murbei

##### 1. Taksonomi Murbei

Adapun taksonomi murbei antara lain sebagai berikut (Isnain dan Muin, 2015).

Divisio : *Spermatophyta*

Sub Divisio : *Angiospermae*

Classis : *Dicotyledoneae*

Ordo : *Urticales*

Famili : *Moraceae*

Genus : *Morus*

Species : *Morus sp.*

Murbei (*Morus sp.*) sebagai salah satu faktor yang berpengaruh terhadap persuteraan alam memegang peranan penting karena merupakan pakan utama ulat sutera. Jumlah dan kualitas daun murbei dapat mempengaruhi kesehatan ulat, produksi dan kualitas kokon yang nantinya akan menentukan kualitas dan kuantitas benang sutera yang dihasilkan. Hasil penelitian terkait pengaruh pakan terhadap kokon telah banyak dilakukan, salah satunya oleh (Kaomini, 2003) yang menyatakan bahwa daun murbei dengan nutrisi yang baik dapat meningkatkan produksi kokon 20% lebih banyak serta daya tahan ulat terhadap serangan penyakit. Produksi kokon yang berkualitas juga dipengaruhi oleh jenis tanaman murbei yang unggul dengan kandungan unsur penting yang dibutuhkan ulat sutera berupa air, protein, karbohidrat, lemak, dan kalsium.

Murbei telah lama dikenal oleh masyarakat sebagai pakan utama ulat sutera yang memiliki karakteristik morfologi yang berbeda-beda berdasarkan jenisnya. Jenis murbei yang terdapat di Indonesia lebih dari 100 jenis tetapi yang umum dikenal adalah jenis *M. cathayana*, *M. alba*,

*M. multicaulis*, *M. nigra*, *M. australis*, dan *M. macroura*, *M. bombycis* var *lembang*, *M. khumpay*, dan *M. alba* var. *kanva* II (Prasetyawati dan Suryanto, 2021; Wulandari dkk, 2021). Adapun jenis murbei budidaya di Sulawesi Selatan sebagai sentra pengembangan persuteraan alam antara lain *M. indica* yang umumnya ditanam di Kabupaten Enrekang sedangkan di Kabupaten Soppeng umumnya menanam *M. alba*, *M. multicaulis* dan *M. nigra* (Isnain dan Muin, 2015).

## **2. Morfologi Murbei**

Murbei termasuk tanaman perdu yang persebarannya cukup luas, mulai dari daerah sub tropis sampai daerah tropis. Murbei di Indonesia dapat tumbuh pada ketinggian 10-3600 mdpl yang memiliki banyak percabangan dengan arah yang tegak, mendatar dan menggantung, tingginya dapat mencapai 5-6 m, tetapi bila dibiarkan tumbuh dapat mencapai 20-25 m (Fahma, 2020). Daun murbei berdasarkan jenisnya memiliki bentuk yang berbeda-beda antara lain berbentuk oval, agak bulat, berlekuk dan ada pula yang tidak berlekuk dengan tepi daun bergerigi serta ujung daun meruncing atau membulat (Andadari dkk, 2013).

Permukaan daunnya halus mengkilap dengan tekstur kasar dan agak kasar. Bunga murbei berumah satu (*monoecious*) atau dua (*dioecious*) dengan bunga jantan dan betina yang masing-masing tersusun dalam untaian terpisah. Buah murbei merupakan buah majemuk yang berwarna hijau pada waktu muda, berwarna kuning kemerahan pada waktu agak tua dan merah sampai ungu kehitaman jika sudah tua. Murbei memiliki perakaran luas dan dalam. Jika berasal dari stek, perakarannya mampu tumbuh ke bawah mirip dengan akar tunggang hingga mencapai kedalaman 10-15 cm dari permukaan tanah, sedangkan akar tanaman murbei yang berumur tua mampu menembus kedalaman lebih dari 300 cm (Nunuh, 2012).

## **3. Fisiologi Murbei**

Bagian dari fisiologi murbei yang berperan penting dalam proses transpirasi dan fotosintesis adalah stomata. Stomata merupakan lubang-

lubang kecil berbentuk lonjong yang dikelilingi oleh dua sel epidermis khusus yang disebut sel penutup (*guard cell*). Sel penutup terdiri dari sel-sel epidermis yang berfungsi mengatur pelebaran dan penyempitan celah yang ada diantaranya (Kartasaputra, 1998). Stomata berfungsi sebagai jalan masuknya CO<sub>2</sub> dari udara pada proses fotosintesis, sebagai jalan penguapan (transpirasi), dan sebagai jalan pernapasan (respirasi). Pori yang terdapat pada stomata merupakan tempat terjadinya pertukaran gas dan air antara atmosfer dengan sistem ruang antar sel yang berada pada jaringan mesofil di bawah epidermis (Campbell, 2003).

Ukuran stomata berpengaruh terhadap proses transpirasi semakin besar ukuran stomata menyebabkan peningkatan laju transpirasi sehingga laju unsur hara dan penyerapan air dapat berlangsung dan mencegah terjadinya turgor yang berlebihan. Air berperan dalam proses fotosintesis dengan meningkatkan fiksasi CO<sub>2</sub> dalam daun sehingga pertumbuhan tanaman meningkat. Stomata terdapat pada bagian tumbuhan yang berhubungan dengan udara seperti daun, batang dan rizoma, akan tetapi umumnya banyak ditemukan pada bagian daun. Stomata pada daun murbei terdapat pada satu permukaan saja yang penyebarannya hanya didapatkan pada sisi bawah daun. Struktur epidermis dan stomata dapat dilihat melalui pengamatan preparat sayatan paradermal permukaan atas dan bawah daun tumbuhan (Kartasaputra, 1998).

#### **4. *Morus nigra***

*M. nigra* atau murbei hitam merupakan salah satu spesies dari genus *Morus* yang banyak dibudidayakan sebagai pakan ulat sutera dan memiliki persebaran yang cukup luas, mulai dari daerah sub tropis sampai dengan daerah tropis. *M. nigra* termasuk jenis murbei yang adaptif karena dapat tumbuh dengan baik pada suhu minimum 13°C dan suhu maksimum 38°C (Atmosoedarjo, 2000). *M. nigra* berbentuk semak (perdu) yang tingginya dapat mencapai 1,5 meter dengan batang berwarna hijau agak kecokelatan dan memiliki banyak percabangan. Daun berwarna hijau tua berbentuk bulat telur, pangkal daun berbentuk hati dan agak berbulu yang memiliki panjang antara 5-10 cm atau lebih, tergantung dari daerah

tumbuhnya. Buah ketika masih muda berwarna hijau tua dan berwarna hitam apabila telah matang (Abbasi dkk, 2014). Buah *M. nigra* L. memiliki kandungan kimia yang tinggi seperti antosianin, fenolik, flavonoid dan komponen asam lemak (Khaira dan Ramadhani, 2018) yang menguntungkan bagi kesehatan manusia diantaranya dapat menurunkan hipertensi, mengurangi palpitasi, mengobati insomnia, batuk berdahak, telinga berdenging, sakit kepala (vertigo), sembelit pada orang tua, anemia, sakit otot dan persendian, sakit tenggorokan, rambut beruban dan sakit otot (Wirani, 2017).

Kualitas dan kuantitas daun murbei merupakan salah satu faktor penentu keberhasilan dalam pemeliharaan ulat sutera dan kualitas kokon yang dihasilkan. Kualitas daun murbei berhubungan dengan susunan senyawa kimia yang terkandung didalamnya yang secara umum meliputi unsur air, protein, karbohidrat dan kalsium. *M. nigra* berdasarkan hasil penelitian sebelumnya oleh Akzad (2021) merupakan jenis murbei yang memiliki kandungan protein yang tinggi dan lemak yang mendekati standar kandungan pakan yang baik bagi pertumbuhan ulat sutera. Siklus hidup ulat sutera selama masa larva mengalami empat kali ganti kulit serta memiliki lima periode makan yaitu instar I, II, III, IV dan V. Protein merupakan nutrisi yang sangat dibutuhkan oleh ulat kecil (instar I, II, dan III) dan ulat besar (instar IV dan V) untuk pembentukan kelenjar sutera (Samsijah dan Andadari, 1992).



(a)

(b)

Gambar 1. *M. nigra* (a) daun dan (b) buah (Wirani, 2017)

## B. Kultur Jaringan

Kultur jaringan merupakan teknik perbanyak tanaman dengan mengisolasi bagian tanaman seperti protoplas, sel, jaringan dan organ yang kemudian ditumbuhkan dalam media buatan pada kondisi aseptik secara *in vitro* dan terkendali (Yusnita, 2015). Bagian tanaman yang dijadikan sebagai bahan awal perbanyak dalam kultur *in vitro* disebut eksplan yang akan berkembang menjadi tanaman lengkap jika dikulturkan pada media yang sesuai (plantlet). Media buatan kultur jaringan dapat berbentuk semi padat atau cair yang umumnya mengandung semua unsur hara esensial yang dibutuhkan tanaman seperti sumber karbon (gula), vitamin dan komponen organik lain, serta zat pengatur tumbuh (ZPT) yang diperlukan eksplan untuk tumbuh dan berkembang menjadi tanaman utuh. Teknik perbanyak kultur jaringan didasari oleh teori totipotensi sel (*cellular totipotency*) dimana setiap sel tanaman memiliki kapasitas untuk beregenerasi membentuk tanaman secara utuh jika berada pada kondisi yang sesuai. Tanaman baru yang diperoleh dengan cara ini bersifat identik dengan induknya dan dapat menghasilkan bibit dalam jumlah besar tanpa memerlukan jumlah induk yang banyak, dalam waktu relatif singkat serta digunakan untuk mengeliminasi virus tanaman (Dwiyani, 2015).

Syarat utama yang harus diperhatikan dalam kultur jaringan agar dapat berjalan dengan baik antara lain kondisi eksplan yang dikulturkan terbebas dari mikroorganisme (aseptik), pengulturan eksplan dalam tabung atau wadah transparan (*in vitro*), suplai unsur hara yang lengkap, tersedianya sumber energi dan penambahan ZPT tertentu dalam media kultur jika diperlukan, serta inkubasi kultur ditempat yang terkontrol pencahayaan dan suhunya. ZPT tersebut digunakan untuk mengarahkan pertumbuhan dan perkembangan eksplan menjadi struktur morfologi tanaman tertentu (Singh and Shetty, 2011).

## 1. **Komponen Media Kultur Jaringan**

Media tanam kultur jaringan terdiri dari sejumlah unsur yang dibutuhkan untuk pertumbuhan tanaman dengan beberapa komponen sebagai berikut.

### ***Aquades***

Komponen media terdiri dari 95% air sehingga diperlukan air penyusun media dengan kualitas yang baik karena rendahnya kualitas air yang digunakan dapat menghambat pertumbuhan tanaman yang dikulturkan (Yusnita, 2003).

### ***Zat Anorganik***

Kebutuhan tanaman kultur jaringan secara *in vitro* pada dasarnya sama dengan kebutuhan tanaman secara *ex vitro* yang meliputi hara makro dan mikro. Hara makro adalah unsur hara esensial yang dibutuhkan tanaman dalam jumlah banyak seperti *nitrogen* (N), *posfor* (P), *kalium* (K), *kalsium* (Ca), *magnesium* (Mg), dan *sulfur* (S). Zat anorganik lain yakni hara mikro adalah unsur hara esensial yang dibutuhkan dalam jumlah sedikit oleh tanaman seperti *ferum/ zat besi* (Fe), *manganese* (Mn), *zinc* (Zn), *cobalt* (Co), *copper* (Cu) dan *molybdenum* (Mo). Unsur-unsur tersebut baik hara makro maupun hara mikro, diformulasikan dalam bentuk garam anorganik agar mudah larut dalam air sehingga dapat diserap dan digunakan oleh tanaman (Yusnita, 2003).

### ***Sumber Karbohidrat***

Jenis gula yang digunakan sebagai sumber karbohidrat bagi eksplan *in vitro* adalah sukrosa. Penambahan sukrosa kedalam media kultur berperan sebagai sumber karbon dan sumber energi yang digunakan tanaman untuk tumbuh dan melakukan pembelahan sel. Hal ini dikarenakan eksplan atau bagian tanaman yang dikulturkan tidak autotrof dan tidak dapat melakukan fotosintesis untuk menghasilkan karbohidrat (Silalahi, 2015).

### ***Vitamin***

Vitamin merupakan zat organik yang berfungsi sebagai katalisator, stimulator pertumbuhan dan meminimalkan stres tanaman dalam keadaan

*in vitro* pada berbagai proses metabolisme. Vitamin digunakan untuk pertumbuhan sel serta proses diferensiasi sel dan jaringan yang ditanam secara *in vitro*. Beberapa jenis vitamin yang digunakan dalam kultur *in vitro* dari kelompok vitamin B adalah *thiamin* (B1), *nicotinic acid* (B3) dan *pyridoxine* (B6) (Dwiyani, 2015) sedangkan vitamin C yang sering digunakan seperti asam sitrat dan asam askorbat sebagai antioksidan untuk mencegah atau mengurangi pencoklatan eksplan (Indriani, 2014).

### ***Myo-inositol***

*Myo-inositol* adalah senyawa golongan karbohidrat yang ditambahkan dalam media kultur untuk menstimulasi pertumbuhan sel berbagai spesies tanaman. Meskipun bukan tergolong vitamin, namun senyawa ini akan terpecah menjadi vitamin C dan pektin yang memiliki peran dalam pembelahan sel (Dwiyani, 2015).

### ***Pemadat Media***

Media tanam kultur jaringan dapat berbentuk semi padat maupun cair yang ditambahkan zat pematat berupa agar. Agar merupakan polisakarida yang diperoleh dari rumput laut dan dapat mengikat air. Media tanam sebaiknya tidak terlalu padat agar penyerapan nutrisi dapat berjalan baik. Penggunaan media cair pada perkecambahan biji secara *in vitro* berguna untuk mempermudah terjadinya perkecambahan sedangkan media semi padat memungkinkan eksplan melakukan kontak dengan nutrient yang terdapat pada media (Dwiyani, 2015). Kelebihan penggunaan agar sebagai bahan pematat media diantaranya mampu bercampur dengan air membentuk gel pada suhu 60°-100°C dan stabil pada berbagai suhu inkubasi, tidak dapat diurai enzim dan tidak bereaksi dengan komponen media (Indriani, 2014).

### ***Zat Pengatur Tumbuh***

Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) merupakan senyawa yang memiliki karakteristik yang sama dengan hormon, tetapi diproduksi secara endogen yang berperan terhadap pengaturan metabolik pertumbuhan tanaman. Penambahan ZPT dilakukan karena eksplan belum mampu menciptakan hormon pertumbuhan secara endogen dengan kadar yang

dibutuhkan dalam proses pertumbuhannya. Konsentrasi pemberian ZPT dalam media kultur disesuaikan dengan tujuan pengkulturan (Indriani, 2014). Jenis ZPT yang sering digunakan dalam kultur jaringan adalah golongan auksin dan sitokinin. Auksin merupakan senyawa yang berfungsi menginduksi pembelahan sel, pemanjangan sel, dominansi apikal, pembentukan akar adventif, dan embriogenesis somatik. Auksin yang banyak digunakan pada kultur *in vitro* adalah *indole-3 acetic acid* (IAA), *1-naphthaleneacetic acid* (NAA), *2,4 dichlorophenoxyacetic acid* (2,4-D) dan *indole-3-butyric acid* (IBA) sedangkan sitokinin merupakan senyawa yang berfungsi untuk merangsang pembelahan sel, inisiasi dan pertumbuhan tunas tanaman secara *in vitro*. *Benzyladenine* (BA), *6-benzylaminopurine* (BAP), *6-furfurylaminopurine* (kinetin), *6-4-hydroxy-3-methyl-trans-2-butenylaminopurine* (*zeatin*) dan *thidiazuron* (TDZ) merupakan jenis sitokinin yang banyak digunakan dalam kultur jaringan (Zulkarnain, 2011).

## **2. Tahapan Perbanyak Tanaman secara *in vitro***

Proses perbanyak tanaman secara *in vitro* terdiri dari beberapa tahapan sebagai berikut.

### ***Pemilihan dan Persiapan Tanaman Induk***

Perbanyak tanaman secara *in vitro* diawali dengan pemilihan dan persiapan tanaman induk yang akan dijadikan sebagai sumber eksplan. Kriteria tanaman induk yang dipilih harus sehat, bebas penyakit dan memiliki pertumbuhan yang baik sehingga eksplan yang digunakan tidak menjadi sumber kontaminan sehingga kondisi aseptik kultur tetap terjaga (Dwiyani, 2015).

### ***Inisiasi***

Inisiasi merupakan tahapan yang bertujuan untuk mendapatkan kultur eksplan yang aseptik atau bebas dari kontaminasi mikroorganisme. Hal penting yang perlu diperhatikan dalam tahap inisiasi adalah pembuatan media steril, sterilisasi eksplan dan penanaman pada media tanam. Tahapan ini dikatakan berhasil apabila didapatkan eksplan yang aseptik dan menunjukkan pertumbuhan awal eksplan (Yusnita, 2015).

### **Multiplikasi**

Multiplikasi adalah tahapan yang dilakukan untuk merangsang tunas yang terbentuk menggandakan diri menjadi tunas-tunas yang baru baik tunas aksilar maupun tunas adventif pada media induksi. Tunas-tunas yang didapatkan selanjutnya disubkultur ke dalam media elongasi tunas agar mengalami pertumbuhan tinggi dan akan dipotong-potong kembali untuk disubkultur kedalam media induksi tunas yang mengandung sitokinin. Jumlah bibit yang dihasilkan tergantung kemampuan multiplikasi tunas (Sulistiani dan Ahmad, 2012).

### **Pengakaran**

Pengakaran adalah tahapan yang dilakukan dengan memindahkan tunas-tunas yang sudah tumbuh dari tahap multiplikasi ke media induksi akar untuk membentuk plantlet. Tahapan ini dapat dilakukan secara *in vitro* maupun *ex vitro*. Induksi akar secara *in vitro* dilakukan dengan menstimulasi pertumbuhan akar tunas pada media yang mengandung auksin sedangkan induksi akar secara *ex vitro* dilakukan dengan memindahkan plantlet ke dalam media semisteril di luar laboratorium yang sebelumnya telah dicelupkan dalam larutan yang mengandung auksin. Hal ini dimaksudkan untuk merangsang tumbuhnya akar sebelum dipindahkan ke dalam media yang telah disiapkan (Dwiyani, 2015).

### **Aklimatisasi**

Aklimatisasi merupakan tahap adaptasi tanaman hasil kultur jaringan (plantlet) dari kondisi *in vitro* ke kondisi *ex vitro* melalui pemindahan tanaman dari dalam botol (*semiautotroph*) ke lapangan atau rumah kaca (*autotroph*). Plantlet yang akan diaklimatisasi dibersihkan dari sisa agar bekas media untuk menghindari pertumbuhan jamur atau bakteri kemudian setelah penanaman, disungkup menggunakan plastik transparan selama beberapa hari untuk menjaga kelembaban (Prasetyorini, 2019).

### C. Mutasi Kromosom

Kromosom merupakan pembawa materi genetik yang berperan penting dalam proses peningkatan kualitas produk pemuliaan. Jumlah kromosom pada setiap spesies berbeda-beda dan khas. Sebagian besar organisme tingkat tinggi memiliki jumlah kromosom yang bersifat diploid dan paling sering ditemukan di alam. Materi genetik setiap makhluk hidup pada keadaan normal stabil atau tidak berubah-ubah, akan tetapi akibat adanya pengaruh luar maupun dari dalam sel itu sendiri dapat menyebabkan terjadinya perubahan yang disebut mutasi (Suminah dkk, 2002). Mutasi merupakan perubahan materi genetik pada susunan kromosom maupun gen suatu makhluk secara tiba-tiba, acak, dan menjadi dasar dari sumber variasi organisme hidup yang bersifat terwariskan yang menghasilkan organisme baru (Girija and Dhanavel, 2009). Proses terjadinya mutasi disebut dengan mutagenesis yang terjadi pada mutan (makhluk hidup yang mengalami mutasi) dan disebabkan oleh mutagen (faktor penyebab mutasi) (Shah dkk, 2008). Mutasi umumnya terjadi pada bagian sel yang sedang aktif membelah seperti pada tunas dan biji.

Mutasi kromosom terjadi karena adanya perubahan jumlah kromosom (ploidi) yang menyebabkan kehilangan atau penambahan perangkat kromosom (genom). Makhluk hidup umumnya bersifat diploid yang memiliki 2 perangkat kromosom atau 2 genom pada sel somatisnya ( $2n$  kromosom). Organisme yang kehilangan 1 set kromosom sehingga hanya memiliki satu genom atau satu perangkat kromosom ( $n$  kromosom) dalam sel somatisnya disebut monoploid sedangkan yang memiliki lebih dari dua genom disebut poliploid seperti triploid ( $3n$  kromosom); tetraploid ( $4n$  kromosom), heksaploid ( $6n$  kromosom).

Tanaman poliploid adalah tanaman yang memiliki tiga atau lebih set kromosom dalam sel-selnya dengan ukuran/biomassa yang lebih besar, metabolisme yang lebih cepat, kandungan metabolit sekunder yang lebih banyak, dan lebih tahan terhadap kondisi cekaman biotik atau abiotik. Hal ini menjadi dasar dalam melakukan perbaikan genetik tanaman melalui mutasi kromosom untuk menginduksi poliploid sehingga didapatkan hasil

yang lebih banyak (Yang dkk, 2011; Song dkk, 2012). Penentuan tingkat ploidi pada tanaman menurut (Moghbel dkk, 2015) dapat dilakukan melalui analisis kandungan total DNA di dalam inti sel. Kandungan total DNA akan meningkat sejalan dengan terjadinya penggandaan kromosom (poliploidisasi). Induksi poliploid secara *in vitro* dapat dilakukan dengan mengganggu siklus sel antara fase sintesis DNA hingga akhir fase mitotik atau sebelum terjadinya sitokinesis menggunakan mutagen kimia salah satunya adalah kolkisin.

#### **D. Kolkisin**

Mutagen kimia yang paling sering digunakan dan terbukti efektif mampu menginduksi terbentuknya tanaman poliploid adalah kolkisin. Kolkisin ( $C_{22}H_{25}O_6N$ ) merupakan suatu alkaloid yang diperoleh dari umbi tanaman *Colchicum autumnale* L. dari famili Liliaceae yang berfungsi melemahkan pembentukan benang *spindle* sehingga pemisahan kromosom menjadi terhambat yang menyebabkan kromosom serta duplikatnya tetap dalam satu sel yang sama. Pembelahan sel tidak berlangsung sehingga menyebabkan penambahan kromosom pada sel dan terbentuk tanaman poliploid (Rosmaiti dan Dani, 2015). Tingkat keberhasilan kolkisin dalam menginduksi poliploid dipengaruhi oleh varian konsentrasi dan lama perendaman yang digunakan (Tharawoot dkk, 2012). Perlakuan kolkisin dapat diaplikasikan dengan cara perendaman, pencelupan, penetasan, pengolesan, penyuntikan, dan penyemprotan pada eksplan berupa biji, akar kecambah, ujung batang *plantlet*, dan pada bagian bunga (Mindar dkk, 1998).

Kolkisin dalam proses mutasi kromosom menghambat tahap metafase, mencegah polimerisasi tubulin menjadi mikrotubulin dan mencegah tubulin menjadi serat benang fungsional (benang gelendong) sehingga tahap anafase untuk pemisahan kromosom tidak terjadi. Dinding pemisah gagal terbentuk sehingga kromosom dan duplikatnya tetap berada didalam sel yang sama. Akibatnya pembelahan sel tidak berlangsung, sehingga pembelahannya dimulai dengan sel diploid diakhiri

dengan terbentuknya sel poliploid (Nasir, 2002). Induksi poliploid menggunakan kolkisin berpengaruh terhadap hasil panen yang didapatkan baik dari segi morfologi, fisiologi, dan produksinya sehingga upaya pemuliaannya telah banyak dilakukan, diantaranya pada tanaman jeruk Siam Simadu (Yulianti, 2014), terung (Pradana dan Hartatik, 2019), dan nilam (Zuyazna dkk, 2021).

Perubahan jumlah materi genetik pada sel tanaman setelah perlakuan kolkisin menyebabkan terjadinya pengaturan kembali (*rearrangement*) sel dimana sel yang mengalami mutasi harus dapat menyesuaikan kondisi biologi sel dengan jumlah kromosom berbeda. Sel mutan yang tidak dapat menyesuaikan diri tidak dapat tumbuh dan akan terdelesi selama proses pertumbuhan. Tingkat keberhasilan induksi mutasi dengan mutagen sangat ditentukan oleh jenis tanaman, kondisi sel, lama perendaman serta konsentrasi mutagen yang digunakan. Konsentrasi kolkisin yang efektif yaitu 0,01%-1,00% dengan lama perendaman 6-72 jam (Suryo, 2007).

Perlakuan perendaman kolkisin dengan konsentrasi rendah dan lama perendaman yang singkat memiliki daya hidup yang lebih tinggi dibandingkan perlakuan kolkisin dengan konsentrasi tinggi serta durasi perendaman yang lebih lama. Kolkisin merupakan senyawa mutagen kimia yang dapat menghambat pembentukan benang-benang *spindle* sehingga dapat menyebabkan pertumbuhan yang lambat bahkan kematian pada tanaman. Konsentrasi kolkisin yang terlalu tinggi atau perendaman yang terlalu lama memperlihatkan adanya pengaruh negatif yakni banyak sel yang rusak (Sinta dkk, 2018). Hasil yang sama didapatkan pada penelitian Moghbel dkk (2015) pada kultur *in vitro* *Glycyrrhiza glabra* var. glandulifera dan *Carthamus tinctorius* L. yang menyatakan bahwa konsentrasi tinggi dengan perendaman yang lama menyebabkan efek toksik pada planlet.

## **1. Pengaruh Kolkisin terhadap Morfologi**

Pengaruh kolkisin terhadap morfologi murbei dapat diamati melalui berbagai karakter pertumbuhan seperti tinggi tanaman, jumlah daun,

panjang, dan lebar daun. Induksi poliploid melalui perlakuan kolkisin merupakan salah satu pemuliaan tanaman yang dapat meningkatkan kualitas tanaman, seperti memperlihatkan penampakan morfologi lebih kekar, daun lebih lebar, sel-sel lebih besar, lebih tahan terhadap perubahan lingkungan, dan produksinya lebih tinggi (Ernawati, 2007). Hasil penelitian Pradana dan Hartatik (2019) menunjukkan bahwa kolkisin dengan konsentrasi 100 ppm (*part per million*) pada perendaman 12 jam mampu menginduksi terbentuknya poliploid pada tanaman terong dan berpengaruh sangat nyata terhadap bobot dan diameter buah terong dengan waktu pembungaan yang lebih cepat. Perlakuan kolkisin 30 mg/L pada tanaman alocasia menghasilkan jumlah daun terbanyak, panjang akar terpanjang, jumlah tunas terbanyak, dan persentase umbi bertunas yang mencapai 100% yang berbeda dari tanaman kontrol sedangkan pada penelitian Zuyazna dkk (2021) kolkisin juga mampu menginduksi poliploid tanaman nilam dimana konsentrasi 0,3% menghasilkan daun dengan luas permukaan terbesar dan pada konsentrasi 0,2% dengan lama perendaman 6 jam menghasilkan jumlah cabang terbanyak. Penambahan jumlah kromosom dapat menyebabkan ukuran sel bertambah dan meningkatkan ukuran organ tanaman seperti akar, batang, daun, bunga serta buah (Burns, 1972) yang secara tidak langsung menyebabkan peningkatan laju fotosintesis serta dapat mengubah lebih banyak produk fotosintesis (Shupej dkk, 2019).

## **2. Pengaruh Kolkisin terhadap Stomata**

Pengaruh kolkisin terhadap stomata murbei dapat diamati melalui perubahan yang terjadi pada ukuran stomata. Konsentrasi dan lama perendaman yang sesuai akan dapat meningkatkan ukuran stomata tanaman sehingga memiliki panjang dan lebar yang lebih besar daripada tanaman diploidnya, akan tetapi jika tidak terjadi perubahan maka mengindikasikan bahwa konsentrasi dan lama perendaman yang digunakan belum sesuai (Sukanto dkk, 2010). Stomata pada umumnya memiliki korelasi positif terhadap poliploidi yang terjadi pada suatu tanaman, semakin besar ukuran stomata mengindikasikan tingkat ploidi

yang semakin tinggi (Damayanti dkk, 2015). Penambahan jumlah kromosom dapat menyebabkan ukuran sel bertambah dan dapat meningkatkan ukuran organ akar, batang, daun, bunga serta buah (Burns, 1972).

Tanaman dengan ukuran stomata yang besar akan dapat meningkatkan proses fotosintesis dan pertumbuhannya menjadi lebih optimal. Penelitian Yulianti (2014) pada tanaman jeruk Siam Simadu yang telah diberikan perlakuan kolkisin secara *in vitro* menunjukkan bahwa daun dari tunas perlakuan kolkisin 0.1% memiliki ukuran stomata yang lebih besar dan tunas yang lebih tinggi dibandingkan dengan tunas kontrol. Perlakuan kolkisin 400 ppm pada tanaman jagung pakan berpengaruh terhadap panjang dan lebar stomata yang menjadi lebih besar daripada diploidnya (Aili dkk, 2016). Penelitian lain pada induksi poliploid bibit anggrek bulan oleh Rahayu dkk (2015) juga menghasilkan ukuran stomata yang lebih besar dibandingkan tanaman diploidnya. Panjang dan lebar stomata bibit *Phalaenopsis amabilis* yang telah diberikan perlakuan kolkisin 5000 mg/L nyata lebih tinggi dibandingkan dengan tanaman kontrol. Peningkatan jumlah kromosom pada tanaman poliploid mengurangi kepadatan stomata dan meningkatkan ukuran stomata tanaman yang telah diinduksi dengan jumlah kloroplas dalam sel penjaga stomata dua kali lipat dari diploid sehingga menunjukkan bahwa tanaman poliploid memiliki kapasitas dan aktivitas fotosintesis yang lebih tinggi serta dapat mengubah lebih banyak produk fotosintesis (Shupeidkk, 2019). Jumlah dan ukuran stomata pada daun saling berhubungan. Daun dengan ukuran stomata yang kecil memiliki jumlah stomata yang lebih banyak, sedangkan daun dengan ukuran stomata yang besar memiliki jumlah stomata yang sedikit (Tambaru dkk, 2013).

## **E. Kerangka Pemikiran**

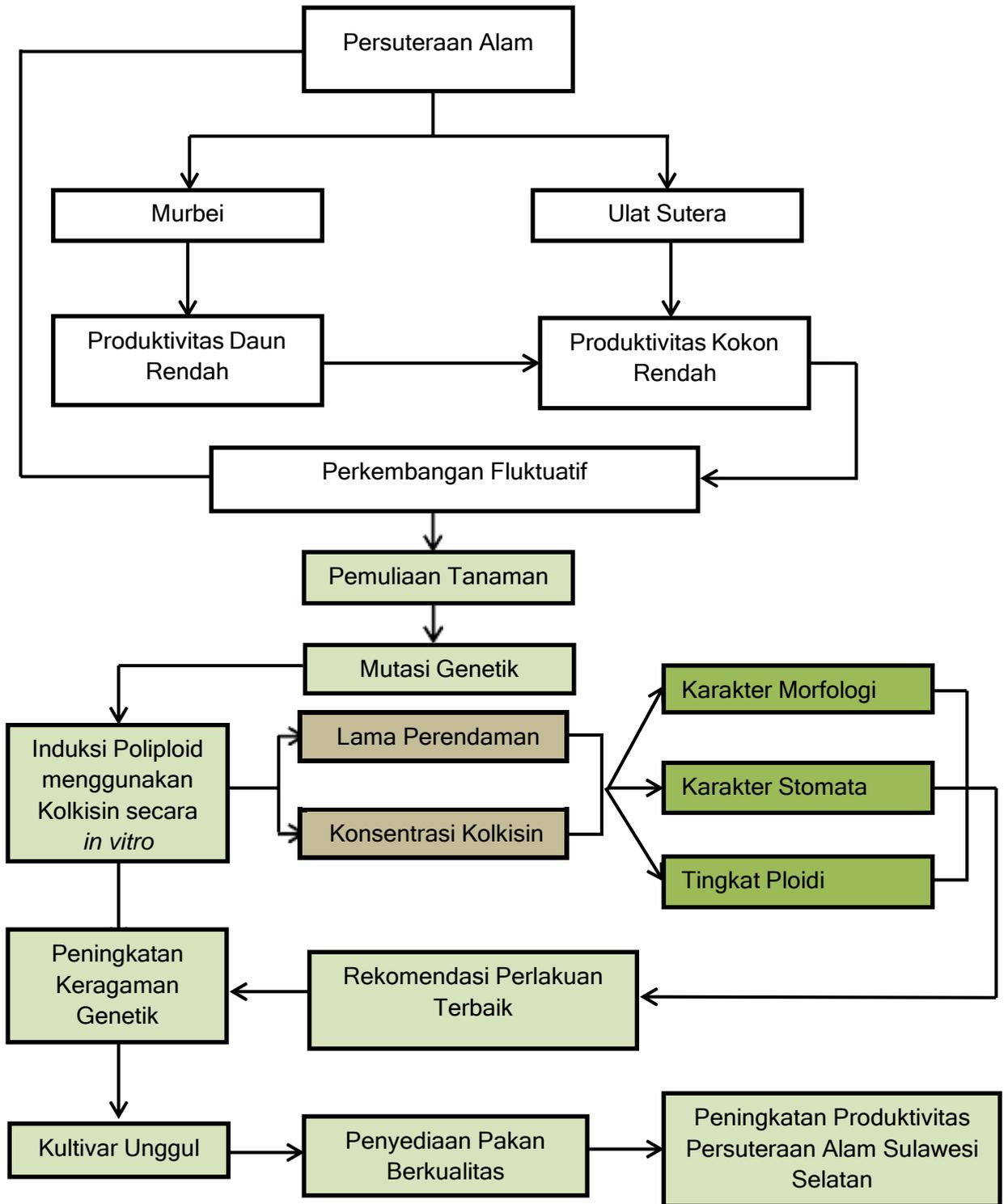
Murbei merupakan pakan utama ulat sutera yang memegang peranan penting dalam menunjang pengembangan persuteraan alam. Kualitas dan kuantitas daun murbei berpengaruh terhadap kualitas kokon

yang dihasilkan sehingga untuk mendapatkan hasil yang optimal diperlukan daun murbei yang berkualitas baik dengan produktifitas tinggi (Muin dkk, 2015). Daun murbei dengan nutrisi yang baik dapat meningkatkan daya tahan ulat terhadap serangan penyakit dan meningkatkan produksi kokon 20% lebih banyak (Kaomini, 2003). Hasil penelitian Sadapotto (2012) menunjukkan produktivitas persuteraan alam di Sulawesi Selatan yang fluktuatif dan cenderung mengalami penurunan karena pengaruh rendahnya tingkat produksi kokon sehingga produksi benang yang dihasilkan pun ikut menurun, akibatnya kebutuhan benang nasional dalam negeri masih belum dapat dipenuhi oleh produksi dalam negeri dan sisanya harus mengimpor dari China.

Jenis murbei yang umum dibudidayakan oleh petani saat ini mempunyai produksi daun yang relatif masih rendah (Santoso, 2012). Hasil penelitian Akzad (2021) mengenai keragaman genetik dan kandungan nutrisi murbei pada beberapa provenansi di Sulawesi Selatan yakni Kabupaten Wajo, Kabupaten Enrekang, dan Kabupaten Soppeng menunjukkan keragaman genetik antar individu didalam populasi yang tergolong masih rendah terutama pada provenansi soppeng. Jenis murbei yang umum dibudidayakan di Kabupaten Soppeng salah satunya adalah *M. nigra* (Isnain dan Muin, 2015) yang memiliki kandungan protein dan lemak yang tinggi yang merupakan unsur penting bagi pertumbuhan ulat sutera (Akzad, 2021). Upaya perbaikan genetik tanaman melalui kegiatan pemuliaan perlu dilakukan untuk meningkatkan keragaman genetik tanaman sehingga didapatkan sifat yang lebih baik yakni memiliki umur panen yang pendek dengan produktivitas yang tinggi. Keragaman genetik yang tinggi merupakan faktor penting mengembangkan varietas tanaman baru pada pemuliaan tanaman. Pemuliaan untuk memperbaiki genetik tanaman dapat dilakukan melalui mutasi genetik dengan menginduksi terbentuknya tanaman poliploid.

Tanaman poliploid adalah tanaman yang memiliki tiga atau lebih set kromosom dalam sel-selnya dengan ukuran/biomassa yang lebih besar, metabolisme yang lebih cepat, kandungan metabolit sekunder yang lebih

banyak, dan lebih tahan terhadap kondisi cekaman biotik atau abiotik sehingga didapatkan hasil yang lebih banyak (Yang dkk, 2011; Song dkk, 2012). Kolkisin merupakan mutagen (penyebab mutasi) kimia yang telah banyak digunakan pada pemuliaan tanaman karena dapat memberikan hasil panen yang lebih baik dengan menginduksi tanaman poliploid. Induksi poliploid menggunakan kolkisin secara *in vitro* efektif dapat meningkatkan produksi benih baik dari segi kualitas maupun kuantitasnya sehingga didapatkan varietas unggul yang steril tanpa memerlukan jumlah induk yang banyak dalam waktu relatif singkat serta memungkinkan dalam manipulasi genetik (Mulyono, 2012). Tingkat keberhasilan kolkisin dalam menginduksi poliploid dipengaruhi oleh varian konsentrasi dan lama perendaman yang digunakan (Tharawoot dkk, 2012) sehingga untuk mendapatkan konsentrasi dan lama perendaman kolkisin terbaik dilakukan dengan menganalisis karakter morfologi, stomata dan tingkat plodi tanaman hasil induksi sebagai upaya dalam mendukung program pemuliaan tanaman murbei yang unggul dan dapat meningkatkan produktivitas persuteraan alam yang ada khususnya di Sulawesi Selatan.



Gambar 2. Kerangka pikir penelitian