

**Mutasi Induksi dengan Kolkisin pada Kapulaga Jawa
(*Amomum compactum* Soland. Ex Maton) Generasi MV1**

***Induced Mutation by Colchicine in Java Cardamom
(*Amomum compactum* Soland. ex Maton) Generation MV1***

Nurul Komala¹, Syarifah Iis Aisyah¹, dan Waras Nurcholis^{2,3*}

¹Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor

²Departemen Biokimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor
(IPB University), Jl. Agatis, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680, Indonesia

³Pusat Studi Biofarmaka Tropika, Institut Pertanian Bogor (IPB University)
Jl. Taman Kencana No. 3, Kampus IPB Taman Kencana, Bogor 16128, Indonesia

Diterima 7 Maret 2022/Disetujui 13 Juli 2022

ABSTRACT

Java cardamom is an important commodity that produces secondary metabolite. Secondary metabolites of Java cardamom are utilized as an anti-inflammatory, antibacterial and anticancer. Improve secondary metabolite through colchicine-induced mutation are necessary to get polyploid. It has been reported that polyploid produces higher secondary metabolites. This research aimed to describe Java cardamom's phenotypes resulting from colchicine treatment and identify ploidy levels through flow cytometry. This research was conducted from July 2021 to January 2022 at the Leuwikopo Experimental Field, Faculty of Agriculture IPB using a randomized complete block design (RCBD) with three replications. The buds were soaked in different concentrations of colchicine (0, 0.05, 0.10, and 0.15%) with a shaker at 100 rpm for 6 hours. Plant height, number of leaves, number of tillers, leaf length and width, pseudostem diameter, number of stomata, green leaf score, and ploidy levels are observed. The result showed that 0.10% colchicine caused leaf malformation and chimera. Colchicine treatment could inhibit plant growth. Colchicine treatment produced lower plant height during 16 weeks of observation, fewer leaves at 10-18 WAP, and fewer tillers at 14-18 WAP. However, the colchicine treatment did not produce polyploids.

Keywords: flow cytometry, phenotype, ploidy levels

ABSTRAK

Kapulaga jawa merupakan komoditas penting tanaman aromatik yang menghasilkan produk metabolit sekunder. Produk metabolit sekunder kapulaga diyakini memiliki aktivitas antiinflamasi, antijamur, antibakteri dan antikanker. Usaha meningkatkan kandungan metabolit sekunder kapulaga melalui mutasi induksi dengan kolkisin perlu dilakukan untuk mendapatkan kapulaga poliploid. Tanaman poliploid dilaporkan memproduksi metabolit sekunder yang lebih tinggi. Penelitian ini bertujuan mendeskripsikan fenotipe tanaman kapulaga hasil perlakuan kolkisin dan mengidentifikasi tingkat ploidi melalui flow cytometry. Penelitian dilakukan dari bulan Juli 2021 sampai Januari 2022 di Kebun Percobaan Leuwikopo, Fakultas Pertanian, IPB menggunakan rancangan kelompok lengkap teracak (RKLT) faktor tunggal konsentrasi kolkisin dengan tiga ulangan. Tunas kapulaga direndam dalam larutan kolkisin pada konsentrasi yang berbeda (0, 0.05, 0.10, dan 0.15%) dan dishaker pada kecepatan 100 rpm selama 6 jam. Pengamatan meliputi tinggi tanaman, jumlah daun, jumlah anakan, panjang dan lebar daun, diameter batang, jumlah stomata, kehijauan daun, dan tingkat ploidi. Hasil penelitian menunjukkan kolkisin 0.1% menyebabkan malformasi daun dan kimera berupa garis memanjang pada daun. Perlakuan kolkisin dapat menghambat pertumbuhan tanaman. Kapulaga perlakuan kolkisin memiliki tinggi tanaman lebih pendek selama 16 minggu pengamatan, jumlah daun lebih sedikit saat 10-18 MST, jumlah anakan lebih sedikit saat 14-18 MST. Perlakuan kolkisin tidak menghasilkan poliploid berdasarkan identifikasi flow cytometry.

Kata kunci: fenotipe, flow cytometri, tingkat ploidi

* Penulis untuk korespondensi. e-mail: wnurcholis@apps.ipb.ac.id

PENDAHULUAN

Kapulaga merupakan salah satu komoditas ekspor Indonesia. Rata-rata nilai kontribusi kapulaga, pala dan lawang terhadap ekspor tanaman rempah adalah 22.15% (Nurhayati *et al.*, 2019). Kapulaga memiliki nilai ekonomi yang tinggi karena produk metabolit sekundernya memiliki banyak manfaat. Ekstrak kapulaga dilaporkan memiliki aktivitas antiinflamasi (Lee *et al.*, 2012), efek *antifungi* (Khusnul *et al.*, 2019), antibakteri dan antikanker (Juwitaningsih *et al.*, 2020).

Di Indonesia terdapat dua jenis kapulaga yang dibudidayakan, yaitu kapulaga jawa (*Amomum compactum* Soland. ex Maton) dan kapulaga seberang (*Elettaria cardamomum*). Kapulaga jawa adalah kapulaga asli Indonesia, merupakan komoditas substitusi kapulaga seberang. Kapulaga jawa lebih adaptif dan mudah dibudidayakan di Indonesia. Kapulaga jawa akan lebih toleran pada lingkungan kering dibandingkan kapulaga seberang (Nurzaman *et al.*, 2020), akan tetapi kandungan minyak atsiri kapulaga jawa tidak sebaik kapulaga seberang. *Dried seed* kapulaga jawa mengandung 2-4% minyak atsiri, sedangkan *dried seed* kapulaga seberang mengandung 5-8% (Wolff dan Hartutiningsih, 1999). Setyawan (2002) menyebutkan persentase minyak atsiri dalam rimpang kapulaga seberang sebanyak 2.25%, sedangkan dalam rimpang kapulaga jawa sebanyak 1.5%. Keberadaan minyak atsiri sebagai produk metabolit sekunder dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti kondisi lingkungan, genetik, dan metode ekstraksi minyak atsiri (Setyawan *et al.*, 2014).

Faktor genetik merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi keberadaan metabolit sekunder. Tanaman poliploid telah digunakan sebagai upaya dalam meningkatkan produksi metabolit sekunder (Madani *et al.*, 2021). Menurut Parida dan Misra (2015) terjadi peningkatan kandungan terpenoid, fenilpropanoid, flavonoid dan alkaloid di dalam poliploidi. Usaha mendapatkan tanaman kapulaga jawa yang poliploid perlu dilakukan untuk mendapatkan kapulaga jawa dengan kandungan metabolit yang lebih baik, salah satunya melalui pendekatan mutasi kolkisin. Menurut Dhooche *et al.* (2011), kolkisin adalah *antimitotic agen* yang paling umum digunakan. Aplikasi kolkisin yang mengacaukan aktivitas benang spindel saat pembelahan mitosis akan mengakibatkan penggandaan kromosom pada jaringan somatik. Kapulaga jawa aksesori Bogor dapat dipilih untuk usaha pemuliaan tanaman karena dinilai memiliki total flavonoid dan aktivitas antioksidan yang tinggi (Nurcholis *et al.*, 2021). Penelitian ini bertujuan mendeskripsikan fenotipe tanaman kapulaga hasil perlakuan kolkisin dan mengidentifikasi tingkat ploidi melalui *flow cytometry*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan pada bulan Juli 2021 sampai Januari 2022. Mutasi kolkisin dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan 1, Departemen Agronomi dan Hortikultura. Pengamatan morfologi dilakukan di Kebun Percobaan Leuwikopo, Departemen Agronomi dan Hortikultura,

Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor. Identifikasi *Flow cytometri* dilakukan di Laboratorium Karakterisasi Bioteknologi-BRIN, Cibinong.

Bahan dan alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah tunas kapulaga yang berasal dari petani lokal Bogor dengan ukuran 1-1.5 cm saat diberi perlakuan, kolkisin (A4082 *Cholcisin*), aquades, alat laboratorium (*shaker*, *stirrer*, pipet dan gelas ukur). Kegiatan di lahan menggunakan media tanam campuran tanah, pupuk kandang, sekam bakar perbandingan 1:1:1 (%), polibag 35 X 35, paranet 70%, alat pertanian konvensional (gembor, kored, cangkul), bakterisida berbahan aktif tembaga oksida 56% digunakan sebanyak 2 g L⁻¹, insektisida berbahan aktif *profenofos* 500 g L⁻¹ digunakan sebanyak 2 mL L⁻¹.

Induksi Mutasi Kolkisin

Tahap awal dalam pembuatan larutan kolkisin adalah dengan menyiapkan larutan stok. Stok kolkisin 1% dibuat dengan mencampurkan 1 g bubuk kolkisin ke dalam 100 mL aquades. Larutan kolkisin konsentrasi 0.05, 0.10, dan 0.15% sebanyak 300 ml berturut-turut membutuhkan 15, 30, dan 45 mL larutan stok kolkisin. Perlakuan mutasi dilakukan dengan meletakkan bahan tanam ke dalam wadah yang di dalamnya terdapat larutan mutagen. Kemudian dishaker pada kecepatan 100 rpm selama 6 jam. Setelah mutasi dilakukan, tunas dikeringanginkan.

Rancangan Percobaan dan Karakter Pengamatan

Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan kelompok lengkap teracak (RKLT). Terdapat empat taraf konsentrasi kolkisin (0.0, 0.05, 0.10, dan 0.15%) yang diulang sebanyak tiga ulangan, sehingga terdapat 12 satuan percobaan. Setiap satuan percobaan terdiri dari tujuh tunas. Karakter yang diamati adalah tinggi tanaman (cm) diukur dari permukaan tanah sampai daun yang membuka di ujung batang, jumlah daun pada batang utama, jumlah anakan, diameter batang semu (mm), panjang dan lebar daun (cm), nilai kehijauan daun (SPAD index) diamati pada daun paling hijau di rumpun tanaman dengan pengamatan *non-destructive* menggunakan SPAD (*Soil Plant Analysis Development*), jumlah stomata, dan identifikasi tingkat ploidi.

Jumlah stomata diamati melalui sel epidermis yang diambil dengan bantuan kuteks. Kuteks dioleskan pada bagian bawah daun dan dibiarkan hingga kering. Kuteks yang kering dikupas dengan selotip bening. Selotip bening yang di dalamnya terdapat epidermis daun ditempelkan pada kaca preparat. Pengamatan stomata dilakukan dengan mikroskop pada perbesaran 40X sebanyak dua ulangan dalam setiap bidang pandang. Jumlah stomata diamati pada daun ke-4 dari ujung batang dan dilakukan saat 24 MST.

Identifikasi ploidi menggunakan flositometer (BD accuri C6 Plus). Sampel yang digunakan adalah potongan daun muda kapulaga dengan ukuran 0.5 cm x 0.5 cm. Potongan daun muda ditempatkan ke dalam *petri dish*, kemudian ditetesi 250 µl *Nucleid Extraction Buffer* dan

sedikit *polyvidon* lalu dicacah dengan silet sampai halus. Cacahan daun disaring menggunakan saringan millipore 30 μm . Hasil saringan dimasukkan dalam tabung kuvet dan ditambahkan *staining solution*, *Propidium Iodide* dan 350 μl *RNase*.

Analisis Statistik

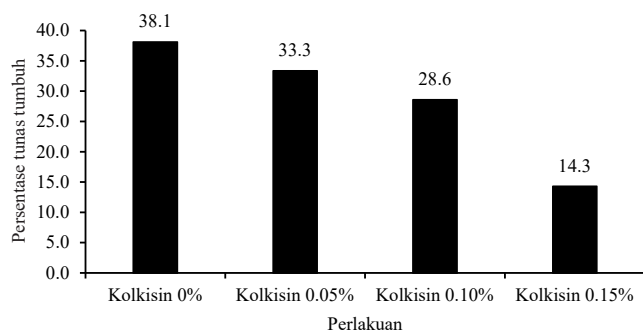
Perangkat lunak Statistical Analysis System versi 9.0 (SAS) digunakan untuk menganalisis data dengan uji F dan uji lanjut Duncan Multiple Range Test taraf 5% (DMRT). Uji lanjut dilakukan bila konsentrasi kolkisin berpengaruh nyata terhadap karakter pengamatan. Microsoft Excel digunakan untuk menghitung nilai rata-rata dan standar deviasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Grafik keberhasilan tunas menjadi tanaman berdaun terdapat pada Gambar 1. Besar nilai persentase tunas menjadi tanaman berdaun di setiap perlakuan adalah di bawah 50%. Hal ini disebabkan oleh perlakuan kolkisin dan terdapat tunas yang membusuk saat di persemaian. Persentase keberhasilan paling tinggi terdapat pada perlakuan kontrol sebesar 38.1% sedangkan persentase keberhasilan paling rendah dimiliki perlakuan kolkisin 0.15% sebesar 14.3%. Menurut Yulianti *et al.* (2015) larutan kolkisin memiliki sifat racun terhadap sel tanaman sehingga menyebabkan tingginya persentase kematian tunas pucuk jeruk siam, konsentrasi kolkisin yang semakin tinggi akan menghasilkan persentase kematian tunas pucuk jeruk siam yang tinggi pula.

Tabel 1 menampilkan sidik ragam karakter kuantitatif *Amomum compactum* pada perlakuan konsentrasi kolkisin. Taraf konsentrasi kolkisin berpengaruh nyata terhadap tinggi tanaman saat 4-16 MST, jumlah daun pada batang utama ketika 10-18 MST, dan jumlah anakan pada 14-18 MST. Nilai koefisien keragaman (KK) penelitian ini sebesar 2.35-29.29%. Pada beberapa karakter pengamatan memiliki nilai KK yang tinggi sehingga data perlu ditransformasi. Tingginya nilai KK diduga karena perlakuan mutasi menimbulkan keragaman antar individu dalam satu perlakuan.

Tabel 2 menunjukkan hasil uji lanjut karakter tinggi tanaman selama 18 MST. Kolkisin 0.15% dan 0.10%



Gambar 1. Persentase keberhasilan tunas *Amomum compactum* menjadi tanaman pada perlakuan konsentrasi kolkisin

memiliki tinggi tanaman nyata lebih pendek dari tanaman kontrol. Akan tetapi, tinggi tanaman kolkisin 0.05% tidak berbeda nyata dengan perlakuan kontrol. Perlakuan kolkisin pada penelitian ini menghambat pertumbuhan tinggi tanaman sehingga menghasilkan tanaman yang lebih pendek dibanding kontrol. Pemberian kolkisin dapat menimbulkan kerusakan fisiologi dan menghambat pembelahan sel sehingga menyebabkan lambatnya pertumbuhan dan perkembangan tanaman (Kumar *et al.*, 2019). Sebelumnya dilaporkan perlakuan kolkisin 0.01% selama 24 jam menghasilkan *Impatiens balsamina* L. paling pendek (Wiendra dan Pharmawati, 2019).

Hasil uji lanjut karakter jumlah daun yang diamati sampai 18 MST terdapat pada Tabel 3. Ketika berumur 4-8 MST, perlakuan kolkisin 0.15% memiliki jumlah daun paling sedikit dan tanaman kontrol memiliki jumlah daun paling banyak. Ketika tanaman berumur 10-16 MST, perlakuan kolkisin 0.10% dan 0.15% memiliki jumlah daun nyata lebih sedikit dibanding tanaman kontrol. Akan tetapi, jumlah daun perlakuan kolkisin 0.05% tidak berbeda nyata dengan kontrol. Kekeringan dan kematian daun tua di minggu-minggu terakhir pengamatan juga turut mempengaruhi jumlah daun yang diamati. Menurut Soetopo dan Hosnia (2018) konsentrasi kolkisin yang semakin tinggi akan memunculkan jumlah daun baru yang sedikit. Berkurangnya jumlah daun pada perlakuan kolkisin disebabkan pertumbuhan bibit yang lambat. Penelitian Manzoor *et al.* (2018) menyebutkan *Gladiolus grandiflorus* 'White Prosperity' perlakuan kolkisin juga menghasilkan daun yang lebih sedikit dibandingkan tanaman tanpa perlakuan kolkisin.

Hasil uji lanjut terhadap karakter jumlah anakan selama 18 MST terdapat pada Tabel 4. Konsentrasi kolkisin tidak berpengaruh nyata terhadap karakter jumlah anakan sebelum 14 MST, tetapi perlakuan kolkisin 0.15% memiliki jumlah anakan paling sedikit dan tanaman kontrol memiliki jumlah anakan paling banyak. Saat umur 14-18 MST, perlakuan kolkisin 0.10% dan 0.15% memiliki jumlah anakan nyata lebih sedikit dibanding kontrol, sedangkan jumlah anakan perlakuan kolkisin 0.05% tidak berbeda nyata dengan kontrol. Sedikitnya jumlah anakan disebabkan oleh terhambatnya pertumbuhan tunas baru. Menurut Parastaka dan Nihayati (2019) larutan kolkisin yang terlarut dalam jaringan tunas akan menghambat pembelahan sel untuk pertumbuhan tunas baru.

Pada Tabel 5 menunjukkan tanaman kolkisin 0.15% mempunyai jumlah stomata paling sedikit dan tanaman kontrol memiliki jumlah stomata paling banyak. Jumlah stomata yang sedikit memiliki kerapatan stomata yang lebih rendah. Sebelumnya telah dilaporkan oleh Rahayu *et al.* (2015) poliploidi *Phalaeonopsis amabilis* memiliki kerapatan stomata yang lebih rendah daripada *P. amabilis* diploid. Menurut Yulianti *et al.* (2016) tunas pucuk jeruk siam Simadu perlakuan kolkisin 0.1% memiliki kerapatan stomata rendah karena terjadi peningkatan jumlah kloroplas pada sel penjaga. Penelitian ini menggunakan nilai kehijauan dari SPAD untuk menduga kandungan klorofil tanaman. Konsentrasi kolkisin tidak berpengaruh nyata terhadap nilai

Tabel 1. Sidik ragam karakter kuantitatif *Amomum compactum* pada perlakuan konsentrasi kolkisin

Karakter pengamatan	Pr > F	KK (%)	Karakter pengamatan	Pr > F	KK (%)
Tinggi tanaman			Jumlah anakan		
4 MST	0.021*	10.61	4 MST ^{tt}	0.342tn	11.51
6 MST	0.003**	9.92	6 MST ^{tt}	0.557tn	22.87
8 MST	0.051tn	12.73	8 MST ^{tt}	0.637tn	28.84
10 MST	0.039*	11.32	10 MST	0.184tn	29.29
12 MST	0.017*	9.21	12 MST	0.179tn	23.31
14 MST	0.013*	7.34	14 MST	0.017*	11.60
16 MST	0.045*	7.49	16 MST	0.013*	10.90
18 MST	0.086tn	6.64	18 MST	0.033*	16.46
Jumlah daun			Jumlah stomata	0.298tn	9.56
4 MST	0.134tn	18.49	Panjang daun	0.589tn	7.86
6 MST	0.125tn	13.79	Lebar daun	0.543tn	7.24
8 MST	0.225tn	15.73	Nilai kehijauan daun	0.249tn	3.24
10 MST	0.046*	13.63	diameter batang	0.569tn	5.50
12 MST	0.019*	7.72			
14 MST	0.056tn	6.86			
16 MST	0.015*	5.21			
18 MST	0.013*	2.35			

Keterangan: KK = Koefisien keragaman; * = berpengaruh nyata pada taraf $\alpha = 5\%$; ** = berpengaruh nyata pada taraf $\alpha = 1\%$

Tabel 2. Rata-rata tinggi tanaman *Amomum compactum* perlakuan konsentrasi kolkisin

Umur tanaman	Perlakuan konsentrasi kolkisin			
	0%	0.05%	0.10%	0.15%
4 MST	4.57a \pm 1.01	4.25a \pm 1.30	3.40b \pm 1.68	3.27b \pm 0.75
6 MST	7.00a \pm 1.42	5.93a \pm 1.79	4.53b \pm 2.33	4.37b \pm 1.10
8 MST	9.40 \pm 1.83	8.13 \pm 2.53	6.83 \pm 2.52	6.78 \pm 1.92
10 MST	12.00a \pm 1.62	11.13ab \pm 2.79	9.17b \pm 3.18	8.77b \pm 1.97
12 MST	15.25a \pm 1.35	13.90ab \pm 2.94	11.57bc \pm 3.69	11.20c \pm 2.08
14 MST	18.78a \pm 1.98	16.53ab \pm 3.48	14.60b \pm 4.26	14.50b \pm 1.32
16 MST	21.00a \pm 2.12	19.43ab \pm 3.21	17.90b \pm 4.02	16.83b \pm 2.08
18 MST	23.93 \pm 3.07	22.33 \pm 2.82	21.37 \pm 3.85	20.17 \pm 1.89

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama pada baris yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT taraf $\alpha = 5\%$

kehijauan daun. Tanaman perlakuan kolkisin 0.10% memiliki nilai kehijauan paling tinggi dan tanaman perlakuan kolkisin 0.05% memiliki nilai kehijauan paling rendah. Perlakuan kolkisin tidak mempengaruhi ukuran daun. Namun, terdapat satu genotipe kolkisin 0.1% memiliki panjang daun (23 cm) dan lebar daun (9.2 cm) di atas rata-rata panjang dan lebar daun tanaman kontrol (Tabel 5). Perbedaan panjang dan lebar daun perlakuan kolkisin dapat dilihat pada Gambar 2. Sebelumnya dilaporkan oleh Wiendra dan Pharmawati (2019) terjadi peningkatan panjang dan lebar daun *Impatiens balsamina* karena perlakuan kolkisin.

Daun muda dari tanaman yang memiliki perbedaan fenotipe diambil untuk diidentifikasi tingkat ploidinya. Hasil *mean PI* menunjukkan tidak ditemukan poliploid pada sampel yang diamati (Tabel 6). Parameter *mean PI* adalah nilai rataan pewarna *Propidium Iodid* yang diserap oleh DNA. Menurut Manzoor *et al.* (2018) metode yang digunakan, konsentrasi kolkisin, dan lamanya perlakuan mempengaruhi keberhasilan induksi poliploid. Sebelumnya Lertsutthichawan *et al.* (2017) melaporkan terdapat perbedaan fenotipe pada mutan krisan 0.8%, akan tetapi nilai *mean PI* pada mutan krisan tersebut tidak berbeda

Tabel 3. Rata-rata jumlah daun *Amomum compactum* perlakuan konsentrasi kolkisin

Umur tanaman	Perlakuan konsentrasi kolkisin			
	0%	0.05%	0.10%	0.15%
4 MST	2.17 ±0.38	1.67 ±0.98	1.33 ±0.76	0.67 ±0.58
6 MST	3.50 ±0.54	3.00 ±1.07	2.23 ±0.69	1.67 ±0.58
8 MST	4.50 ±0.54	4.10 ±1.16	3.77 ±0.49	3.33 ±0.58
10 MST	6.50a±0.54	5.73ab ±1.13	4.93b ±0.69	4.33b ±0.58
12 MST	7.33a±0.49	6.83ab ±1.25	5.90bc ±0.69	5.67c ±0.58
14 MST	8.43 ±0.54	7.90 ±0.69	7.27 ±0.76	7.00 ±1.00
16 MST	9.10a ±0.69	9.07a ±0.82	8.00b ±1.16	7.67b ±0.58
18 MST	9.83a ±0.69	9.33b ±1.11	9.10b ±1.34	9.00b ±0.00

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama pada baris yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT taraf $\alpha = 5\%$

Tabel 4. Rata-rata jumlah anakan *Amomum compactum* perlakuan konsentrasi kolkisin

Umur tanaman	Perlakuan konsentrasi kolkisin			
	0%	0.05%	0.10%	0.15%
4 MST	0.40 ±0.79	0.00 ±0.00	0.00 ±0.00	0.33 ±0.58
6 MST	1.27 ±1.11	1.43 ±0.53	0.67 ±1.13	0.67 ±1.15
8 MST	2.00 ±0.58	1.67 ±0.49	1.00 ±1.15	1.33 ±2.31
10 MST	4.93 ±1.46	3.67 ±0.49	2.73 ±0.76	3.33 ±2.08
12 MST	6.57 ±2.51	5.10 ±1.57	4.40 ±1.70	4.33 ±2.08
14 MST	9.43a ±2.30	8.40ab ±1.38	6.73bc ±2.88	6.33c ±1.53
16 MST	11.90a ±3.02	10.73ab ±1.72	9.27bc ±2.21	7.67c ±1.53
18 MST	14.43a ±2.57	14.17a ±3.77	12.10ab ±2.85	8.33b ±1.15

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama pada baris yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT taraf $\alpha = 5\%$

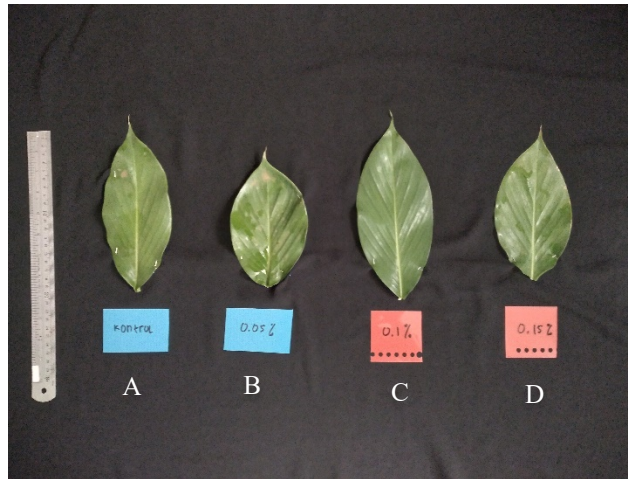
Tabel 5. Rata-rata karakter kuantitatif *Amomum compactum* perlakuan konsentrasi kolkisin

Karakter pengamatan	Perlakuan konsentrasi kolkisin			
	0%	0.05%	0.10%	0.15%
JS	68.74 ±11.77	62.36 ±5.28	61.08 ±7.61	58.67 ±2.55
PD	21.05 ±0.90	20.82 ±0.89	19.39 ±3.20	19.97 ±2.37
LD	7.77 ±0.53	7.77 ±0.47	8.33 ±0.84	8.40 ±0.95
KhD	62.27 ±2.54	60.67 ±3.34	64.42 ±3.20	63.13 ±3.13
DBS	10.05 ±0.86	10.05 ±0.79	9.93 ±0.99	9.48 ±1.03

Keterangan: JS = jumlah stomata; PD = panjang daun; LD = lebar daun; Khd = Kehijauan daun; DBS = diameter batang semu

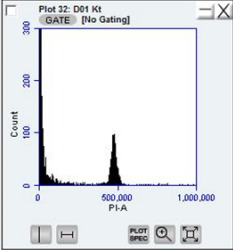
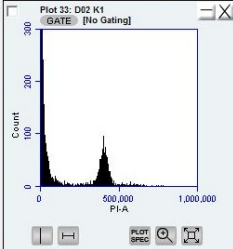
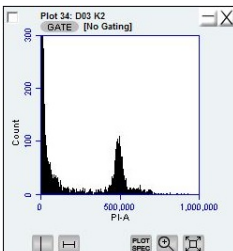
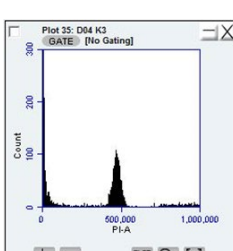
dengan kontrol. Kolkisin 0.1% memunculkan malformasi daun, daun dengan dua ujung melancip, dan kimera garis memanjang pada daun (Gambar 3). Kimera adalah keadaan dimana jaringan tanaman tersusun dari sel-sel dengan lebih dari satu genotipe (FAO, 2018). Menurut Susrama

dan Wirawan (2017), perlakuan kolkisin menyebabkan kerusakan DNA yang menghasilkan perubahan bentuk daun kacang tunggak. Namun, daun selanjutnya dapat tumbuh normal. Sistem DNA *repair* dapat memperbaiki kerusakan DNA yang disebabkan oleh kolkisin.

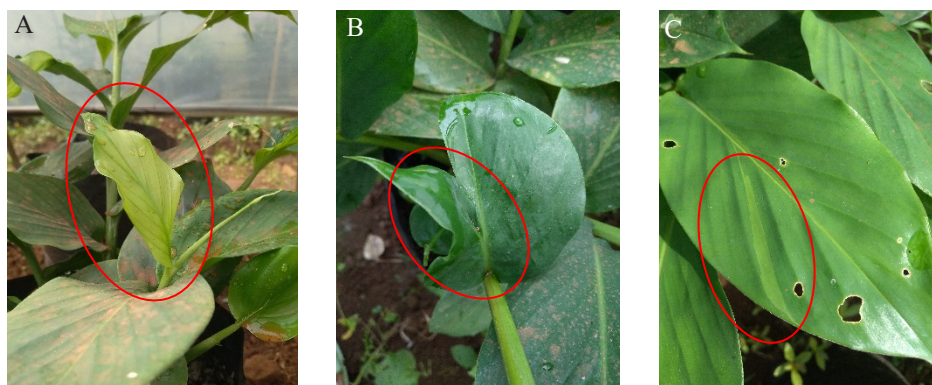


Gambar 2. Panjang dan lebar daun *Amomum compactum* perlakuan konsentrasi kolkisin A) kontrol; B) kolkisin 0.05%; C) kolkisin 0.10%; D) kolkisin 0.15% saat 26 MST

Tabel 6. Hasil identifikasi tingkat ploidi *Amomum compactum* perlakuan konsentrasi kolkisin

Perlakuan	Histogram florisitometer	Rataan PI	KK (%)	Ploidi
Kontrol		476,129	3.99	Diploid
Kolkisin 0.05%		404,327	5.89	Diploid
Kolkisin 0.10%		492,641	5.49	Diploid
Kolkisin 0.15%		470,070	5.08	Diploid

Keterangan: PI = *propidium iodide*; KK = koefisien keragaman



Gambar 3. Perubahan morfologi daun *Amomum compactum* pada perlakuan kolkisin: A-B) malformasi daun; dan C) kimera

KESIMPULAN

Perlakuan kolkisin 0.1% menyebabkan malformasi daun dan kimera berupa garis memanjang pada daun. Kapulaga perlakuan kolkisin memiliki tinggi tanaman lebih pendek selama 16 minggu pengamatan, jumlah daun lebih sedikit saat 10-18 MST, jumlah anakan lebih sedikit saat 14-18 MST. Perlakuan kolkisin tidak menghasilkan tanaman poliploid berdasarkan identifikasi melalui *flow cytometry*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada program Penelitian Dasar Unggulan Perguruan Tinggi (PDUPT) tahun anggaran 2021, IPB University (1925/IT3.L1/PN/2021) untuk dukungan finansial pada penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

[FAO] Food and Agriculture Organization . 2018. Mutagen effects in the first generation after seed treatment: biological effects of mutation treatments. In M.M. Spencer-Lopes, B.P. Forster, L. Jankuloski (Eds.). Manual on Mutation Breeding - Third edition. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, IT.

Dhooghe, E., K. Van Laere, T. Eeckhaut, L. Leus, J. Van Huylenbroeck. 2011. Mitotic chromosome doubling of plant tissues in vitro. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 104:359-373.

Juwitaningsih, T., I.S. Jahro, S.A. Sari. 2020. Evaluation of North Sumatera cardamom seed (*Amomum compactum*) extract as antibacterial and anticancer. *J. Phys. Conf. Ser.* 1485:1-6.

Khusnul, D.M. Madinatul, L.A. Rahmah. 2019. Uji daya hambat ekstrak etanol daun kapulaga (*Amomum compactum* Soland ex. Maton) terhadap pertumbuhan *Trichophyton rubrum*. *Pharmacoscrypt.* 2:31-36.

Kumar, R., K.K. Jha, S. Sengupta, S. Misra, C.S. Mahto, M.K. Chakravarty, D.P. Saha, S.C. Narayan, M. Yadav. 2019. Effect of colchicine treatment on plant growth and floral behaviour in cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.). *J. Pharmacogn. Phytochem.* 8:405-411.

Lee, J.A., M.Y. Lee, I.S. Shin, C.S. Seo, H. Ha, H.K. Shin. 2012. Anti-inflammatory effects of *Amomum compactum* on RAW 264.7 cells via induction of heme oxygenase-1. *Arch. Pharm. Res.* 35:739-746.

Lertsutthichawan, A., S. Ruamrungsri, W. Duangkongsan, K. Saetiew. 2017. Induced mutation of chrysanthemum by colchicine. *Int. J. Agric. Technol.* 13:2325-2332.

Madani, H., A. Escrich, B. Hosseini, R. Sanchez-Muñoz, A. Khojasteh, J. Palazon. 2021. Effect of polyploidy induction on natural metabolite production in medicinal plants. *Biomolecules.* 11:899.

Manzoor, A., T. Ahmad, M.A. Bashir, M.M.Q. Baig, A.A. Quresh, M.K.N. Shah, I.A. Hafiz. 2018. Induction and identification of colchicine induced polyploidy in *Gladiolus grandiflorus* 'White Prosperity'. *Folia Hort.* 30:307-319.

Nurcholis, W., D.N.S. Putri, Husnawati, S.I. Aisyah, B.P. Priosoeryanto. 2021. Total flavonoid content and antioxidant activity of ethanol and ethyl acetate extracts from accession of *Amomum compactum* fruits. *Ann. Agric. Sci.* 66:58-62.

Nurhayatia, E., S. Hartoyo, S. Mulatsih. 2019. Analisis pengembangan ekspor pala, lawang, dan kapulaga Indonesia. *J. Ekonomi Pembangunan Indonesia* 19:173-190.

Nurzaman, M., S.R.D. Pridani, T. Setiawati. 2020. Respon pertumbuhan kapulaga lokal (*Amomum compactum* Soland ex. Maton) dan kapulaga sabrang (*Elettaria cardamomum* L. Maton var. Mysore) terhadap cekaman kekeringan. *J. pro-Life.* 7:27-41.

- Parastaka, G., E. Nihayati. 2019. Respon pertumbuhan planlet tanaman temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) klon Jember dan Pasuruan terhadap berbagai konsentrasi kolkisin. *J. Pro. Tan.* 7:261-267.
- Parida, B.P., B.B. Mishra. 2015. Is a plant's ploidy status reflected in metabolome?. *J. Postdoctoral Research* 3:1-11.
- Rahayu, E.M.D., D. Sukma, M. Syukur, S.A. Aziz, Irawati. 2015. Induksi poliploidi menggunakan kolkisin secara in vivo pada bibit anggrek bulan (*Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume). *Buletin Kebun Raya* 18:41-48.
- Setyawan, A.D. 2002. Chemotaxonomic studies on the genus *Amomum* based on chemical components of volatile oils. *Hayati* 9:71-79.
- Setyawan, A.D., Wiryanto, Suranto, N. Bermawie, Sudarmono. 2014. Short communication: Comparisons of isozyme diversity in local Java cardamom (*Amomum compactum*) and true cardamom (*Elettaria cardamomum*). *Nusantara Biosci.* 6:94-101.
- Soetopo, L., D. Hosnia. 2018. In vivo polyploid-induction by colchicine on orchids *Phalaenopsis pulcherrima* (Lindl.) J. J Smith. *Biosci. Res.* 15:941-949.
- Susrama, I.G.K, I.G.P. Wirawan. 2017. Crop improvement through inducing mutagenesis in vivo using colchicine on cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walph). *International Journal of Biosciences and Biotechnology* 15: 941-949.
- Wiendra, N.M.S., M. Pharmawati. 2019. Morphological and anatomical changes by colchicine seedling of *Impatiens balsamina* L. *Adv. Trop. Biodivers. Environ. Sci.* 3:33-36.
- Wolff, X.Y., Hartutiningsih. 1999. *Amomum compactum* Soland. ex Maton. In C.C. de Guzman, J.S. Siemonsma (Eds.). *Plant Resources of South-East Asia No 13: Spices*. Prosea Foundation, Bogor, ID.
- Yulianti, F., A. Purwito, A. Husni, D. Dinarti. 2015. Induksi tetraploid tunas pucuk jeruk siam simadu (*Citrus nobilis* Lour). *J. Agron. Indonesia* 43:66-71.