

PENGARUH KOLKISIN TERHADAP UKURAN GENOM DAN KARAKTER AGRONOMI SERTA HUBUNGANNYA DENGAN PRODUKSI MUTAN PUTATIF TEBU

The Effect of Colchicine on Genome Size and Agronomical Traits and Correlation with Sugarcane Putative Mutants Production

NURYA YUNYATI^{1,2}, TRIKOESOEMANINGTYAS¹, DAN SRI SUHESTI²

¹Departemen Agronomi dan Hortikultura, Institut Pertanian Bogor

Jln. Meranti, Kampus IPB Dramaga, Bogor 16680

²Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan

Jln. Tentara Pelajar No. 1, Cimanggu, Bogor 16111

*Email: hesti.khrisnawijaya@gmail.com

Diterima: 09-07-2020 ; Direvisi: 29-04-2021 ; Disetujui: 21-05-2021

ABSTRAK

Peningkatan keragaman genetik dapat dilakukan melalui mutasi. Sejumlah mutan putatif tebu yang berasal dari varietas PS 881 telah dihasilkan melalui induksi mutasi menggunakan kolkisin. Penelitian bertujuan untuk mengetahui pengaruh kolkisin terhadap ukuran genom dan karakter agronomi, serta hubungannya dengan produksi mutan putatif tebu. Percobaan dilaksanakan di Unit Pengelola Benih Unggul Pertanian (UPBUP), Badan Litbang Pertanian, Bogor, Juli 2018-April 2019. Penelitian menggunakan rancangan *augmented* dalam rancangan acak kelompok lengkap, dengan 35 genotipe generasi awal G0 (30 mutan putatif tebu hasil perlakuan kolkisin 0,03 dan 0,05%, serta lima varietas pembanding). Karakter yang diamati adalah ukuran genom dan karakter agronomi (jumlah, panjang, diameter, dan bobot batang per meter; jumlah dan panjang ruas; brix; serta produksi). Hasil penelitian menunjukkan perlakuan kolkisin meningkatkan ukuran genom mutan putatif tebu 5,03-13,64% dibandingkan tetua PS 881 dan mengakibatkan perbedaan yang nyata pada hampir seluruh karakter agronomi. Ukuran genom berkorelasi positif sangat nyata dengan brix dan nyata dengan panjang dan diameter batang, serta produksi. Analisis lintas menunjukkan karakter bobot batang per meter dan panjang batang berpengaruh langsung pada produksi, sedangkan karakter ukuran genom, diameter batang, jumlah ruas, dan brix berpengaruh tak langsung pada produksi melalui bobot batang per meter. Seleksi tak langsung untuk mendapatkan produksi tinggi terutama melalui karakter bobot batang per meter dan panjang batang dengan mempertimbangkan karakter ukuran genom, diameter batang, jumlah ruas, dan brix. Hasil penelitian merupakan informasi awal yang memerlukan validasi hubungan pengaruh langsung dan tak langsung komponen produksi terhadap produksi di tingkat lapangan.

Kata kunci: analisis lintas, kolkisin, korelasi karakter agronomi, produksi tebu

ABSTRACT

The mutation could improve plant genetic variability. Some putative sugarcane mutants originating from the PS 881 variety have been produced through mutation induction using colchicine. The study aimed to determine the effect of colchicine induced on genome size and agronomical traits, and its correlation with sugarcane putative mutants production. The experiment was conducted at the UPBUP of IAARD, Bogor, July 2018-April 2019. The research was carried out in an augmented design in randomized complete block design, using 35 genotypes of the first generation G0 (30 putative mutants from colchicine 0.03 and 0.05%, five check varieties). The genome size,

agronomical traits, i.e. stem number, length, diameter, and weight per meter; internode number and length; brix, and production, were evaluated. This result showed that colchicine increased 5.03-13.64% genome size of putative sugarcane mutants compared to the original variety PS 881. It is significantly different for almost all of agronomical traits. The genome size was significantly correlated very positively with brix and significantly positively with stem length and diameter, and production. Path analysis showed that stem (weight per meter and length) has a direct effect on production, in contrast, genome size, stem diameter, internode number, and brix have an indirect effect through stem weight per meter to production. Indirect selection to obtain high production can be done through stem (weight per meter and length), consider for genome size, stem diameter, internode number, and brix. This is experimental preliminary information, validation on field is needed among direct and indirect of production components to production.

Keywords: agronomical traits correlation, colchicine, path analysis, sugarcane production

PENDAHULUAN

Tebu (*Saccharum officinarum* L.) merupakan tanaman poliploid yang memiliki delapan set kromosom dalam selnya dan disebut oktaploid (Comai 2005). Tebu yang dibudidayakan adalah hasil persilangan interspesifik antara *S. officinarum* dan *S. spontaneum* yang memiliki lebih dari 80 kromosom (Yu et al. 2018). Pemuliaan tebu telah banyak dilakukan baik secara konvensional maupun inkonvensional. Perakitan tebu inkonvensional dapat dilakukan melalui mutasi kimia menggunakan kolkisin yang diberikan pada tahap kultur *in vitro*. Premachandran et al. (2011) melaporkan penelitian pertama mutasi menggunakan kolkisin pada tanaman tebu telah dilakukan pada tahun 1970 dan dihasilkan peningkatan ukuran sel dan bagian tanaman tebu serta penggandaan kromosom. Dari hasil penelitian Hartati et al. (2018), induksi mutasi pada kalus tebu (varietas BL, PS 862 dan PSJT 941) menggunakan kolkisin, diperoleh persentase kalus hidup yang semakin rendah mendekati 50% (*lethal concentration-LC* 50)

yaitu pada kolkisin dengan konsentrasi 0,03 dan 0,05%. Pemuliaan mutasi tebu menggunakan kolkisin bertujuan untuk meningkatkan produksi tebu melalui peningkatan biomassa tebu pada mutan putatifnya. Batang tebu menyumbang persentase besar pada bobot biomassa tebu sebagai tempat akumulasi fotosintat (Widyasari dan Lestari 2009). Penggunaan kolkisin diharapkan menambah jumlah kromosom tebu sehingga ukuran sel bertambah. Penambahan ukuran sel menghasilkan organ yang berukuran lebih besar seperti penambahan diameter batang, hal ini terjadi pada mutasi kolkisin tanaman zaitun (Sirojuddin *et al.* 2017).

Mutan putatif yang digunakan pada penelitian ini merupakan materi genetik baru yang masih harus diuji tingkat ploidinya. Penggandaan kromosom akibat kolkisin yang terjadi pada mutan dapat dideteksi melalui analisis ploidi yaitu dengan penghitungan kandungan DNA relatif dan ukuran genom menggunakan *flow cytometry*. Ukuran genom sangat berkorelasi terhadap jumlah kromosom (Edmé *et al.* 2005). Peningkatan ukuran sel dan bagian tanaman akibat mutasi kolkisin dapat pula diamati pada karakter agronomi tanaman seperti tinggi tanaman pada kedelai (Nofitahesti dan Daryono 2016), jumlah ruas pada lada (Kristina dan Syahid 2015), jumlah anakan, dan ukuran daun pada stroberi (Susianti *et al.* 2015).

Seleksi dapat dilakukan melalui karakter primer dan sekunder. Seleksi menggunakan karakter primer dapat dilakukan secara langsung dengan mengamati produktivitas tanaman pada lingkungan optimal, tetapi hal ini kurang efektif karena seleksi baru dapat dilakukan setelah tanaman berproduksi (Weber *et al.* 2012). Hal yang sama dikemukakan oleh Gravois *et al.* (1991) dan Jackson (2001) yang menyebutkan ketika seleksi secara langsung untuk hasil tebu di tahap uji pendahuluan tidak dapat dilakukan, maka seleksi melalui karakter sekunder dapat dipilih. Seleksi secara tidak langsung dapat dilakukan melalui karakter sekunder seperti karakter agronomi, morfologi, dan fisiologi tanaman (Ziyomo dan Bernardo 2013). Seleksi pada tebu melalui karakter panjang batang, diameter batang, dan bobot batang oleh Gravois *et al.* (1991), serta seleksi pada tanaman jagung melalui rendemen biji, klorofil daun, dan jumlah malai (Badaruddin *et al.* 2017) dapat digunakan sebagai karakter sekunder untuk seleksi secara tidak langsung. Alam (2016) menjelaskan bahwa

hubungan antar karakter dengan hasil sangat diperlukan dalam proses seleksi untuk mendapatkan varietas baru dengan produktivitas tinggi.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh kolkisin terhadap ukuran genom dan karakter agronomi, serta hubungannya dengan produksi pada mutan putatif tebu.

BAHAN DAN METODE

Analisis Ukuran Genom

Analisis ukuran genom terhadap 30 mutan putatif tebu yang berasal dari varietas PS 881 dilaksanakan pada bulan September 2018 di laboratorium Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian (BB-Biogen), Bogor. Alat yang digunakan adalah *flow cytometry* merek *Guava* model *easyCyte*TM. Alat ini mengukur intensitas fluoresensi (pemendaran) dari kandungan DNA relatif dari setiap sel tanaman yang diproses data analisisnya pada komputer (Darzynkiewicz *et al.* 2017). Analisis ukuran genom menggunakan *flow cytometry* menentukan kandungan DNA relatif dan ukuran genomnya (Edmé *et al.* 2005).

Flow cytometry mengukur jumlah kandungan DNA relatif pada 30 mutan putatif tebu hasil mutasi menggunakan kolkisin, dan varietas PS 881 sebagai pembanding, serta jagung (sebagai standar referensi eksternal) yang digunakan dalam penelitian ini (Lysak 2015). Sampel diteliti menggunakan rancangan acak lengkap dengan 3 ulangan. Sampel menggunakan daun muda segar berukuran 0,5 x 0,5 cm² yang ditempatkan dalam cawan petri berisi larutan *buffer* pelisis LB01 sebanyak 1 mL, yang dicacah menggunakan silet. Setelah proses ekstraksi, suspensi sampel diambil dengan pipet dan disaring dengan filter nilon 50 µm untuk dimasukkan ke dalam tabung *ependorf* ukuran 1,5 mL. Pewarna *Guava Cell Cycle* ditambahkan dengan perbandingan 3:1 dari *buffer* pelisis, inkubasi 90 detik, dicampur sampai homogen lalu dicek dengan *flow cytometry*.

Data yang diperoleh diolah menggunakan program *Guava Soft 3.1.1*. Kandungan DNA relatif (pg) dan ukuran genom dihitung berdasarkan standar referensi eksternal (Oliveira *et al.* 2015):

$$2C \text{ Kandungan DNA relatif sampel (pg)} = \text{Kandungan DNA standar} \times \frac{G1 \text{ sampel}}{G1 \text{ standar}}$$

$$1C \text{ Ukuran genom (Mbp)} = \frac{2C \text{ Kandungan DNA relatif sampel (pg)} \times 980 \text{ Mbp}}{2}$$

G1 merupakan rata-rata dari puncak fase pertumbuhan dengan 2C kandungan DNA relatif. Standar referensi eksternalnya adalah jagung dengan kandungan DNA relatif 5,43 pg (Lysak 2015). Huruf C pada kandungan DNA relatif menyatakan ukuran genom inti sel haploid dalam *megabase pairs* (Mbp). Selanjutnya dilakukan konversi nilai 1 pg yang setara dengan 980 Mbp (Doležel dan Bartoš 2005). Data yang diperoleh dianalisis ragam menggunakan program SAS 9.1.

Analisis Karakter Agronomi

Penelitian dilaksanakan bulan Juli 2018 sampai dengan April 2019 di Unit Pengelola Benih Unggul Pertanian (UPBUP), Badan Litbang Pertanian, Cimanggu, Bogor. Penanaman mutan putatif di luar rumah kaca menggunakan polybag berukuran 50 x 50 cm. Pemeliharaan tanaman dilakukan menyesuaikan dengan kebutuhan tanaman tebu di lapangan (Indrawanto et al. 2012). Penelitian menggunakan rancangan *augmented* dalam rancangan acak kelompok lengkap dengan faktor tunggal yaitu genotipe. Genotipe yang diuji yaitu 30 mutan putatif tebu yang berasal dari varietas PS 881 dari penelitian Fauzi (2018) yang merupakan generasi awal G0 hasil perendaman mutagen kolkisin 0,03 dan 0,05% selama 2 jam (setiap mutan tanpa ulangan) dan lima varietas pembanding yaitu PS 881, PS 862, PSJT 941, KK, serta BL (setiap pembanding lima ulangan). Penggunaan genotipe (mutan putatif dan varietas pembanding) yang digunakan harus memenuhi syarat minimal rancangan *augmented* dalam blok (Petersen 1994), yaitu:

- 30 mutan putatif/kandidat mutan, $v = 30$
- 5 pembanding (PS 881, PS 862, PSJT 941, BL, KK), $c = 5$

- $r \geq (10/(c - 1)) + 1$ sehingga $r \geq 3,5$ penelitian ini menggunakan minimal 4 ulangan
- ditetapkan $c = 5$; $v = 30$; ditetapkan $r = 5$
- $n = v/r = 6 =$ jumlah kandidat/blok
- $p = c+n = 11$ jumlah plot/blok
- $N = rc+v = r(c+n) = 55$ jumlah total plot (unit percobaan)

Selanjutnya pengamatan karakter agronomi pada mutan putatif tebu juga dilakukan dengan mengukur:

- (1) bobot batang per meter (kg), diukur dengan cara memotong batang sepanjang 1 meter pada saat panen lalu ditimbang,
- (2) panjang batang (cm), diukur dari permukaan tanah hingga ke titik tumbuh,
- (3) diameter batang (mm), rerata diameter batang bawah, tengah dan atas sebelum panen,
- (4) jumlah batang per pot
- (5) panjang ruas (cm), rerata diukur pada tiga ruas terpanjang dari permukaan tanah,
- (6) jumlah ruas, dihitung banyaknya ruas sepanjang batang pengamatan,
- (7) brix (%), yang menyatakan jumlah gram dari gula tebu yang terdapat dalam larutan 100 gram nira tebu, diukur menggunakan refraktometer,
- (8) produksi (kg), dihitung dari bobot batang per pot pada setiap mutan.

Analisis ragam rancangan *augmented* dalam RAKL menurut Syukur et al. (2010) terdapat pada Tabel 1. Data yang diperoleh menggunakan analisis ragam uji F. Jika uji F berpengaruh nyata maka dilakukan analisis lanjut uji Dunnett menggunakan program SAS 9.1.

Tabel 1. Analisis ragam untuk rancangan *augmented* dalam rancangan acak kelompok lengkap
 Table 1. Analysis of variance for *augmented* in randomized complete block design

Sumber Keragaman	Derajat Bebas (db)	Jumlah Kuadrat (JK)	Kuadrat Tengah (KT)	Nilai Harapan Kuadrat Tengah E(KT)
Blok	r-1	JKb	KTb	
Genotipe	(g+c)-1	JKp	KTp	
check (c)	c-1	JKc	KTc	$\sigma^2e + r\sigma^2c$
geno (g)	g-1	JKg	KTg	$\sigma^2e + \sigma^2g$
check vs geno	1	JKcvg	KTcvg	
Galat	((g+rc)-((g+c)-1)-(r-1))	Jke	KTe	σ^2e
Total	(g+rc)-1	JKt		

Keterangan: Db = derajat bebas, JK = jumlah kuadrat, KT = kuadrat tengah, r = ulangan, p = perlakuan, e = galat, σ^2e = ragam galat, σ^2c = ragam pembanding, σ^2g = ragam genetik

Heritabilitas

Data yang dihasilkan dilanjutkan dengan analisis heritabilitas yang diturunkan dari analisis ragam rancangan percobaan (Syukur et al. 2010). Komponen ragam dan heritabilitas arti luas dapat dianalisis sebagai berikut:

Ragam genetik, $\sigma^2_g = (KT_g - KT_e)/r$
 $\sigma^2_e = KT_e/r$
 $\sigma^2_p = \sigma^2_g + \sigma^2_e$
 Heritabilitas arti luas, $h^2_{bs} = (\sigma^2_g / \sigma^2_p) \times 100\%$

Suatu karakter akan diklasifikasikan memiliki heritabilitas arti luas tinggi bila $h^2_{bs} \geq 50\%$, heritabilitas arti luas sedang $20\% < h^2_{bs} < 50\%$, dan rendah $h^2_{bs} \leq 20\%$ (Syukur et al. 2010). Nilai heritabilitas arti luas yang tinggi mengindikasikan karakter tersebut lebih dipengaruhi oleh faktor genetik daripada lingkungan.

Analisis korelasi ukuran genom dan karakter agronomi

Peubah yang berbeda nyata pada analisis ragam selanjutnya digunakan pada analisis korelasi Pearson untuk menentukan keeratan hubungan antara karakter. Analisis korelasi antar peubah pengamatan dilakukan sesuai (Singh dan Chaudhary 1979):

$$r_{xy} = \frac{Cov_{xy}}{\sqrt{\sigma^2_x + \sigma^2_y}}$$

Keterangan:

- r_{xy} = korelasi antara sifat x dan y
- Cov_{xy} = kovarian sifat x dan y
- σ^2_x, σ^2_y = varian sifat x dan y

Analisis lintas karakter agronomi terhadap produksi

Karakter yang berkorelasi nyata terhadap hasil (produksi) kemudian dianalisis lintas (Baraiya et al. 2018) menggunakan program R studio versi 1.2.1335

paket *agricolae* versi 1.1-3. Untuk mengetahui pengaruh langsung dan tak langsung karakter yang diamati terhadap produksi digunakan analisis lintas (*path analysis*) menurut (Singh dan Chaudhary 1979) sebagai berikut:

$$\begin{matrix} r_{16} \\ r_{26} \\ r_{36} \\ r_{46} \\ r_{56} \end{matrix} = \begin{matrix} 1 & r_{12} & r_{13} & r_{14} & r_{15} \\ & 1 & r_{23} & r_{24} & r_{25} \\ & & 1 & r_{34} & r_{35} \\ & & & 1 & r_{45} \\ & & & & 1 \end{matrix} \begin{matrix} P_{16} \\ P_{26} \\ P_{36} \\ P_{46} \\ P_{56} \end{matrix}$$

Nilai residu dari analisis lintas adalah sebagai berikut:

$$R = 1 - \sqrt{\sum P_i \cdot r_{ij}}$$

Keterangan:

- r = koefisien korelasi fenotip
- P = koefisien lintas (pengaruh langsung)
- R = nilai residu
- P_i = koefisien lintas sifat (i)
- r_{ij} = koefisien korelasi fenotip sifat (i) terhadap hasil (j)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ukuran genom mutan putatif tebu hasil analisis *flow cytometry*

Hasil analisis deskriptif ploidi yang diamati melalui kandungan DNA relatif dan ukuran genom pada mutan putatif tebu dan varietas asalnya yaitu PS 881 ditunjukkan pada Tabel 2. Analisis ragam dari peubah kandungan DNA relatif dan ukuran genom menunjukkan pengaruh yang nyata ($p \leq 0,05$). Ini berarti bahwa terdapat beda nyata pada peubah kandungan DNA relatif dan ukuran genom antar mutan putatif dengan varietas PS 881.

Tabel 2. Statistik deskriptif pada kandungan DNA relatif dan ukuran genom mutan putatif tebu
 Table 2. Descriptive statistic in relative DNA content and genome size of sugarcane putative mutant

Komponen Deskripsi <i>Descriptive Component</i>	Kandungan DNA Relatif (pg) <i>Relative DNA Content (pg)</i>	Ukuran Genom (Mbp) <i>Genome Size (Mbp)</i>
Rata-rata	8,48	4156,85
Simpangan baku	0,50	245,99
Minimum	6,98	3422,06
Maksimum	9,12	4469,11
Koefisien keragaman (%)	2,67	2,67

Kandungan DNA relatif mutan putatif tebu hasil perlakuan kolkisin berkisar antara 8,15-8,81 pg, ini lebih besar dari varietas PS 881 dengan nilai 7,76 pg (Tabel 3). Mutan putatif tebu dengan kandungan DNA relatif yang termasuk empat besar berturut-turut adalah 9A, 17A, 6A, dan 36B. Kandungan DNA relatif tebu pada penelitian Edmé et al. (Edmé et al. 2005) berkisar 3,05-8,91 pg untuk varietas tebu komersial, bahkan mencapai 7,70-12,12 pg (Oliveira et al. 2015). Hampir semua mutan putatif tebu kecuali mutan dengan kode 27A mengalami kenaikan ukuran genom sebesar 5,03-13,64% bila dibandingkan dengan varietas PS 881.

Uji lanjut dengan metode Dunnett dilakukan untuk mengetahui mutan putatif yang memiliki perbedaan ukuran genom dengan varietas PS 881. Hasil analisis menunjukkan terdapat 20 mutan putatif yang secara nyata mengalami kenaikan ukuran genom dibandingkan dengan varietas PS 881, yaitu: 9A, 17A, 6A, 36B, 30A, 38A, 18A, 52A, 31A, 33A, 22B, 54A, 14A, 38B, 49A, 3A, 4B, 37A, 4A, dan 60A (Tabel 3). Kenaikan ukuran genom yang berkorelasi dengan jumlah kromosom tersebut bukan merupakan kelipatan atau penggandaan seperti yang umumnya terjadi pada aplikasi kolkisin terhadap tanaman diploid. Hal ini diduga disebabkan adanya degradasi genom pada mutan putatif tersebut pada saat terjadi gangguan pembelahan akibat mutagen kolkisin (Suminah et al. 2002). Mutasi

kimia dapat mengakibatkan perubahan karakter yang bermanfaat walaupun pada dasarnya mutasi bersifat acak dan merusak (Hartati et al. 2018).

Mutan putatif kode 27A memiliki rata-rata kandungan DNA relatif dan ukuran genom paling rendah. Suminah et al. (2002) pada penelitian induksi kolkisin pada bawang, juga menghasilkan individu dengan perubahan jumlah kromosom yang lebih sedikit atau berkurang. Diduga telah terjadi kehilangan segmen kromosom atau delesi pada mutan putatif tebu sebagai akibat induksi mutasi kimia yang bersifat acak pada varietas asal PS 881. Menurut Touchell et al. (2020) perbedaan genom antar tanaman, baik bertambah maupun berkurang, dapat disebabkan oleh fenomena yang bersifat acak ini.

Penampilan karakter agronomi mutan putatif tebu

Hasil analisis statistik menunjukkan terdapat beda nyata ($p < 0,05$) beberapa mutan putatif tebu dengan varietas asalnya PS 881 pada karakter bobot batang per meter, diameter batang, jumlah batang, dan brix. Perbedaan sangat nyata ($p < 0,01$) juga terjadi pada karakter panjang batang, panjang ruas, jumlah ruas, dan produksi antara mutan putatif tebu dengan PS 881 (Tabel 4).

Tabel 3. Rerata kandungan DNA relatif, ukuran genom, dan kenaikan genom 30 mutan putatif tebu terhadap varietas asal PS 881
 Table 3. Average of relative DNA content, genome size and genome size increasing between 30 mutant and origin variety PS 881

Kode mutan <i>Mutant code</i>	Asal perlakuan kolkisin <i>Colchicine treatment (%)</i>	Kandungan DNA relatif <i>Relative DNA content (pg)</i>	Ukuran genom <i>Genome size (Mbp)</i>	Kenaikan genom <i>Genome increasing (%)</i>	Kode mutan <i>Mutant code</i>	Asal perlakuan kolkisin <i>Colchicine treatment (%)</i>	Kandungan DNA relatif <i>Relative DNA Content (pg)</i>	Ukuran genom <i>Genome size (Mbp)</i>	Kenaikan genom <i>Genome increasing (%)</i>
9A	0,05	8,81±0,29*	4319,05*	13,64	4B	0,05	8,54±0,17*	4183,04*	10,06
17A	0,03	8,81±0,00*	4315,35*	13,54	37A	0,05	8,54±0,25*	4182,87*	10,06
6A	0,05	8,80±0,45*	4311,91*	13,45	4A	0,05	8,53±0,07*	4179,83*	9,98
36B	0,05	8,79±0,23*	4308,37*	13,36	60A	0,03	8,53±0,09*	4178,96*	9,96
30A	0,03	8,74±0,13*	4283,85*	12,71	55A	0,03	8,43±0,06	4131,83	8,72
38A	0,05	8,73±0,25*	4279,87*	12,61	7B	0,05	8,41±0,08	4118,79	8,37
18A	0,03	8,72±0,05*	4274,61*	12,47	28A	0,03	8,40±0,09	4115,93	8,30
52A	0,03	8,72±0,03*	4274,26*	12,46	24A	0,03	8,39±0,19	4110,10	8,14
31A	0,05	8,68±0,13*	4252,50*	11,89	21A	0,03	8,36±0,31	4094,42	7,73
33A	0,05	8,64±0,04*	4235,14*	11,43	8A	0,05	8,34±0,26	4086,77	7,53
22B	0,03	8,64±0,29*	4232,47*	11,36	5A	0,05	8,27±0,43	4052,88	6,64
54A	0,03	8,63±0,32*	4226,34*	11,20	24B	0,03	8,22±0,09	4027,97	5,98
14A	0,05	8,61±0,15*	4220,52*	11,05	12A	0,05	8,15±0,09	3991,56	5,03
38B	0,05	8,61±0,06*	4220,11*	11,04	27A	0,03	7,02±0,05*	3440,80*	-9,46
49A	0,03	8,58±0,58*	4206,40*	10,68					
3A	0,05	8,58±0,17*	4205,42*	10,6s5	PS 881	0	7,76±0,18	3800,41	

Keterangan: * berbeda nyata dengan PS 881 berdasarkan uji Dunnett taraf 5%
 Note: * significantly different from PS 881 based on Dunnett's test at 5% level.

Tabel 4. Nilai rerata penampilan karakter agronomis pada 30 mutan putatif tebu dan varietas PS 881

Table 4. The average value of agronomical characters performance of 30 sugarcane putative mutant and origin variety of PS 881

Kode Code	Bobot batang per meter <i>Stem weight per meter (kg)</i>	Panjang batang <i>Stem length (cm)</i>	Diameter batang <i>Stem diameter (mm)</i>	Jumlah batang <i>Stem number</i>	Panjang ruas <i>Internode length (cm)</i>	Jumlah ruas <i>Internode number</i>	Brix <i>Brix (%)</i>	Produksi <i>Production (kg)</i>
9A	0,54*	170,99	23,35*	5,75	11,69	18,92	16,38*	5,45**
17A	0,50*	159,10	21,98	5,75	11,79	18,92	14,85	4,75**
6A	0,35	175,36	19,72	7,35*	12,89	21,62	16,48*	4,51*
36B	0,43	215,96**	22,12	6,35	14,19**	23,92**	15,81*	5,84**
30A	0,46*	158,19	20,57	5,75	11,33	18,62	15,25	4,25
38A	0,45*	186,36	19,92	5,35	13,49*	20,32	14,94	4,34
18A	0,50*	172,66	20,51	3,55	11,41	19,58	15,81*	3,45
52A	0,41	171,80	21,17	5,75	11,93	18,92	12,98	4,07
31A	0,38	191,16	20,78	5,55	12,51	20,58	14,23	4,29
33A	0,25	182,96	17,76	5,55	9,89	22,32*	15,68	3,42
22B	0,43	188,76	21,94	5,35	10,99	19,92	16,68*	4,24
54A	0,31	163,36	19,77	6,35	11,59	20,32	16,48*	3,20
14A	0,24	186,96	20,34	6,35	13,39*	20,32	14,74	2,90
38B	0,28	162,49	18,32	7,35**	15,67**	19,18	13,98	3,18
49A	0,38	190,96	21,93	6,35	12,29	20,92	15,61	4,56*
3A	0,36	181,29	20,88	6,35	12,53	17,88	16,44	3,94
4B	0,31	197,89*	18,84	6,35	12,37	19,58	14,78	3,69
37A	0,52*	181,60	22,77*	4,75	13,69**	20,62	15,65	4,59*
4A	0,42	189,91	19,65	3,55	11,71	19,18	13,64	3,17
60A	0,28	117,16	18,18	6,55	11,61	13,58	11,03	2,31
55A	0,26	182,69	17,20	5,35	11,77	19,18	13,64	2,32
7B	0,31	171,29	16,23	7,35**	11,57	19,88	14,88	3,72
28A	0,34	136,99	19,57	6,75	11,03	18,92	13,72	3,07
24A	0,40	190,09	20,44	7,35**	15,23**	18,58	15,04	5,41**
21A	0,45*	150,69	20,37	5,75	11,89	17,62	15,38	4,00
8A	0,37	184,40	19,57	6,75*	13,23*	21,32	14,25	4,49*
5A	0,37	183,29	22,27*	6,35	11,97	20,88	16,24*	4,04
24B	0,34	158,76	20,11	4,55	13,01*	18,18	12,96	2,73
12A	0,29	162,36	17,96	5,55	11,31	18,88	13,83	2,79
27A	0,33	129,08	16,23	5,35	10,67	16,58	12,50	2,10
PS 881	0,36	169,30	20,34	5,25	11,20	20,10	14,37	3,75

Keterangan/Note:

* dan/and** = berbeda nyata masing-masing pada taraf α 0,05 dan 0,01 berdasarkan uji Dunnett/ *significant different at α 0.05 and 0.01 respectively based on Dunnett's test.*

Tidak semua karakter agronomi mengalami perubahan untuk setiap mutan putatif tebu hasil induksi mutasi menggunakan kolkisin. Mutan putatif dengan kode 36B paling banyak mengalami perubahan penampilan pada karakter agronomi dan berbeda nyata bila dibandingkan dengan varietas asalnya PS 881, yaitu pada karakter panjang batang, jumlah dan panjang ruas, brix, serta produksi. Selanjutnya diikuti oleh kode 9A yang mengalami perubahan penampilan pada karakter bobot batang per meter, diameter batang, brix, dan produksi yang berbeda nyata dengan PS 881. Terdapat sepuluh mutan putatif (52A, 31A, 49A, 3A, 4A, 60A, 55A, 28A, 12A, dan 27A) yang tidak mengalami

perubahan penampilan yang berbeda nyata dengan varietas PS 881 pada semua karakter agronomi.

Mutan nomor 9A dan 36B termasuk mutan putatif yang memiliki peningkatan ukuran genom tertinggi dibandingkan dengan varietas PS 881. Meningkatnya ukuran genom tebu diduga menyebabkan peningkatan penampilan karakter agronomi sehingga meningkatkan produksi. Hal ini sesuai dengan penelitian Ermayanti *et al.* (2018) pada tanaman talas yang menyatakan bahwa peningkatan ploidi menyebabkan peningkatan hasil pada tanaman akibat dari ukuran sel dan penampilan batang yang lebih besar. Menurut Rahmi *et al.* (2019) peningkatan ploidi menyebabkan peningkatan sifat agronomi yang bernilai ekonomis dan

meningkatkan produktivitas. Hasil penelitian menunjukkan bahwa mutan putatif nomor 9A, 17A, 6A, 36B (yang mempunyai ukuran genom tinggi) juga 49A, 37A, 24A, dan 8A memiliki karakter produksi yang berbeda nyata dan lebih tinggi dibandingkan dengan varietas PS 881. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa perlakuan kolkisin mampu meningkatkan ukuran genom mutan putatif tebu dan menimbulkan variasi penampilan pada beberapa karakter agronominya.

Heritabilitas

Berdasarkan nilai duga ragam genotipe, ragam lingkungan, dan ragam fenotipe, maka dapat diketahui nilai heritabilitas dalam arti luas yang dapat memberikan informasi seberapa besar karakter tersebut dipengaruhi oleh faktor genetik dan/atau lingkungan. Hasil analisis pada Tabel 5 menunjukkan bahwa nilai heritabilitas arti luas pada seluruh karakter termasuk dalam kategori tinggi ($h^2_{bs} \geq 50\%$). Hal ini berarti bahwa keragaman karakter-karakter tersebut lebih besar dipengaruhi oleh faktor genetik dibandingkan dengan faktor lingkungan sehingga sangat baik digunakan sebagai kriteria seleksi. Hal ini didukung oleh Syukur et al. (2010) yang menyatakan bahwa nilai duga heritabilitas yang tinggi

merupakan salah satu syarat suatu karakter dapat dijadikan sebagai kriteria seleksi.

Karakter brix menunjukkan nilai heritabilitas arti luas yang paling tinggi (83,92%), selanjutnya diikuti secara berurutan oleh karakter jumlah ruas, panjang ruas, produksi, panjang batang, diameter batang, bobot batang per meter, dan jumlah batang. Hal ini menunjukkan bahwa variasi fenotipe yang ditunjukkan oleh karakter tersebut lebih banyak dipengaruhi oleh ragam genetiknya daripada ragam lingkungan (Jamoza et al. 2014). Nilai heritabilitas yang tinggi penting bagi pemulia untuk meningkatkan efektifitas seleksi, sehingga karakter akan stabil apabila diturunkan ke generasi selanjutnya (Lasmono et al. 2018).

Analisis korelasi dan analisis lintas mutan putatif tebu

Ukuran genom pada mutan putatif tebu mempunyai nilai korelasi positif sangat nyata pada brix serta mempunyai korelasi positif nyata pada karakter panjang batang, diameter batang, dan produksi (Tabel 6). Ini berarti bahwa semakin tinggi ukuran genom maka akan semakin tinggi pula karakter brix, panjang batang, diameter batang, dan produksi, begitu pula sebaliknya.

Tabel 5. Nilai variasi genotipe, lingkungan, fenotipe serta nilai heritabilitas karakter agronomi dari 30 mutan putatif tebu

Table 5. *Genotype, environmental, phenotype variance and broadsense heritability of 30 sugarcane putative mutants for agronomical traits*

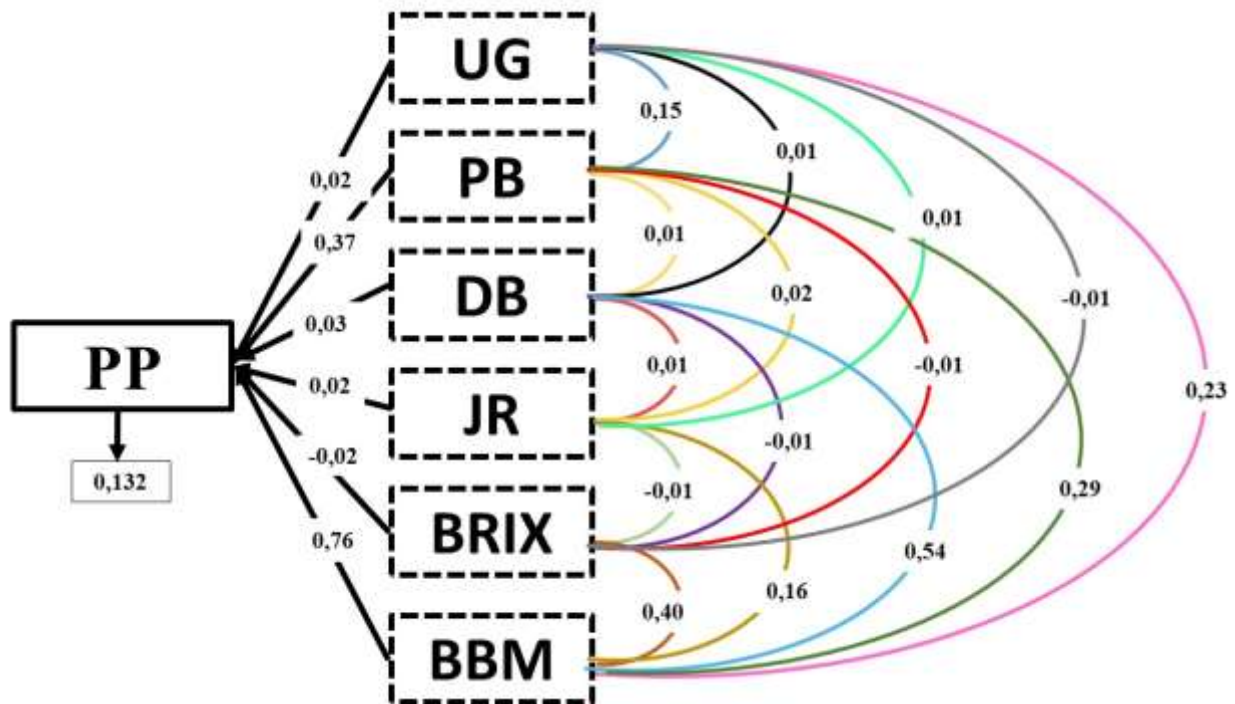
Karakter <i>Characters</i>	Rerata <i>Mean</i>	Variasi genotipe <i>Genotype variance</i> (σ^2_g)	Variasi lingkungan <i>Environmental variance</i> (σ^2_e)	Variasi fenotipe <i>Phenotype variance</i> (σ^2_p)	Heritabilitas arti luas <i>Broadsense heritability</i> h^2_{bs} (%)
Bobot batang per meter/ <i>Stem weight per meter (kg)</i>	0,36	0,0008	0,0005	0,001	60,91
Panjang batang/ <i>Stem length (cm)</i>	179,25	67,96	29,70	97,66	69,59
Diameter batang/ <i>Stem diameter (mm)</i>	19,89	0,355	0,209	0,564	62,89
Jumlah batang/ <i>Stem number</i>	5,78	0,152	0,062	0,091	59,56
Panjang ruas/ <i>Internode length (cm)</i>	12,43	0,291	0,105	0,396	73,50
Jumlah ruas/ <i>Internode number</i>	19,73	0,426	0,144	0,570	74,78
Brix/ <i>Brix (%)</i>	15,84	0,738	0,141	0,879	83,92
Produksi/ <i>Production (kg)</i>	3,78	0,134	0,038	0,096	71,70

Tabel 6. Korelasi antar karakter pada 30 mutan putatif tebu
 Table 6. Correlation among characters of 30 sugarcane putative mutants

	Ukuran genom <i>Genome size</i>	Panjang batang <i>Stem length</i>	Diameter batang <i>Stem diameter</i>	Jumlah batang <i>Stem number</i>	Panjang ruas <i>Internode length</i>	Jumlah ruas <i>Internode number</i>	Brix <i>Brix</i>	Bobot batang per meter <i>Stem weight per meter</i>
Panjang batang/ <i>Stem length</i>	0,41*							
Diameter batang/ <i>Stem diameter</i>	0,41*	0,51**						
Jumlah batang/ <i>Stem number</i>	0,11	-0,08	-0,22					
Panjang ruas/ <i>Internode length</i>	0,14	0,30	0,23	0,11				
Jumlah ruas/ <i>Internode number</i>	0,27	0,77**	0,28	0,05	0,08			
Brix/ <i>Brix</i>	0,53**	0,51**	0,53**	-0,09	-0,08	0,53**		
Bobot batang per meter/ <i>Stem weight per meter</i>	0,30	0,38*	0,71**	0,47**	0,09	0,21	0,53**	
Produksi/ <i>Production</i>	0,42*	0,71**	0,67**	0,20	0,28	0,54**	0,56**	0,67**

Keterangan/Note:

* dan/and** = masing-masing nyata pada taraf 5% dan 1%/significant at 5% and 1% level respectively



Gambar 1. Diagram lintas 6 karakter agronomi pada ukuran genom (UG), panjang batang (PB), diameter batang (DB), jumlah ruas (JR), brix, dan bobot batang per meter (BBM) terhadap produksi (PP) pada 30 mutan putatif tebu

Figure 1. Path diagram of 6 agronomical characters i.e. genome size (UG), stem length (PB), stem diameter (DB), internode number (JR), brix and stem weight per meter (BBM) on production (PP) of 30 sugarcane putative mutants.

Produksi mutan putatif tebu mempunyai korelasi positif sangat nyata dengan karakter panjang batang, diameter batang, jumlah ruas, brix, dan bobot batang per meter, serta berkorelasi positif nyata dengan ukuran genom. Nilai korelasi ini merupakan gabungan dari pengaruh langsung dan tak langsung, sehingga perlu diketahui pengaruh langsung dan tak langsung terhadap produksi. Karakter-karakter yang berkorelasi nyata dan sangat nyata terhadap produksi digunakan sebagai peubah bebas dalam analisis lintas yaitu ukuran genom, panjang batang, diameter batang, jumlah ruas, brix, dan bobot batang per meter. Karakter ini merupakan karakter sekunder yang dapat dipertimbangkan oleh seorang pemulia tanaman dalam melakukan seleksi tanaman secara tidak langsung.

Gambar 1 menunjukkan bahwa produksi merupakan resultante dari: ukuran genom, panjang batang, diameter batang, jumlah ruas, brix, dan bobot batang per meter serta peubah campuran yang merupakan faktor lain yang memengaruhi produksi (kg). Peubah campuran tersebut dinamakan pengaruh sisa dengan asumsi berdiri sendiri.

Hasil analisis lintas (Tabel 7) menunjukkan bahwa sumbangan terbesar untuk produksi pada tebu berturut-turut ditunjukkan oleh pengaruh langsung dari bobot batang per meter (0,76) dan panjang batang (0,37). Hal ini sesuai dengan penelitian Pandya dan Patel (2017)

yang menunjukkan bahwa pada analisis lintas diperoleh hubungan karakter bobot batang yang berpengaruh langsung besar terhadap hasil produksi tebu dan nilai korelasinya positif sangat signifikan dengan hasil tebu. Karakter ukuran genom, diameter batang, jumlah ruas, dan brix mempunyai pengaruh langsung yang relatif kecil terhadap produksi, tetapi keempat karakter tersebut berpengaruh tak langsung cukup besar melalui bobot batang per meter terhadap produksi.

Nilai faktor residu 0,132 yang hanya menyebabkan total keragaman produksi relatif kecil. Ini menunjukkan bahwa pemilihan keenam peubah bebas yang disertakan dalam analisis lintas sudah tepat. Persentase keragaman peubah produksi yang dapat diterangkan oleh ukuran genom, panjang batang, diameter batang, jumlah ruas, brix, dan bobot batang per meter secara bersama-sama di dalam model sebesar 86,71%.

Dari hasil analisis lintas terdapat karakter brix yang menunjukkan nilai pengaruh langsung yang negatif (-0,02) terhadap produksi. Karakter brix ini, memiliki korelasi positif nyata terhadap produksi, tetapi pengaruh langsungnya terhadap produksi bernilai negatif. Hal ini disebabkan karena pengaruh tak langsungnya besar melalui karakter bobot batang per meter, sehingga mengurangi pengaruh langsungnya terhadap produksi.

Tabel 7. Pengaruh langsung dan tidak langsung 6 karakter agronomi terhadap produksi per pot 30 mutan putatif tebu
 Table 7. Direct and indirect effect of 6 agronomical characters on production of 30 sugarcane putative mutants

Karakter <i>Characters</i>	Pengaruh langsung <i>Direct effect</i>	Pengaruh tak langsung <i>Indirect effect</i>						Pengaruh total <i>Total effect</i>
		Ukuran genom <i>Genome size</i>	Panjang batang <i>Stem length</i>	Diameter batang <i>Stem diameter</i>	Jumlah ruas <i>Internode number</i>	Brix <i>Brix</i>	Bobot batang per meter <i>Stem weight per meter</i>	
Ukuran genom <i>Genomesize</i>	0,02	-	0,15	0,01	0,01	-0,01	0,23	0,39
Panjang batang <i>Stemlength</i>	0,37	0,01	-	0,01	0,02	-0,01	0,29	0,32
Diameter batang <i>Stem diameter</i>	0,03	0,01	0,19	-	0,01	-0,01	0,54	0,73
Jumlah ruas <i>Internode number</i>	0,02	0,01	0,29	0,01	-	-0,01	0,16	0,45
Brix <i>Brix</i>	-0,02	0,01	0,19	0,01	0,01	-	0,40	0,63
Bobot batang per meter <i>Stem weight per meter</i>	0,76	0,01	0,14	0,02	0,00	-0,01	-	0,16
Sisaan <i>Residual</i>	0,132							

Hasil analisis lintas menunjukkan bahwa seleksi pada mutan putatif tebu untuk mendapatkan produksi dapat dilakukan melalui karakter-karakter yang mempunyai pengaruh langsung yang besar seperti bobot batang per meter dan panjang batang, tetapi juga mempertimbangkan karakter-karakter yang mempunyai pengaruh tak langsung yang cukup besar melalui karakter lain (bobot batang per meter) terhadap produksi seperti ukuran genom, diameter batang, jumlah ruas, dan brix. Hal ini juga didukung oleh nilai heritabilitas arti luas yang tinggi pada kelima karakter tersebut ($h^2_{bs} \geq 50\%$). Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa seleksi tak langsung terhadap produksi mutan putatif tebu dapat melalui karakter-karakter sekunder seperti ukuran genom, diameter batang, jumlah ruas, dan brix dengan penciri kuatnya adalah karakter bobot batang per meter dan panjang batang. Analisis lintas yang hanya menggunakan enam peubah bebas tersebut memungkinkan akan lebih praktis, lebih teliti nilai duganya serta tanpa mengurangi efektifitasnya.

Dari hasil analisis lintas diperoleh karakter yang mempunyai pengaruh langsung dan pengaruh tak langsung besar yang dapat digunakan sebagai karakter dalam seleksi indeks untuk mendapatkan tebu dengan produksi tinggi. Karakter yang dapat digunakan adalah ukuran genom, panjang batang, diameter batang, jumlah ruas, brix, dan bobot batang per meter. Hasil penelitian ini masih memerlukan validasi hubungan antara pengaruh langsung dan tak langsung komponen produksi terhadap produksi pada mutan putatif tebu unggul yang dihasilkan di tingkat lapangan.

KESIMPULAN DAN SARAN

Induksi mutasi menggunakan kolkisin 0,03 dan 0,05% pada tebu varietas PS 881 menghasilkan mutan putatif dengan ukuran genom yang meningkat sebesar 5,03-13,64%. Semakin meningkat ukuran genom pada mutan putatif tebu maka semakin meningkat brix, panjang batang, diameter batang, dan produksi, demikian sebaliknya. Karakter bobot batang per meter dan panjang batang berpengaruh langsung, sedangkan karakter ukuran genom, diameter batang, jumlah ruas, dan brix berpengaruh tidak langsung melalui bobot batang per meter terhadap produksi mutan putatif tebu. Seleksi tak langsung untuk mendapatkan tebu dengan produksi tinggi dapat dilakukan melalui karakter bobot batang per meter dan panjang batang, dengan tetap mempertimbangkan ukuran genom, diameter batang, jumlah ruas, dan brix. Hasil penelitian ini perlu divalidasi lebih lanjut di lapangan untuk mengetahui hubungan komponen produksi terhadap produksi tebu.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Dr. Ir. Rr. Sri Hartati, MP., Ir. Sumanto (Puslitbang Perkebunan), Drs. Deden Sukmadjaja, MSi (BB-Biogen), serta tim Laboratorium UPBUP yang telah menyediakan fasilitas dan membantu pelaksanaan penelitian ini.

PERNYATAAN KONTRIBUSI

Dalam artikel ini Nurya Yuniyati, Trikoesoemaningtyas, dan Sri Suhesti berperan sebagai kontributor utama.

DAFTAR PUSTAKA

- Alam, M.S. et al. (2016) Correlation and path-coefficient analysis of pummelo. *Journal of Bioscience and Agriculture Research*. [Online] 8 (1), 718–725. Available from: doi:10.18801/jbar.080116.85.
- Badaruddin, M.F. et al. (2017) Seleksi dan Karakter Sekunder Jagung Inbrida Toleran Cekaman Kekeringan. *Jurnal Agronomi Indonesia (Indonesian Journal of Agronomy)*. [Online] 45 (2), 130. Available from: doi:10.24831/jai.v45i2.13179.
- Baraiya, V.K. et al. (2018) Correlation and path analysis in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *J. Pharmacognosy and Phytochemistry*. 7 (5), 2730–2732.
- Comai, L. (2005) The advantages and disadvantages of being polyploid. *Nature Reviews Genetics*. [Online] 6 (11), 836–846. Available from: doi:10.1038/nrg1711.
- Darzynkiewicz, Z., Huang, X. & Zhao, H. (2017) Analysis of Cellular DNA Content by Flow Cytometry. *Current Protocols in Immunology*. [Online] 119 (November), 5.7.1-5.7.20. Available from: doi:10.1002/cpim.36.
- Doležel, J. & Bartoš, J. (2005) Plant DNA flow cytometry and estimation of nuclear genome size. *Annals of Botany*. [Online] 95 (1), 99–110. Available from: doi:10.1093/aob/mci005.
- Edmé, S.J. et al. (2005) Determination of DNA content and genome size in sugarcane. *Journal American Society of Sugar Cane Technologists*. [Online] 25, 1–16. Available from: <http://www.assct.org/journal/JASSCT> PDF Files/volume 25/A03-15 Edme final.pdf.

- Ermayanti, T.M., Wijayanta, A.N. & Ratnadewi, D. (2018) Induksi Poliploid di pada Tanaman Talas (*Colocasia esculenta*(L.) Schott) Kultivar Kaliurang dengan Perlakuan Kolkisin secara In Vitro. *Jurnal Biologi Indonesia*. 14 (1), 91–102.
- Fauzi, A.A. (2018) *Peningkatan Keragaman Genetik Tebu (Saccharum officinarum L.) Menggunakan Kolkisin dan Seleksi In Vitro Menggunakan NaCl untuk Mendapatkan Tebu Toleran Salinitas*. Universitas Sultan Ageng Tirtayasa.
- Gravois, K.A., Milligan, S.B. & Martin, F.A. (1991) Indirect selection for increased sucrose yield in early sugarcane testing stages. *Field Crops Research*. 26 (1), Elsevier, 67–73.
- Hartati, R.S. et al. (2018) Induksi mutasi dengan kolkisin dan seleksi in vitro tebu toleran kekeringan menggunakan polyethylene glycol. *Jurnal Littri*. [Online] 24 (2), 93–104. Available from: doi:10.21082/littri.v24n2.2018.93-104.
- Indrawanto, C. et al. (2012) *Budidaya dan Pasca Panen Tebu*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan (ed.) Jakarta, IAARD Press.
- Jackson, P. & McRae, T.A. (2001) Selection of sugarcane clones in small plots. *Crop science*. 41 (2), Crop Science Society of America, 315–322.
- Jamoza, J.E. et al. (2014) Broad-sense heritability estimation and correlation among sugarcane (*Saccharum* spp. hybrids) yield and some agronomic traits in western Kenya. *International Journal of Agricultural Policy and Research*. [Online] 2 (1), 16–25. Available from: doi:10.13140/RG.2.1.5153.3280.
- Kristina, N.N. & Syahid, S.F. (2015) Pengaruh kolkisin terhadap penampilan lada (*Piper nigrum* L.) mutan dan analisis ploidi. *Jurnal Littri*. 21 (3), 125–130.
- Lasmono, G., Sugiharto, A.N. & Respatijarti (2018) Pendugaan nilai heritabilitas, keragaman genetik dan kemajuan genetik harapan pada beberapa genotipe F5 cabai (*Capsicum annum* L.). *Jurnal Produksi Tanaman*. 6 (4), 668–677.
- Lysak, M. (2015) Estimation of nuclear DNA content in Sesleria (Poaceae). *Caryologia*. [Online] (April 1998). Available from: doi:10.1080/00087114.1998.10589127.
- Nofitahesti, I. & Daryono, B.S. (2016) Karakter fenotip kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) hasil poliploidisasi dengan kolkisin. *Scientiae Educatia*. 5 (2), 90–98.
- Oliveira, A.C.L. et al. (2015) Flow cytometry reliability analysis and variations in sugarcane DNA content. *Genetics and Molecular Research*. [Online] 14 (2), Fundacao de Pesquisas Cientificas de Ribeirao Preto, 7172–7183. Available from: doi:10.4238/2015.June.29.11.
- Pandya, M.M. & Patel, P.B. (2017) Studies on correlation and path analysis for quality attributes in sugarcane [*Saccharum* spp. Hybrid]. *International Journal of Pure & Applied Bioscience*. [Online] 5 (6), 1381–1388. Available from: doi:10.18782/2320-7051.2769.
- Petersen, R.G. (1994) *Agricultural Field Experiments: Design and Analysis*. Dekker, M. (ed.) CRC Press.
- Premachandran, M.N., Prathima, P.T. & Lekshmi, M. (2011) Sugarcane and polyploidy - A review. *Journal of Sugarcane Research*. [Online] 1 (2), 1–15. Available from: https://sugarcane.icar.gov.in/images/sbi/article/jsr/pp12-1.pdf.
- Rahmi, P., Witjaksono & Ratnadewi, D. (2019) Induksi Poliploid Tanaman Kangkung (*Ipomoea aquatica* Forssk.) Kultivar Salina In Vitro dengan Oryzalin. *Jurnal Biologi Indonesia*. 15 (1), 1–8.
- Singh, R.K. & Chaudhary, B.D. (1979) *Biometrical Methods In Quantitative Genetic Analysis*. New Delhi (IN), Kalyani Publishers.
- Sirojuddin, Rahayu, T. & Laili, S. (2017) Pengaruh pemberian berbagai konsentrasi kolkisin dan lama perendaman terhadap respon fenotipik zaitun (*Olea europaea*). *Biosaintropis*. 2 (2), 36–41.
- Suminah, Sutarno & Setyawan, A.D. (2002) Induksi Poliploid Bawang Merah (*Allium ascalonicum* L.) dengan Pemberian Kolkisin. *Biodiversitas, Journal of Biological Diversity*. [Online] 3 (1), 174–180. Available from: doi:10.13057/biodiv/d030102.
- Susianti, A. et al. (2015) Karakterisasi morfologi dan anatomi stroberi (*Fragaria x ananassa* D. cv. Festival) hasil induksi kolkisin. *Biogenesis: Jurnal Ilmiah Biologi*. [Online] 3 (2), 66–75. Available from: doi:10.24252/bio.v3i2.929.
- Syukur, M., Sriani, S. & Siregar, A. (2010) Pendugaan parameter genetik beberapa karakter agronomi cabai F4 dan evaluasi daya hasilnya menggunakan rancangan perbesaran (*augmented design*). *Jurnal Agrotropika*. [Online] 15 (1), 9–16. Available from: https://repository.ipb.ac.id/handle/123456789/58435.
- Touchell, D.H., Palmer, I.E. & Ranney, T.G. (2020) In vitro ploidy manipulation for crop improvement.

- Frontiers in Plant Science*. [Online] 11, 722. Available from: doi:10.3389/fpls.2020.00722.
- Weber, V.S. et al. (2012) Efficiency of managed-stress screening of elite maize hybrids under drought and low nitrogen for *yield* under rainfed conditions in Southern Africa. *Crop Science*. [Online] 52 (3), The Crop Science Society of America, Inc., 1011–1020. Available from: doi:10.2135/cropsci2011.09.0486.
- Widyasari, W.B. & Lestari, S. (2009) Keragaman genetik karakter pendukung toleransi koleksi tebu hibrid (*Saccharum* Hybrid) terhadap cekaman kekeringan. *MPG*. 45(3), 133-148.
- Yu, F. et al. (2018) Characterization of chromosome composition of sugarcane in nobilization by using genomic in situ hybridization. *Molecular Cytogenetics*. [Online] 11 (1), Molecular Cytogenetics, 35. Available from: doi:10.1186/s13039-018-0387-z.
- Ziyomo, C. & Bernardo, R. (2013) Drought tolerance in maize: Indirect selection through secondary traits versus genomewide selection. *Crop Science*. [Online] 53 (4), The Crop Science Society of America, Inc., 1269–1275. Available from: doi:10.2135/cropsci2012.11.0651.