

**Variasi Jumlah Kromosom Talas Bentul (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) *In Vitro*  
Hasil Perlakuan Orizalin  
(Variation in Chromosome Number of *In Vitro* Taro Bentul (*Colocasia esculenta* (L.)  
Schott) after Oryzalin Treatment)**

**Tri Muji Ermayanti\*, Deritha Ellfy Rantau, Aida Wulansari, Andri Fadillah Martin & Erwin  
Al Hafizh**

Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI, Jalan Raya Bogor Km 46, Cibinong, 16911

\*E-mail : trimujiermayanti@gmail.com

**Memasukkan:** Desember 2018, **Diterima:** Maret 2019

**ABSTRACT**

Chromosome number analysis is required after polyploid induction with oryzalin. Flowcytometry analysis is a simple and quick method to determine the ploidy level, however, chromosome number analysis is needed in order to confirm variation in the chromosome numbers which has occurred. The aim of the research was to investigate chromosome number variation of polyploid taro (*Colocasia esculenta*) after *in vitro* treatment with oryzalin. Nine treated-oryzalin clones and four taro cultivars, as control treatment, were used in this experiment. Ploidy level confirmation was done by flowcytometry analysis, meanwhile chromosome number calculation was performed by squashing method. Roots were isolated from *in vitro* plantlets for squashing, leaves were isolated from the same plantlets were used for flowcytometry analysis. At least three plants consisted of 6-52 cells having good chromosome distributions were calculated for their chromosome numbers. The results showed that ploidy level of taro corresponded to the number of chromosomes. Flowcytometry analysis of diploid, triploid, tetraploid as well as hexaploid clones, all has chromosome numbers similar to those as their ploidy levels. Range of the chromosome numbers varied, with most of cells had around their normal chromosome numbers. From 5 to 15% of cells had aneuploid numbers lower or above their normal chromosome numbers.

**Keywords :** *Colocasia esculenta*, flowcytometer, polyploid, chromosome number, oryzalin, *in vitro*

**ABSTRAK**

Hasil induksi poliploid perlu dikonfirmasi antara lain dengan analisis jumlah kromosom. Analisis dengan flositometri adalah cara paling cepat untuk mengetahui tingkat ploidi, namun konfirmasi dengan menghitung jumlah kromosom perlu dilakukan untuk mengetahui adanya variasi jumlahnya. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui variasi jumlah kromosom talas (*Colocasia esculenta*) poliploid hasil induksi dengan orizalin secara *in vitro*. Sembilan klon tanaman hasil induksi dengan orizalin dan 4 kultivar talas kontrol dipergunakan dalam penelitian ini. Konfirmasi tingkat ploidi dilakukan dengan analisis flositometri, sedangkan penghitungan jumlah kromosom dilakukan dengan metode *squashing*. Sampel diambil dari akar planlet *in vitro* untuk *squashing*, sedangkan daun planlet *in vitro* untuk flositometri. Sebanyak minimal 3 tanaman terdiri atas 6-52 sel yang mempunyai penyebaran kromosom baik dari masing-masing klon hasil perlakuan orizalin dan tanaman kontrol dihitung jumlah kromosomnya. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konfirmasi tingkat ploidi menggunakan flositometer selaras dengan penghitungan jumlah kromosom dengan metode *squashing*. Hasil analisis flositometri diploid, triploid, tetraploid, dan heksaploid juga menunjukkan jumlah kromosom yang sesuai tingkat ploidinya. Kisaran jumlah kromosom bervariasi, namun sebagian besar sel mempunyai jumlah kromosom sekitar jumlah kromosom sesuai tingkat ploidinya. Sekitar 5-15% sel mempunyai jumlah kromosom aneuploid lebih rendah atau lebih tinggi dari jumlah kromosom normalnya.

**Kata Kunci :** *Colocasia esculenta*, flositometer, poliploid, jumlah kromosom, orizalin, *in vitro*

**PENDAHULUAN**

Poliploidisasi merupakan salah satu metode menghasilkan tanaman poliploid untuk berbagai tujuan tertentu antara lain untuk perbaikan genetik tanaman seperti meningkatkan kualitas buah (Zhang *et al.* 2010; Yulianti dkk. 2015), meningkatkan produktivitas tanaman (Sukanto

dkk. 2010; Syaifudin dkk.. 2013) dan kualitas bunga pada tanaman hias (Kermani *et al.* 2003; Wiendra *et al.* 2011). Induksi tanaman poliploid dapat dilakukan antara lain dengan aplikasi bahan kimia yang disebut sebagai senyawa mutagen atau antimitotik sehingga mempengaruhi pembelahan sel yang mengakibatkan pengurangan jumlah kromosom. Senyawa kimia yang umum

digunakan adalah kolkisin dan orizalin. Kolkisin telah banyak berhasil diaplikasikan pada berbagai jenis tanaman untuk menghasilkan tanaman poliploid seperti pada tanaman *Gladiolus* spp. (Suzuki *et al.* 2005), pisang (Rodrigues *et al.*, 2011), *Artemisia annua* (Al Hafizh dkk. 2013; Ermayanti dkk. 2013), jeruk pamelon Nambangan (Wulandari dkk. 2015), kapas (Mustafa dkk. 2017), dan talas kultivar *redbud* (Senrong & Minghua 2013) dan Kaliurang (Ermayanti *et al.* 2018). Orizalin juga telah banyak menghasilkan tanaman poliploid seperti pada bunga mawar (Kermani *et al.* 2003), tanaman garut (Sukanto *et al.* 2010), anggrek (Miguel & Leonhardt. 2011), *Acacia crassicarpa* (Lam *et al.* 2014), dan talas Bentul (Wulansari dkk. 2016).

Deteksi tingkat ploidi yang paling praktis yaitu dilakukan dengan menggunakan alat flositometer. Alat ini pada mulanya digunakan untuk analisis sel darah, kemudian berkembang untuk analisis organel-organel sel seperti nukleus, mitokondria bahkan kromosom. Di bidang botani alat ini sering digunakan untuk mengukur kandungan DNA sehingga merepresentasikan tingkat ploidi sel tanaman (Vrana *et al.* 2014). Berbagai aplikasi teknologi flowsitometri telah dilaporkan antara lain untuk deteksi tingkat ploidi tanaman, dan untuk penelitian yang lebih detail seperti analisis komposisi berbagai komponen senyawa kimia pada jaringan tanaman, komponen dinding sel tanaman hingga seleksi untuk pemetaan genom secara fisik, distribusi inti sel pada saat mitosis dan lain-lain (Ochatt 2008). Perbedaan kandungan DNA selama siklus reproduksi tanaman heksaploid *Ranunculus carpaticola* juga dapat dideteksi (Hojsgaard & Herbig 2013). Flowsitometri juga dapat digunakan untuk membedakan C1 DNA dan C2 DNA pada *Ficus carica* dan *Morus nigra* (Dalkilic & Dalkilic 2018).

Talas (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) merupakan tanaman sumber karbohidrat yang telah banyak digunakan sebagai tanaman pangan di berbagai negara di Asia Pasifik dan berbagai negara lainnya. Tanaman ini berasal dari Asia Tenggara atau Asia Tengah bagian Selatan dan tumbuh tersebar di berbagai belahan dunia (Onwueme, 1999; Banjaw, 2017). Talas dibagi menjadi dua varietas, yaitu *C. esculenta* var. *esculenta* dan *C. esculenta* var. *antiquorum*

(Purseglove, 1975). Talas mempunyai keragaman genetika sangat luas, dan keragamannya telah banyak dilaporkan di Asia Pasifik (Chair *et al.* 2016). Talas memiliki jumlah kromosom yang bervariasi. Menurut Onwueme (1999) dan Banjaw (2017) jumlah kromosom talas adalah  $2n=2x=22, 26, 28, 38$  dan  $42$ . Sementara jumlah kromosom dasar yang umum dilaporkan adalah  $x=7, x=12$  atau  $x=14$  (Cootes *et al.* 1988). Adanya variasi jumlah kromosom ini antara lain disebabkan oleh sifat talas yang polimorfik dan sifat ketidakstabilan kromosom talas pada saat pembelahan (Mace & Godwin, 2002). Berdasarkan daerah sentra budidayanya, jumlah kromosom talas juga bervariasi (Yang *et al.* 2003). Sebagai contoh, di Australia, New Zealand dan Phillipina tanaman ini mempunyai jumlah kromosom  $2n=28$  dan  $42$ , sedangkan di Papua New Guinea hanya mempunyai jumlah kromosom  $2n=28$  (Coates *et al.* 1988). Di China, talas budidaya mempunyai jumlah kromosom dasar  $x=13, 14$  dan  $19$ , di provinsi Yunnan lebih banyak ditemukan tanaman talas poliploid (Wang *et al.* 2017).

Induksi tanaman poliploid talas telah dilakukan pada kultivar *redbud* (Senrong & Minghua 2013), dan Kaliurang dengan menggunakan kolkisin (Ermayanti dkk. 2018) serta talas Bentul menggunakan orizalin (Wulansari *et al.* 2016). Berdasarkan hasil analisis flositometri, perlakuan konsentrasi orizalin  $7,5-75 \mu\text{M}$  pada talas Bentul, mampu menginduksi tanaman poliploid. Selanjutnya, konsentrasi orizalin  $60 \mu\text{M}$  mampu menghasilkan 50% talas tetraploid dan 9,09% oktaploid, serta konsentrasi  $30 \mu\text{M}$  menghasilkan 5.71% heksaploid (Wulansari *et al.* 2016). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk membandingkan variasi jumlah kromosom talas Bentul hasil penghitungan menggunakan metode *squashing* dengan konfirmasi tingkat ploidi dengan flositometri. Hasil penelitian ini diharapkan mampu memberikan informasi jumlah kromosom dasar talas Bentul hasil perlakuan poliploidisasi menggunakan orizalin maupun talas kontrol (tanpa perlakuan orizalin).

## BAHAN DAN CARA KERA

Bahan tanaman yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah 9 klon talas Bentul hasil

perlakuan orizalin terdiri atas 7 klon tetraploid (O3-2.3.1, O3-2.3.2, O3-2.4.1, O3-2.4.2, O3-3.3.6, O3-4.3.3 dan O3-4.6.3), 1 klon heksaploid (O3-3.3.3) dan satu klon diploid (O4-2.8.5). Ketujuh sampel tanaman tetraploid dan satu heksaploid merupakan tanaman hasil induksi orizalin 30  $\mu\text{M}$ , sedangkan satu tanaman diploid hasil induksi orizalin 60  $\mu\text{M}$  secara *in vitro*. Waktu perendaman sampel yaitu 3 hari. Kontrol yang digunakan yaitu 4 kultivar talas antara lain Bentul, Semir dan Mentega sebagai kultivar diploid dan Bolang sebagai kultivar triploid. Semua kultivar yang dipergunakan dalam penelitian ini merupakan koleksi Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI.

Analisis ploidi dilakukan terhadap daun dari tunas *in vitro* hasil perlakuan orizalin (Wulansari dkk. 2016). Tingkat ploidi ditentukan dengan menggunakan flositometer BD Accuri C6<sup>+</sup>, Biosciences, USA dan flositometer Cyflow ® Space. Partec, Germany. Analisis ploidi dilakukan dengan menggunakan larutan Cystain UV-ploidy yang berisi bufer dan pewarna DNA. Potongan daun diberi label, kemudian dibungkus dengan kertas tisu yang telah dibasahi dengan akuades, dan disimpan dalam cawan petri. Potongan daun berukuran sekitar 0,5 cm<sup>2</sup> diletakkan di atas cawan petri dan ditetesi 0,25 ml buffer cystain UV-Ploidi, kemudian dicacah dengan silet. Cacahan daun disaring dengan saringan 30  $\mu\text{m}$  dan filtrat dimasukkan dalam kuvet untuk dianalisis. Sampel dibaca pada panjang gelombang 440 nm dan kecepatan 1000 nuclei per detik (Ermayanti *et al.* 2013). Daun diploid digunakan sebagai kontrol. Rata-rata kandungan DNA (*mean*) dan *coefficient of variation* (CV) dari tiap-tiap sampel pada setiap *peak* diamati dan dibandingkan dengan tanaman kontrol (diploid) dan ditentukan tingkat ploidinya sesuai dengan kelipatan rata-rata jumlah kandungan DNA.

Akar yang digunakan dalam pengamatan kromosom berasal dari kultur *in vitro* talas Bentul yang telah diinduksi poliploid dengan orizalin sesuai perlakuan dan telah ditentukan dan diperbanyak dengan subkultur sebanyak 7-8 kali pada media TA (Wulansari *et al.* 2016). Konsentrasi orizalin yang digunakan untuk induksi poliploidi adalah 30 dan 60  $\mu\text{M}$  dengan waktu perendaman 3 hari. Analisis

penghitungan jumlah kromosom mengikuti metode Karp (1991). Isolasi akar dilakukan terhadap planlet kultur *in vitro* yang ditanam pada media MS (Murashige & Skoog, 1962) tanpa penambahan zat pengatur tumbuh. Akar berumur 1-2 minggu dengan panjang 1-2 cm direndam dalam larutan paradikolobenzen jenuh selama 4-5 jam. Setelah itu akar dibilas tiga kali dan dilanjutkan dengan fiksasi selama semalam dengan larutan asam asetat glasial dengan etanol dengan perbandingan 1:3. Akar kemudian dicuci dengan akuades sebanyak 3 kali lalu diganti dengan larutan etanol 70% dan disimpan di kulkas, selanjutnya akar siap dilakukan *squashing*.

Akar dihidrolisis dengan 5N HCl selama 10 menit lalu dibilas 3 kali dengan akuades sebelum dilakukan pewarnaan. Akar diwarnai dengan larutan orcein 2% dalam larutan 45% asam asetat glasial selama satu malam. Akar di-*squashing* di atas kaca preparat yang telah ditutup dengan kaca penutup, sebanyak 5-6 kali dilewatkan di atas api bunsen dan pinggir kaca penutup yang direkatkan dengan cat kuku. Selanjutnya preparat diamati menggunakan mikroskop cahaya (Will-Wetzlar). Kromosom diamati pada fase akhir metafase atau awal anafase sehingga didapatkan kromosom yang tersebar sehingga mudah dihitung dan difoto. Jumlah tanaman yang diambil akarnya untuk pengamatan yaitu minimal 3 tanaman setiap klon dan sebanyak 6 sampai 52 sel dengan sebaran kromosom yang baik dihitung jumlah kromosomnya pada perbesaran mikroskop 1000 kali.

## HASIL

Penelitian ini menggunakan dua alat flositometer yang berbeda, dengan demikian nilai Mean PI yang diperoleh juga berbeda (Tabel 1). Namun demikian hasil analisis tingkat ploidi dengan flositometer telah dikonfirmasi dengan penghitungan jumlah kromosom. Pada talas diploid dengan menggunakan flositometer BD Accuri C6<sup>+</sup> diperoleh nilai *mean* PI lebih dari 240 untuk kultivar Bentul dan Semir, sedangkan dengan menggunakan flositometer Partec nilai *mean* PI lebih rendah dari 200 untuk diploid klon O4-2.8.5. Talas Bolang merupakan kultivar triploid yang telah dikonfirmasi dengan

flositometer Partec. Talas ini mempunyai nilai *mean* PI lebih besar dibandingkan dengan kultivar Mentega. Sembilan sampel hasil induksi orizalin dengan analisis flositometer menunjukkan tujuh sampel termasuk tanaman tetraploid, satu tanaman heksaploid dan satu tanaman diploid (Tabel 1).

Hasil penghitungan jumlah kromosom dengan metode *squashing* menunjukkan adanya variasi jumlah kromosom kultivar talas kontrol dan hasil perlakuan dengan orizalin seperti tertera pada Tabel 2. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari 4 kultivar kontrol dan 9 tanaman hasil perlakuan orizalin dengan tingkat ploidi berbeda menurut analisis flositometer tidak dijumpai sel yang mempunyai jumlah kromosom  $2n=x=7$  (Tabel 2). Menurut hasil analisis flositometri, talas Bentul adalah diploid (Tabel 1). Penghitungan jumlah kromosom menunjukkan bahwa talas Bentul mempunyai  $2n=2x=24$  dan  $28$  dengan frekuensi jumlah kromosom  $2n=2x=24$  sepuluh kali lebih besar dibandingkan dengan frekuensi jumlah kromosom  $2n=2x=28$  (Tabel 2). Hasil penghitungan jumlah kromosom menunjukkan bahwa talas Semir mempunyai jumlah kromosom  $2n=2x=24$  dan  $2n=2x=28$  dengan  $2n=x=12$  maupun  $2n=x=14$

Penghitungan jumlah kromosom dengan *squashing* menunjukkan bahwa talas kultivar Bentul, Semir dan Mentega mempunyai variasi jumlah kromosom pada jumlah diploid dengan kisaran frekuensi besar dengan jumlah diploid

$2n=2x=24$ . Beberapa sel yang mempunyai jumlah kromosom aneuploid dijumpai pada ketiga kultivar ini (Tabel 2, Gambar 1, 2 dan 3). Kultivar Bentul juga mempunyai jumlah kromosom dasar ganda yaitu  $x=12$  dan  $x=14$  seperti tertera pada Tabel 2. Hasil penelitian menunjukkan bahwa sel talas Bentul dengan jumlah kromosom  $2n=2x=24$  adalah sebanyak 30,3% dan sel dengan jumlah  $2n=2x=28$  sebanyak 3,03%, dan kisaran jumlah kromosom berada pada jumlah kromosom diploid. Gambar 1A menunjukkan contoh sel hasil *squashing* dengan jumlah kromosom  $2n=2x=28$  dan sel dengan jumlah kromosom aneuploid  $2n=2x=20$ .

Talas Semir juga mempunyai jumlah kromosom yang sebagian besar terdapat pada sekitar jumlah kromosom diploidnya yaitu  $2n=2x=24$  (Gambar 2A) dan sesuai dengan hasil analisis flositometer (Gambar 2B) serta penghitungan jumlah kromosom hasil *squashing* (Gambar 2C). Seperti halnya talas Bentul, talas Semir juga mempunyai dua kromosom dasar yaitu  $x=12$  dan  $14$ , sehingga beberapa sel selain mempunyai jumlah kromosom diploid  $2n=2x=24$  (sebanyak 17,02%) juga ditemukan sel dengan jumlah kromosom  $2n=2x=28$  (sebanyak 8,51%) (Tabel 2). Sel-sel lainnya mempunyai jumlah kromosom aneuploid di sekitar jumlah diploid  $2n=2x=24$  (Tabel 2, Gambar 2A).

Hasil flositometer talas Mentega menunjukkan bahwa kultivar ini adalah diploid (Tabel 1, Gambar 3). Hasil penghitungan kromosom

**Tabel 1.** Tingkat ploidi hasil analisis flositometri talas Bentul (*Colocasia esculenta*) setelah perlakuan orizalin. Sebagai kontrol adalah talas Bentul, Semir dan Mentega (diploid), serta talas Bolang (triploid)

No	Kultivar/Klon	Konsentrasi Orizalin ( $\mu$ M)	Mean PI	CV %	Tingkat Ploidi	Tipe alat flositometer
<b>A Kontrol</b>						
1.	Bentul	-	243.14	4.85	diploid	BD Accuri C6 <sup>+</sup> , USA
2.	Semir	-	268.39	4.46	diploid	BD Accuri C6 <sup>+</sup> , USA
3.	Mentega	-	187.85	9.57	diploid	Partec, Germany
4.	Bolang	-	284.21	7.01	triploid	Partec, Germany
<b>B Hasil perlakuan orizalin</b>						
5.1	Bentul O3-2.3.1	30	509.91	5.58	tetraploid	BD Accuri C6 <sup>+</sup> , USA
6.2	Bentul O3-2.3.2	30	567.30	5.73	tetraploid	BD Accuri C6 <sup>+</sup> , USA
7.3	Bentul O3-2.4.1	30	570.26	6.75	tetraploid	BD Accuri C6 <sup>+</sup> , USA
8.	Bentul O3-4.6.3	30	474.80	5.64	tetraploid	BD Accuri C6 <sup>+</sup> , USA
9.	Bentul O3-2.4.2	30	426.06	5.90	tetraploid	Partec, Germany
10.	Bentul O3-3.3.6	30	396.32	6.09	tetraploid	Partec, Germany
11.	Bentul O3-4.3.3	30	494.63	7.02	tetraploid	Partec, Germany
12.	Bentul O3-3.3.3	30	809.90	5.78	heksaploid	Partec, Germany
13.	Bentul O4-2.8.5	60	190.49	9.79	diploid	Partec, Germany

Variasi Jumlah Kromosom Talas Bentul (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) *In Vitro*

dengan metode *squashing* menunjukkan bahwa talas Mentega hanya mempunyai jumlah kromosom dasar  $x=12$  dengan jumlah diploidnya yaitu  $2n=2x=24$

dan beberapa sel aueuploid diantaranya  $2n=2x=22$ . Kisaran jumlah kromosom juga berada pada jumlah kromosom diploid (Tabel 2, Gambar

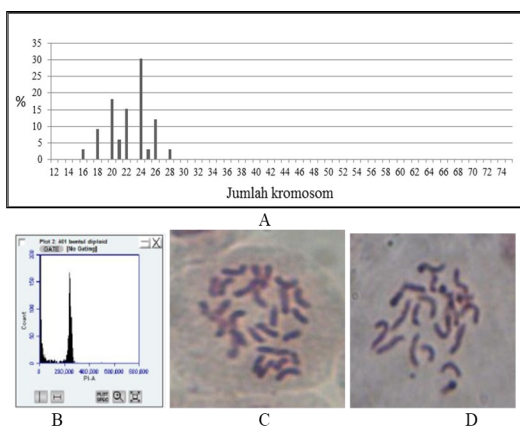
**Tabel 2.** Distribusi jumlah kromosom talas Bentul (*Colocasia esculenta*) setelah perlakuan orizalin. Sebagai kontrol adalah talas Bentul, Semir dan Mentega (diploid), serta talas Bolang (triploid)

Kultivar/ Klon	Kisaran jumlah kromosom ( $2n=2x$ ) dan persentasenya									
	12 (%)	13 (%)	14 (%)	15-23 (%)	24 (%)	25-27 (%)	28 (%)	29-35 (%)	36 (%)	37-41 (%)
Bentul	0	0	0	17 (51,51)	10 (30,30)	5 (15,15)	1 (3,03)	0	0	0
Semir	1 (2,13)	2 (6,38)	4 (8,51)	13 (27,66)	8 (17,02)	12 (25,53)	4 (8,51)	2 (4,26)	0	0
Mentega	0	0	0	17 (51,51)	8 (17,02)	6 (18,18)	0	2 (6,06)	0	0
Bolang	0	0	0	0	0	0	0	1 (20,00)	1 (20,00)	2 (40,00)
O3-2.3.1	0	0	0	0	0	0	0	0	1 (3,85)	0
O3-2.3.2	0	0	0	1 (2,56)	0	0	0	1 (2,56)	0	3 (7,69)
O3-2.4.1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8 (18,60)
O3-2.4.2	0	0	0	0	0	0	0	1 (16,67)	0	0
O3-3.3.6	0	0	0	2 (8,70)	1 (4,33)	0	0	3 (13,04)	0	2 (8,70)
O3-4.3.3	0	0	0	3 (7,69)	0	0	0	0	1 (2,56)	5 (12,82)
O3-4.6.3	0	0	0	6 (31,58)	1 (5,26)	0	0	3 (15,79)	1 (5,26)	4 (21,05)
O3-3.3.3	0	0	0	4 (8,70)	1 (2,18)	3 (6,52)	1 (2,78)	1 (2,78)	2 (4,35)	0
O4-2.8.5	0	0	1 (1,92)	23 (44,23)	16 (30,77)	12 (23,08)	0	0	0	0

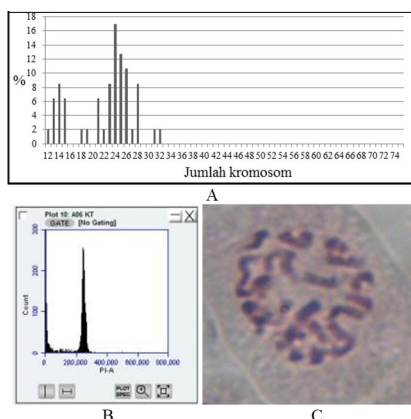
Kultivar/ Klon	Kisaran jumlah kromosom ( $2n=2x$ ) dan persentasenya										Kisaran jumlah kromosom
	42 (%)	43-47 (%)	48 (%)	49-55 (%)	56 (%)	60 (%)	61-71 (%)	72 (%)	> 72 (%)		
Bentul	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	16-28
Semir	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12-32
Mentega	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	21-30
Bolang	0	1 (20,00)	0	0	0	0	0	0	0	0	24-43
O3-2.3.1	2 (7,69)	11 (42,31)	5 (19,23)	6 (23,08)	1 (3,85)	0	0	0	0	0	36-56
O3-2.3.2	7 (17,96)	22 (56,41)	4 (10,26)	1 (2,56)	1 (2,56)	0	0	0	0	0	21-49
O3-2.4.1	4 (9,30)	23 (49,49)	7 (16,28)	5 (11,63)	0	0	0	0	0	0	38-51
O3-2.4.2	0	3 (50,00)	2 (33,33)	0	0	0	0	0	0	0	34-48
O3-3.3.6	0	13 (56,52)	2 (8,70)	0	0	0	0	0	0	0	20-48
O3-4.3.3	3 (7,69)	5 (12,85)	5 (12,85)	14 (35,90)	3 (7,69)	0	0	0	0	0	18-56
O3-4.6.3	0	3 (15,79)	0	1 (5,26)	0	0	0	0	0	0	17-55
O3-3.3.3	2 (4,35)	3 (6,52)	2 (4,35)	1 (2,78)	1 (2,78)	3 (6,52)	15 (32,55)	2 (4,35)	4 (8,70)	0	16-75
O4-2.8.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	14-26

3A). Kultivar Bolang adalah kontrol tanaman triploid (Tabel 1) dan kisaran jumlah kromosom triploid yaitu antara  $2n=2x=24-43$  (Tabel 2). Beberapa sel mempunyai jumlah kromosom aneuploid sekitar jumlah kromosom triploidnya yaitu  $2n=2x=36$  (Tabel 2). Hasil penghitungan jumlah kromosom hasil *squashing* ditunjukkan pada Gambar 4A, histogram flositometri pada Gambar 4B dan contoh jumlah kromosom  $2n=3x=34$  tertera pada Gambar 4C.

Sebaran jumlah kromosom, histogram hasil analisis flositometri dan contoh sel yang memiliki jumlah kromosom sembilan tanaman hasil perlakuan orizalin ditunjukkan oleh Gambar 5



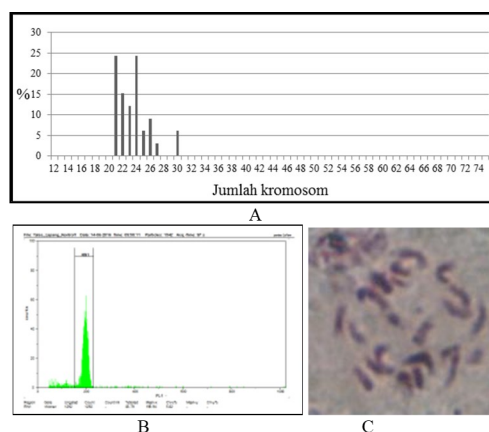
**Gambar 1.** Variasi jumlah kromosom hasil *squashing* dan histogram flositometri talas Bentul (*Colocasia esculenta*) diploid (kontrol) tanpa perlakuan orizalin. A. Variasi jumlah kromosom; B. Histogram hasil flositometri; C. Jumlah kromosom  $2n=2x=28$  dan D. Jumlah kromosom  $2n=2x=20$ .



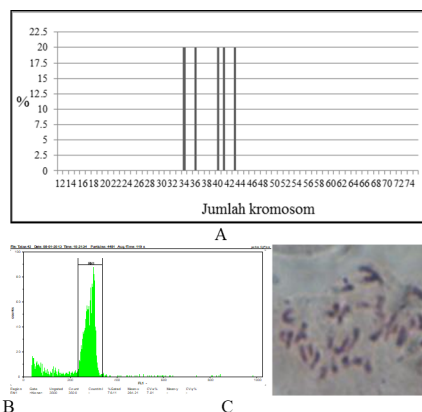
**Gambar 2.** Variasi jumlah kromosom hasil *squashing* dan histogram flositometri talas Semir (*Colocasia esculenta*) diploid (kontrol). A. Variasi jumlah kromosom; B. Histogram hasil flositometri; C. Jumlah kromosom  $2n=2x=24$ .

sampai 13. Tanaman klon tetraploid ditunjukkan oleh Gambar 5 sampai 11, tanaman klon heksaploid ditunjukkan oleh Gambar 12, dan tanaman diploid ditunjukkan pada Gambar 13. Tanaman tetraploid mempunyai sebagian besar jumlah kromosom sekitar  $2n=4x=48$ . Hasil penghitungan jumlah kromosom dengan *squashing* menunjukkan bahwa tanaman diploid mempunyai jumlah kromosom di sekitar  $2n=2x=24$ , sedangkan tanaman heksaploid memiliki jumlah kromosom menyebar, namun mempunyai porsi jumlah kromosom yang lebih besar di sekitar jumlah heksaploidnya (Tabel 2).

Tanaman klon O3-2.3.1 merupakan tanaman

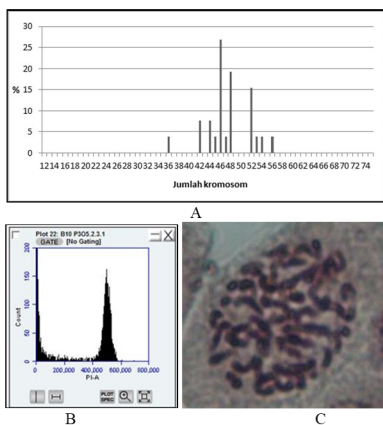


**Gambar 3.** Variasi jumlah kromosom hasil *squashing* dan histogram flositometri talas Mentega (*Colocasia esculenta*) diploid (kontrol). A. Variasi jumlah kromosom; B. Histogram hasil flositometri; C. Jumlah kromosom  $2n=2x=22$ .



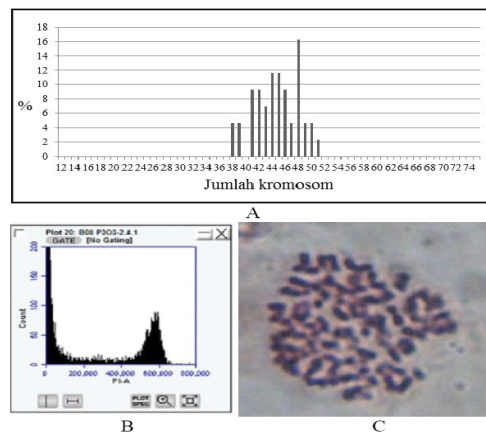
**Gambar 4.** Variasi jumlah kromosom hasil *squashing* dan histogram flositometri talas Bolang (*Colocasia esculenta*) triploid (kontrol). A. Variasi jumlah kromosom; B. Histogram hasil flositometri; C. Jumlah kromosom  $2n=3x=36$ .

tetraploid dengan kisaran jumlah kromosom  $2n=36-56$  (Tabel 2, Gambar 5A). Hasil analisis flositometer juga menunjukkan bahwa tanaman ini adalah tetraploid (Gambar 5B) dengan contoh sel yang mempunyai jumlah kromosom aneuploid  $2n=4x=52$  (Gambar 5C). Gambar 6 menunjukkan hasil sebaran jumlah kromosom tanaman O3-2.3.2 dengan kisaran jumlah kromosom  $2n=26-56$ , dengan persentase terbesar sel mempunyai jumlah kromosom sekitar jumlah tetraploid yaitu  $2n=48$  (Tabel 2 dan Gambar 6A). Salah satu contoh sel yang mempunyai jumlah kromosom  $2n=4x=48$  tertera pada Gambar 6C. Pola sebaran jumlah kromosom

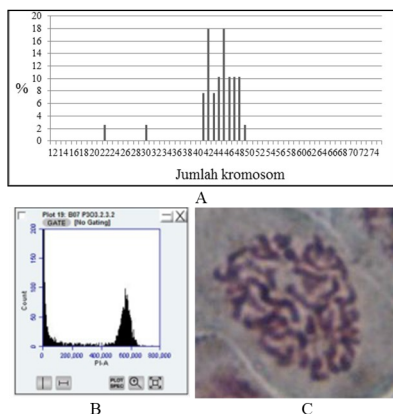


**Gambar 5.** Variasi jumlah kromosom hasil *squashing* dan histogram flositometri talas Bentul (*Colocasia esculenta*) klon O3-2.3.1. hasil perlakuan orizalin. A. Variasi jumlah kromosom; B. Histogram hasil flositometri; C. Jumlah kromosom  $2n= 4x =52$ .

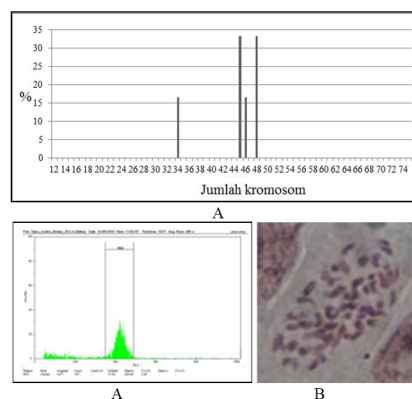
serupa ditunjukkan pada tanaman O3-2.4.1 dengan kisaran  $2n=38-51$  (Tabel 2, Gambar 7). Tanaman O3-2.4.2 mempunyai kisaran jumlah kromosom yang lebih sempit dibandingkan dengan tanaman tetraploid lainnya yaitu  $2n=34-48$  (Tabel 2, Gambar 8A), dengan persentase terbesar sel dengan jumlah kromosom sekitar 48. Hasil analisis flositometri dan contoh sel yang mempunyai jumlah kromosom tetraploid disajikan pada Gambar 8B dan Gambar 8C, Sebaran jumlah kromosom tetraploid yang lebih luas diperlihatkan pada tiga tanaman klon lainnya yaitu klon O3-3.3.6 (Gambar 9A) dengan kisaran jumlah kromosom  $2n=20-48$



**Gambar 7.** Variasi jumlah kromosom hasil *squashing* dan histogram flositometri talas Bentul (*Colocasia esculenta*) klon O3-2.4.1. hasil perlakuan orizalin. A. Variasi jumlah kromosom; B. Histogram hasil flositometri; C. Jumlah kromosom  $2n= 4x =48$ .



**Gambar 6.** Variasi jumlah kromosom hasil *squashing* dan histogram flositometri talas Bentul (*Colocasia esculenta*) klon O3-2.3.2. hasil perlakuan orizalin. A. Variasi jumlah kromosom; B. Histogram hasil flositometri; C. Jumlah kromosom  $2n= 4x =48$ .



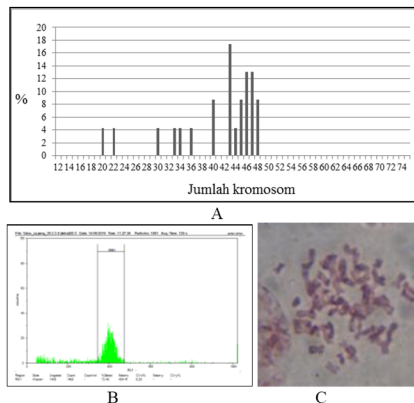
**Gambar 8.** Variasi jumlah kromosom hasil *squashing* dan histogram flositometri talas Bentul (*Colocasia esculenta*) klon O3-2.4.2. hasil perlakuan orizalin. A. Variasi jumlah kromosom; B. Histogram hasil flositometri; C. Jumlah kromosom  $2n= 4x =48$ .

(Tabel 2), klon O3-4.3.3 (Gambar 10A) dengan kisaran jumlah kromosom  $2n=18-56$  (Tabel 2), dan klon O3-4.6.3 (Gambar 11A) dengan kisaran jumlah kromosom  $2n=17-55$  (Tabel 2). Ketiga klon tanaman tersebut mempunyai persentase terbesar jumlah kromosom tetraploid. Hasil analisis flositometrinya juga menunjukkan histogram tetraploid (Gambar 9B, 10B dan 11B) dengan contoh sel dengan jumlah kromosom  $2n=4x=48$  (Gambar 9C, 10C dan 11C). Beberapa sel dengan jumlah kromosom aneuploid dijumpai pada ketiga klon tanaman tersebut.

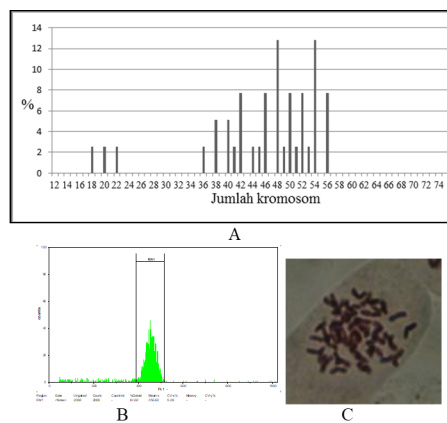
Hasil penghitungan jumlah kromosom dengan metode *squashing* menunjukkan bahwa klon heksaploid O3-3.3.3 mempunyai sebaran jumlah kromosom yang sangat lebar yaitu  $2n=16-75$  dengan persentase terbanyak pada kisaran jumlah kromosom heksaploid (Tabel 2, Gambar 12A). Histogram hasil analisis flositometri menunjukkan bahwa klon tanaman ini adalah heksaploid (Gambar 12B). Contoh sel yang mempunyai jumlah kromosom heksaploid dan aneuploid  $2n=6x=72$  dan 70 tertera pada Gambar 12C. Tidak semua perlakuan induksi orizalin menghasilkan tanaman poliploid. Tanaman klon O4-2.8.5 merupakan klon diploid hasil perlakuan orizalin. Sebaran jumlah kromosom tanaman ini adalah  $2n=14-26$  (Tabel 2, Gambar 13A), analisis flositometri juga menghasilkan histogram diploid  $2n=2x=24$  yang ditunjukkan pada Gambar 13C.

**PEMBAHASAN**

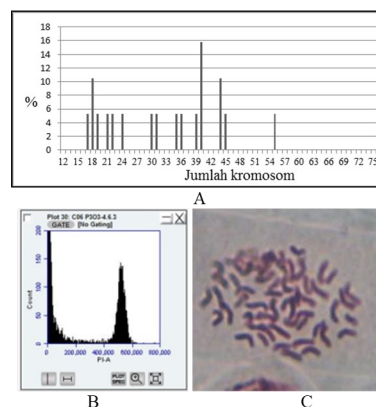
Tanaman talas (*Colocasia esculenta*) mempunyai jumlah kromosom unik. Jumlah kromosom talas yang pernah dilaporkan adalah  $2n=2x=22, 26, 28, 38$  dan  $42$ , dengan jumlah yang sering dipublikasikan adalah  $2n=2x=28$  atau  $42$  (Onwueme 1999; Mace & Godwin 2002). Menurut Darlington & Wylie (1955), jumlah kromosom dasar dari genus *Colocasia* adalah  $x=12$  dan  $x=14$ . Selain itu, jenis ini dilaporkan juga mempunyai beberapa jumlah kromosom dasar yaitu  $x=7, x=12$  atau  $x=14$ . (Cootes *et al.* 1988). Hasil penelitian ini juga menunjukkan adanya variasi jumlah kromosom dasar baik yang terdapat pada kultivar tanaman yang sama (Bentul, Semir dan Mentega) maupun pada klon-klon tanaman hasil perlakuan orizalin. Menurut Onwueme (1999)



**Gambar 9.** Variasi jumlah kromosom hasil *squashing* dan histogram flositometri talas Bentul (*Colocasia esculenta*) klon O3-3.3.6. hasil perlakuan orizalin. A. Variasi jumlah kromosom; B. Histogram hasil flositometri; C. Jumlah kromosom  $2n=4x=48$ .



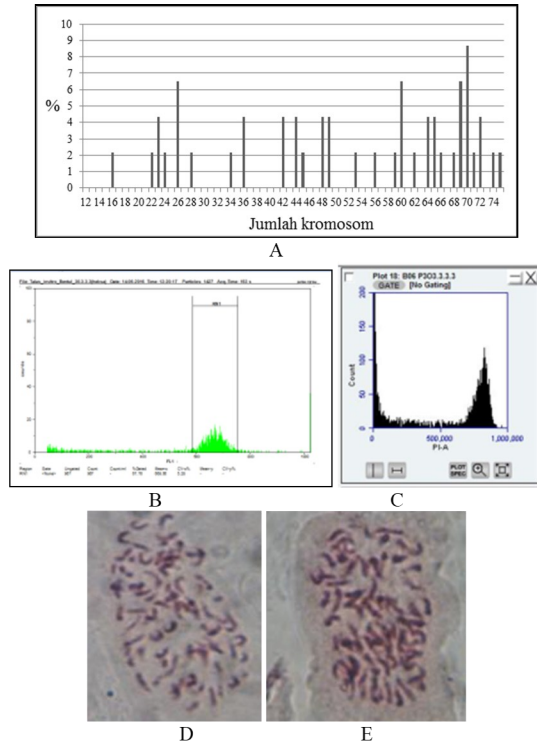
**Gambar 10.** Variasi jumlah kromosom hasil *squashing* dan histogram flositometri talas Bentul (*Colocasia esculenta*) klon O3-4.3.3. hasil perlakuan orizalin. A. Variasi jumlah kromosom; B. Histogram hasil flositometri; C. Jumlah kromosom  $2n=4x=48$ .



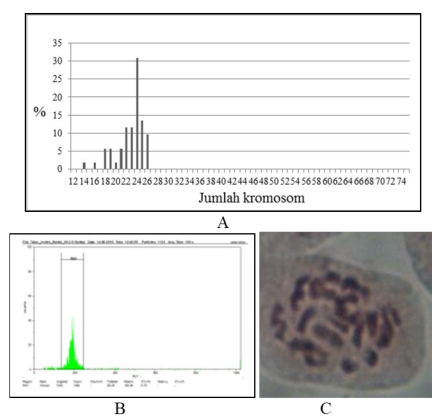
**Gambar 11.** Variasi jumlah kromosom hasil *squashing* dan histogram flositometri talas Bentul (*Colocasia esculenta*) klon O3-4.6.3. hasil perlakuan orizalin. A. Variasi jumlah kromosom; B. Histogram hasil flositometri; C. Jumlah kromosom  $2n=4x=48$ .



terjadinya variasi jumlah kromosom pada talas disebabkan karena pada saat pembelahan sel terjadi penyebaran kromosom yang tidak normal. Pada penelitian ini beberapa sel mempunyai jumlah



**Gambar 12.** Variasi jumlah kromosom hasil *squashing* dan histogram flositometri talas Bentul (*Colocasia esculenta*) klon O3-3.3.3. hasil perlakuan orizalin. A. Variasi jumlah kromosom; B dan C. Histogram hasil flositometri; D. Jumlah kromosom  $2n=6x=72$ ; E. Jumlah kromosom  $2n=6x=70$ .



**Gambar 13.** Variasi jumlah kromosom hasil *squashing* dan histogram flositometri talas Bentul (*Colocasia esculenta*) klon O4-2.8.5. hasil perlakuan orizalin. A. Variasi jumlah kromosom; B. Histogram hasil flositometri; C. Jumlah kromosom  $2n=2x=24$ .

kromosom aneuploid, yaitu terjadi pengurangan atau penambahan jumlah kromosom dari jumlah normalnya yang diakibatkan oleh hal tersebut. Keragaman genetik talas juga disebabkan karena budidaya yang berlangsung sangat lama pada daerah pusat keragaman talas sehingga mengakibatkan sifat genetik yang tidak stabil, seperti dilaporkan oleh Mace & Godwin (2002) dan Yang *et al.* (2003).

Konfirmasi tingkat ploidi yang mudah dan sederhana dapat dilakukan dengan flositometri. Berdasarkan densitas DNA yang dibaca oleh alat flositometer dapat mengekspresikan tingkat ploidi suatu tanaman (Yanpaisan *et al.* 1999; Vrana *et al.* 2014). Pada talas Bentul, dengan menggunakan kontrol tanaman diploid dihasilkan letak puncak pada histogram dengan nilai *mean PI* tertentu. Nilai ini kemudian dijadikan acuan untuk menentukan tingkat ploidi tanaman klon-klon poliploid hasil perlakuan orizalin. Penghitungan jumlah kromosom menggunakan metode *squashing* pada penelitian ini penting dilakukan untuk mengetahui sebaran jumlah kromosom sebagai konfirmasi lebih rinci dari hasil analisis flositometri sehingga diketahui jumlah kromosom dasar masing-masing klon sesuai dengan tingkat ploidinya. Selanjutnya sifat sebaran variasi jumlah kromosom dapat dihubungkan dengan sifat lain yang berhubungan dengan genetiknya. Sebagai contoh variasi jumlah kromosom ini sangat memungkinkan berhubungan dengan karakter pertumbuhan yang juga bervariasi dari beberapa klon-klon talas Bentul tetraploid hasil perlakuan orizalin (Wulandari dkk. 2017).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak semua perlakuan induksi orizalin menghasilkan tanaman poliploid. Tanaman klon O4-2.8.5 merupakan klon diploid hasil perlakuan orizalin. Tidak hanya akibat perlakuan orizalin, perlakuan kolkisin pada talas Kaliurang juga memberikan hasil sebanyak 36,4-57,1% tanaman diploid dan sebanyak 14,4-57,1% tanaman tetraploid. Penelitian Wulansari dkk. (2017) menunjukkan bahwa perlakuan orizalin terhadap talas bentul menghasilkan 22,86-46,67% tanaman diploid. Hal ini disebabkan bahwa orizalin seperti halnya kolkisin hanya efektif dalam menginduksi poliploidi pada sel meristem yang sedang mengalami pembelahan. Perbedaan fase pembelahan setiap sel menyebabkan tidak terinduksinya semua sel

meristem oleh kolkisin secara bersamaan sehingga membuat perbedaan tingkat ploidi antar tunas. Sel-sel yang tidak terinduksi akan tetap diploid seperti induknya (Ermayanti dkk. 2018).

Variasi jumlah kromosom tidak hanya terjadi pada planlet akibat proses ploidisasi, namun juga terjadi pada kultur akar rambut hasil transformasi dengan *Agrobacterium rhizogenes*. Contohnya pada tanaman *Artemisia annua* dan *Artemisia cina* (Ermayanti dkk. 2002; Ermayanti et al. 2004). Variasi jumlah kromosom ini berhubungan dengan sifat lainnya yaitu konsentrasi senyawa aktifnya yang juga bervariasi. Oleh karena itu pada talas Bentul perlu dilakukan karakterisasi sifat lainnya yang memungkinkan adanya variasi sehingga diperoleh klon unggul dengan sifat tertentu yang menguntungkan. Hasil penelitian Wulandari et al. (2017) menunjukkan bahwa beberapa klon tetraploid talas Bentul mempunyai pertumbuhan yang berbeda-beda sehingga memungkinkan untuk mendapatkan klon dengan pertumbuhan yang lebih baik dari klon diploidnya dengan produktivitas yang lebih tinggi.

Adanya variasi jumlah kromosom juga dapat mengindikasikan sifat genetik yang tidak stabil. Variasi jumlah kromosom juga terjadi pada kultur kalus beberapa genus *Gentiana*. Hal ini berhubungan dengan genotipe tanaman induknya (Twardovska et al. 2008). Untuk mengatasi sifat genetik yang tidak stabil dapat dilakukan dengan skrining planlet hasil embriogenesis dan regenerasi seperti dilaporkan pada tanaman *Corum copticum* (Niazian et al. 2017). Oleh karena itu planlet dari klon-klon poliploid talas Bentul perlu ditanam di lapang kemudian dilakukan konfirmasi tingkat ploidinya kembali untuk seleksi stabilitas genetiknya.

## KESIMPULAN

Variasi jumlah kromosom akibat proses ploidisasi dengan menggunakan orizalin terjadi pada talas Bentul (*Colocasia esculenta*). Analisis jumlah kromosom penting dilakukan dengan metode *squashing* untuk konfirmasi hasil tingkat ploidi dengan menggunakan flositometri. Penghitungan jumlah kromosom dengan metode *squashing* talas Bentul menunjukkan bahwa

pada semua klon baik pada klon tanaman hasil perlakuan orizalin maupun tanaman kontrol mempunyai variasi jumlah kromosom, namun sebagian besar sel mempunyai jumlah kromosom dengan tingkat ploidi yang sesuai dengan hasil analisis flositometri. Sel dengan jumlah kromosom aneuploid dijumpai pada semua tanaman, namun dengan persentase rendah.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Meta Irianty dan Isnaenisa Rachma (Bidang Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia) yang telah membantu penelitian ini. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada Pusat Penelitian Biologi LIPI yang telah mengizinkan penggunaan flositometer Cyflow® Space. Partec, Germany untuk analisis beberapa klon talas yang dipergunakan dalam penelitian ini. Penelitian ini didanai oleh DIPA Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI tahun anggaran 2016 dan 2017.

## DAFTAR PUSTAKA

- Al Hafiih, E., TM. Ermayanti, & DE. Rantau. 2013. Induksi tanaman poliploid dari kecambah *in vitro* *Artemisia annua* L. dengan perlakuan kolkisin. Prosiding Seminar Nasional Kimia Terapan Indonesia. Solo, 23 Mei 2013. 117-123.
- Banjaw, DT. 2017. Review of taro (*Colocasia esculenta*) genetics and breeding. *Journal of Horticulture*. 4(1)1-4.
- Chaïr, H., RE. Traore, MF. Duval, R. Rivallan, A. Mukherjee, LM. Aboagye, W J. Van Rensburg, V. Andriavalona, MAA. Pinheiro de Carvalho, F. Saborio, MS. Prana, B. Komolong, F. Lawac, & V. Lebot. 2016. Genetic diversification and dispersal of Taro (*Colocasia esculenta* (L.) Schott). *PLOS ONE*. Juni 17 : 1-19.
- Coates, DJ., DE. Yen & PM. Gaffey. 1988. Chromosome variation in Taro, *Colocasia esculenta*: Implications for origin in the Pacific. *Cytologia* 53: 551-560.
- Dalkiliç, Z. & GG. Dalkiliç. 2018. DNA content estimation of Fig and Black Mulberry using flow cytometry. *Revista*

- Brassileira de Fruticultura*. 40 (2): 1-7.
- Darlington, CD. & AP. Wylie. 1955. Chromosome Atlas of Flowering Plants. London (UK): George Allen & Unwin LTD.
- Ermayanti TM., DR Wulandari, & E Al Hafiih. 2002. Morfologi dan analisis kromosom kultur akar rambut *Artemisia annua* hasil transformasi dengan *Agrobacterium rhizogenes*. Prosiding Kongres III KBI dan Seminar Bioteknologi. Hal : 1-6.
- Ermayanti, TM., AN. Wijayanta & D. Ratnadewi. 2018. Induksi poliploidi pada tanaman talas (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) kultivar Kaliurang dengan perlakuan kolkisin secara *in vitro*. *Jurnal Biologi Indonesia* 14 (1):91-102.
- Ermayanti, TM, E. Al Hafiih, AF. Martin, & DE Rantau. 2013. Pengaruh kolkisin terhadap pertumbuhan tunas *Artemisia annua* L. secara *in vitro* dan analisis tingkat ploidinya. Prosiding Seminar Nasional XVI Kimia dan Pembangunan. Hal : 513-522.
- Ermayanti, TM., O. Yanti, & E. Al Hafiih. 2004. Cytological analysis of root culture of *Artemisia cina*. *Annales Bogorienses* 9(2): 50-58.
- Hojsgaard, DH. & E. Herbig. 2013. Flow Cytometry Applied to Plant Reproductive Biology. American Laboratory November/December 2013. Pp. 1-4.
- Karp, A. 1991. Cytological Techniques. Plant Cell Culture Manual. Kluwer Academic Publishers. Hal: 503 – 515.
- Kermani, MJ., V. Sarasan, AV., Roberts, K. Yokoya, J. Wentworth, & VK. Sieber. 2003. Oryzalin induced chromosome doubling in rosa and its effect on plant morphology and pollen viability. *Theoretical Applied Genetics*. 107:1195-1200.
- Lam HK., JL. Harbard, & A. Koutoulis. 2014. Tetraploid induction of *Acacia crassicarpa* using colchicine and oryzalin. *Journal of Tropical Forest Sciences*. 26(3):347-354.
- Mace, ES. & ID. Godwin. 2002. Development and characterization of polymorphic microsatellite markers in taro (*Colocasia esculenta*). *National Research Council Research Press Canada*. 45: 823-832.
- Miguel, TP., & KW. Leonhardt. 2011. *In vitro* polyploid induction of orchids using oryzalin. *Scientia Horticulturae*. 130:314–319.
- Murashige, T. & F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*. 15:473–497.
- Mustafa, NS., F. Liu, MR. Odongo, X. Wang, X. Cai, Z. Zhang, & K. Wang. 2017. Effects of colchicine treatments on chromosome doubling in three diploid cotton species. *Journal of Multidisciplinary Engineering Science and Technology* (JMEST). 4 (4) : 7140-7145.
- Niazian, M, SAS. Noori, P Galuszka, M Tohidfar, & SMM Mortazavian. 2017. Genetic stability of regenerated plants via indirect somatic embryogenesis and indirect shoot regeneration of *Carum copticum*, L. *Industrial Crops and Products* 97: 330-337.
- Ochatt, SJ. 2008. Flow cytometry in plant breeding. *Cytometry Part A*. 73A: 581-598.
- Onwueme, I. 1999. Taro Cultivation in Asia and the Pacific. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Regional Office for Asia and the Pacific. Bangkok. Thailand.
- Purseglove, JW. 1975. Tropical Crops: Monocotyledons. London (US): Longman Group Ltd.
- Rodrigues, FA., JDR. Soares, R. Rocha dos Santos, M. Pasqual & Sebastião de Oliveira e Silva. 2011. Colchicine and amiprofosmethyl (APM) in polyploidy induction in banana plant. *African Journal of Biotechnology* 10(62): 13476-13481.
- Senrong, H. & Y. Minghua. 2013. Method of inducing polyploid of jiangxi qianshan red-bud taro. Paten China CN 103262792 A.
- Sukamto, LA., F. Ahmad, & AH. Wawo. 2010. Pengaruh oryzalin terhadap tingkat ploidi tanaman garut (*Maranta arundinacea* L.). *Buletin Penelitian Tanaman Rempah dan Obat*. 21(2):93-102.
- Suzuki, K., Y. Takatsu, T. Gonai & M. Kasumi.

2005. Plant regeneration and chromosome doubling of wild *Gladiolus* species. Proceedings of the IX<sup>th</sup> International Symposium on Flower Bulbs. Eds.: H. Okubo, W.B. Miller and G.A. Chastagner Acta Horticulture. 673: 175-181.
- Syaifudin, A., E. Ratnasari, & Isnawati. 2013. Pengaruh pemberian berbagai konsentrasi kolkhisin terhadap pertumbuhan dan produksi tanaman cabai (*Capsicum annum*) varietas lada fl. *Lentera Biologi*. 2(2):167-171.
- Twardovska, MO., NM. Strashniuk, VM. Mel'nyk, VI. Adonin, & VA. Kunakh. 2008. Chromosomal Variability in a Tissue Culture of Rare Species of the Genus *Gentiana* L. *Cytology and Genetics*. 42(4) : 224-228.
- Vrana, J., P. Capal, M. Bednarova, & J. Dolezel. 2014. Flow Cytometry in Plant Research: A Success Story. P. Nick and Z. Opatny (eds.), Applied Plant Cell Biology, Plant Cell Monographs. 22: 395-430. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Wang, G-Y., X-M. Zhang, M. Qian, X-. Hu, & Y-P Yang. 2017. Chromosome number and genome size variation in *Colocasia* (Araceae) from China. *Journal of Plant Research*, June 2017, Pp 1-9.
- Wiendra, NMS., M. Phamawati, & NPA. Astiti. 2011. Pemberian kolkisin dengan lama perendaman berbeda pada induksi poliploidi tanaman pacar air (*Impatiens balsamina* L.). *Jurnal Biologi Indonesia*. 15(1): 9-14.
- Wulandari, DR., RK. Ningrum, A Wulansari & TM. Ermayanti. 2017. Pertumbuhan talas Bentul tetraploid dan diploid pada media perbanyakan, aklimatisasi dan konfirmasi tingkat ploidi. Prosiding Seminar Nasional Pertanian dan tanaman Herbal Berkelanjutan di Indonesia. Jakarta, November 2017. Hal. 69-76.
- Wulandari, DR., TM. Ermayanti, A. Purwito, S. Susanto, & A. Husni. 2015. *In vitro* induction of tetraploid pummelo 'Nambangan' (*Citrus maxima* (Burm.) Merr.) by colchicine treatment using germinated seed, shoot tip and cotyledonary node as eplants. *Annales Bogorienses*. 19(1):5-7.
- Wulansari, A., AF. Martin, & TM. Ermayanti. 2016. Induksi tanaman poliploid talas (*Colocasia esculenta* L.) dengan perlakuan orizalin secara *in vitro*. *Jurnal Biologi Indonesia* 12 (2):297-305.
- Yang, Z., T. Yi, H. Li, & X. Gong. 2003. A Cytological Study on three Species of *Colocasia* (Araceae) from Yunnan. *Caryologia*. 56(3): 323-327.
- Yanpaisan, W., NJC. King, & PM. Doran. 1999. Flow cytometry of plant cells with applications in large-scale bioprocessing. *Biotechnology Advances*. 17: 3-27.
- Yulianti, F., A. Purwito, A. Husni, & D. Dinarti. 2015. Induksi tetraploid tunas pucuk jeruk siam simadu (*Citrus nobilis* Lour) menggunakan kolkisin secara *in vitro*. *Jurnal Agronomi Indonesia*. 43(1):66-71.
- Zhang, W., H. Hao, L. Ma, & LX. Yu. 2010. Tetraploid muskmelon alters morphological characteristics and improves fruit quality. *Scientia Horticulturae*. 125(3): 396-4.