

Induksi Mutasi Kromosom dengan Kolkisin Pada Bawang Putih (*Allium sativum* L.) Kultivar 'Kesuna Bali'
(Induced Chromosome Mutation Using Colchicine in Garlic (*Allium sativum* Linn.) Cultivar 'Kesuna Bali')

Made Pharmawati^{1*)}, Ni Luh Ayu Jami Wistiani¹⁾

¹⁾Program Studi Magister Biologi, Program Pascasarjana, Universitas Udayana, Jalan PB Sudirman, Denpasar, Bali.

^{*)}Email korespondensi pharmawati@hotmail.com

Diterima 12 Januari 2015, diterima untuk dipublikasikan 25 Februari 2015

Abstrak

*Tanaman bawang putih (*Allium sativum* L.) adalah tanaman hortikultura yang memiliki banyak manfaat terutama umbinya yang umumnya digunakan sebagai bumbu dan obat. Salah satu kultivar bawang putih yang ditanam di Bali adalah 'Kesuna Bali' yang hanya memiliki satu siung. Salah satu cara untuk memperbaiki karakter tanaman adalah dengan cara induksi mutasi kromosom dengan kolkisin. Penelitian ini bertujuan menganalisis pengaruh perlakuan kolkisin terhadap indeks stomata dan jumlah kromosom dari tanaman 'Kesuna Bali'. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Kelompok dengan enam ulangan. Perlakuan kolkisin yang digunakan adalah 5%, 10% dan 20%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan kolkisin menurunkan indeks stomata dan meningkatkan jumlah kromosom. Kromosom triploid ($2n=3x=24$) dihasilkan pada perlakuan kolkisin 20%. Kata kunci : *Allium sativum* L., 'Kesuna Bali', kolkisin, mutasi, sitologi*

Abstract

*Garlic (*Allium sativum* L.) is a horticultural crop that has many benefits, especially as spice and traditional medicine. One of garlic cultivars planted in Bali is 'Kesuna Bali' which only has one clove. To improve characters of 'Kesuna Bali', modification of 'Kesuna Bali' properties can be done by means of induced mutation using colchicine. This research aims to analyse the effect of colchicine on stomata index and the number of chromosomes of 'Kesuna Bali'. This research used randomized block design with six replicates. In this experiment the concentration of colchicine used were 5%, 10% and 20%. The results of this study showed that colchicine treatment of 20% resulted in the lowest stomata index and there was an increase in chromosome number. Colchicine at concentration of 20% resulted in triploid chromosome set ($2n = 3x = 24$). Keywords: *Allium sativum* L., 'Kesuna Bali', colchicine, mutation, cytology*

PENDAHULUAN

Tanaman bawang putih (*Allium sativum* L.) adalah tanaman hortikultura yang memiliki banyak manfaat terutama umbinya yang digunakan sebagai bumbu dan dapat

mengobati beberapa penyakit seperti infeksi pernafasan dan untuk meningkatkan vitalitas tubuh (Pratimi 1995). Wijaya *et al.* (2014) menyatakan bahwa produksi bawang putih di Indonesia belum mampu

memenuhi permintaan kebutuhan pangan masyarakat sehingga menyebabkan selisih dan kekosongan yang cukup besar antara konsumsi dan produksi dalam negeri.

Pada tahun 2012 produksi bawang putih Indonesia adalah 296.500 ton, sementara permintaan bawang putih nasional sebesar 400.000 ton. Untuk memenuhi kebutuhan bawang putih nasional, pemerintah Indonesia melakukan impor bawang putih tahun 2013 sebesar 320 ribu ton terutama impor bawang putih asal Cina. Impor bawang putih ini disebabkan oleh beberapa kendala seperti luas lahan yang sempit, biaya produksi tinggi, kualitas bibit bawang putih yang digunakan rendah serta ketergantungan masyarakat Indonesia terhadap konsumsi bawang putih (BPS 2012).

Salah satu kultivar bawang putih yang ditanam di Bali adalah 'Kesuna Bali' yang hanya memiliki satu siung sedangkan bawang putih biasa memiliki banyak siung. Kualitas bibit 'Kesuna Bali' yang rendah dan mudah terserang penyakit menyebabkan para petani mengganti penanaman 'Kesuna Bali' dengan bawang putih biasa. Keunggulan yang dimiliki oleh 'Kesuna Bali' yaitu rasa yang dihasilkan lebih pedas dibandingkan dengan bawang putih biasa. Selain itu kandungan antimikroba pada senyawa kimia 'Kesuna Bali' lebih besar dibandingkan bawang putih biasa sehingga sering digunakan sebagai bahan obat tradisional (Pratimi, 1995). Untuk meningkatkan produksi 'Kesuna Bali' diperlukan perbaikan sifat genetik dan agronomik. Perbaikan sifat genetik 'Kesuna Bali' tidak dapat dilakukan dengan persilangan karena sebagian besar genus *Allium* tidak

memiliki bunga. Perbaikan sifat dapat diupayakan dengan cara lain di antaranya dengan induksi mutasi (Chahal dan Gosal 2002, Soedjono 2003).

Salah satu induksi mutasi yang dikenal adalah induksi poliploid (Suryo 2007). Induksi poliploid dapat dilakukan dengan pemberian mutagen kimia seperti kolkisin pada jaringan meristem tanaman (Sofia 2007). Senyawa ini dapat menghalangi terbentuknya benang-benang spindel pada pembelahan sel sehingga menyebabkan terbentuknya individu poliploid. Penggunaan kolkisin ini dapat meningkatkan jumlah kromosom. Penelitian pada bawang merah menunjukkan bahwa terdapat variasi bentuk, ukuran dan jumlah kromosom pada ujung akar bawang merah akibat pemberian kolkisin (Suminah *et al.* 2002).

Menurut Suminah *et al.* (2002) perendaman kolkisin konsentrasi 1% selama 6 jam dapat menambah jumlah kromosom pada bawang merah (*Allium ascolinum* L.) menjadi tetraploid ($2n=4x=32$), pentaploid ($2n=5x=40$), heksaploid ($2n=6x=48$), septaploid ($2n=7x=56$), oktaploid ($2n=8x=64$) dan nonaploid ($2n=9x=72$). Variasi genetik pada tingkat ploidi juga dapat dilihat dari indeks stomata tanaman. Penelitian Lu dan Bridgen (1997) melaporkan bahwa tanaman *Alstroemaria* sp diploid mempunyai 39 stomata per mm^2 dan yang tetraploid mempunyai kerapatan stomata lebih rendah, yaitu 22 stomata per mm^2 . Tujuan penelitian ini adalah menganalisis pengaruh perlakuan kolkisin terhadap jumlah kromosom dan indeks stomata dari tanaman *kesuna bali* (*Allium sativum* L.).

METODE

Penelitian ini menggunakan umbi 'Kesuna Bali' yang diambil dari daerah pertanian bawang putih di Desa Pakisan, Kecamatan Sawan, Kabupaten Buleleng, Bali. Perendaman umbi dilakukan dengan kolkisin (*non analytical grade* dari *Biotech Agro*) yang pada konsentrasi yang bervariasi yaitu 0% (kontrol), 5%, 10% dan 20% selama 12 jam kolkisin, 12 jam air kemudian direndam kembali selama 12 jam pada larutan kolkisin sesuai intruksi perusahaan (*Biotech Agro*). Selanjutnya umbi ditanam pada polibag dengan diameter 30 cm dan tinggi 15 cm lalu dibuat lubang tanam dengan ke dalaman kurang lebih 5-7 cm menggunakan kayu. Kemudian umbi 'Kesuna Bali' dimasukkan secara tegak ke dalam lubang tanam dan ditutup dengan mulsa jerami setebal 5 cm pada masing-masing polibag. Pemeliharaan dilakukan dengan menyemprotkan insektisida atau fungisida sebanyak 2 kali dalam satu minggu secara periodik hingga panen. Pemupukan dilakukan pada umur 15 hari setelah masa tanam (MST) dengan pupuk buatan (Hardiyanto *et al.* 2008).

Daun 'Kesuna Bali' yang berumur ± 10 MST di potong dan digunakan sebagai bahan untuk perhitungan indeks stomata. Untuk pengamatan kromosom digunakan teknik polibag berlapis dengan tujuan menghindari pencabutan tanaman pada saat pengambilan akar. Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah rancangan acak kelompok (RAK) dengan enam kali ulangan acak digunakan dalam pengamatan.

Indeks stomata diamati dengan memfiksasi daun kesuna bali dalam alkohol 75%, kemudian direndam dalam larutan HNO_3 25% selama 15 – 30 menit. Selanjutnya daun dicuci dengan aquadest kemudian disayat, sayatan epidermis direndam dalam larutan Bayclin selama 1 – 5 menit lalu diwarnai dengan safranin di atas gelas objek, dicuci aquadest, kemudian ditetesi gliserin 10% dan ditutup dengan gelas penutup. Selanjutnya diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 400 kali (Palit 2008). Indeks stomata dihitung berdasarkan rumus menurut Lestari (2006) yaitu:

$$\text{Indeks Stomata (IS)} = \frac{\text{jumlah stomata}}{(\text{jumlah stomata} + \text{jumlah epidermis})}$$

Pengamatan jumlah kromosom dilakukan dengan metode *squash*: Ujung akar 'Kesuna Bali' dipotong ± 2 mm kemudian difiksasi dengan fiksatif Carnoy (6 etanol : 3 klorofom : 1 Asam Asetat Glisial) selama 12 jam. Setelah fiksasi ujung akar dilunakkan dengan HCl 2N selama 1-3 menit kemudian diletakkan di atas gelas objek dan ditetesi aceto orcein 2%.

Selanjutnya dilewatkan di atas api bunsen selama 3 menit agar pewarna meresap dengan sempurna kemudian ditutup dengan gelas penutup dan di-*squash* dengan cara diketuk dengan bagian datar pensil lalu diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 400x (Soesanti dan Setyawan 2000).

Data yang ditampilkan dalam bentuk rata-rata persentase indeks

stomata dan jumlah kromosom. Data dianalisis menggunakan ANOVA (*Analisis of Variance*). Jika berbeda nyata pada taraf 5% atau 0.05 diuji dengan uji lanjut Tukey HSD.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengamatan menunjukkan rata-rata indeks stomata

Hasil uji lanjut Tukey menunjukkan jumlah kromosom tanaman 'Kesuna Bali' pada kontrol berbeda nyata ($P \leq 0.05$) terhadap variasi konsentrasi kolkisin yang diberikan (Tabel 2). Pada konsentrasi kolkisin 20% menghasilkan kromosom triploid ($2n=3x= 27$). Gambar 1 menunjukkan gambar kromosom bawang putih pada kontrol dan pada perlakuan kolkisin.

Selain mengakibatkan penambahan jumlah kromosom

yang berbeda nyata ($P \leq 0.05$) antara kontrol dengan kolkisin 5% dan 20% dan tidak berbeda nyata ($P \geq 0.05$) dengan kolkisin 10%. Rata-rata indeks stomata tanaman kontrol lebih banyak dibandingkan perlakuan kolkisin lainnya. Rata-rata indeks stomata terendah dijumpai pada pemberian konsentrasi kolkisin 20% (Tabel 1). senyawa kolkisin juga berdampak terhadap kelainan yang ditimbulkan pada saat pembelahan mitosis yang sering dikenal dengan istilah C-mitosis (*Colcichine mitosis*) diantaranya terdapat C-profase, C-metafase, C-anafase dan C-telofase (Ernawati 2008). Pada penelitian ini induksi senyawa kolkisin 20% menyebabkan kesalahan pada proses anafase (C-anafase) (Gambar 2).

Tabel 1. Indeks Stomata Kesuna Bali

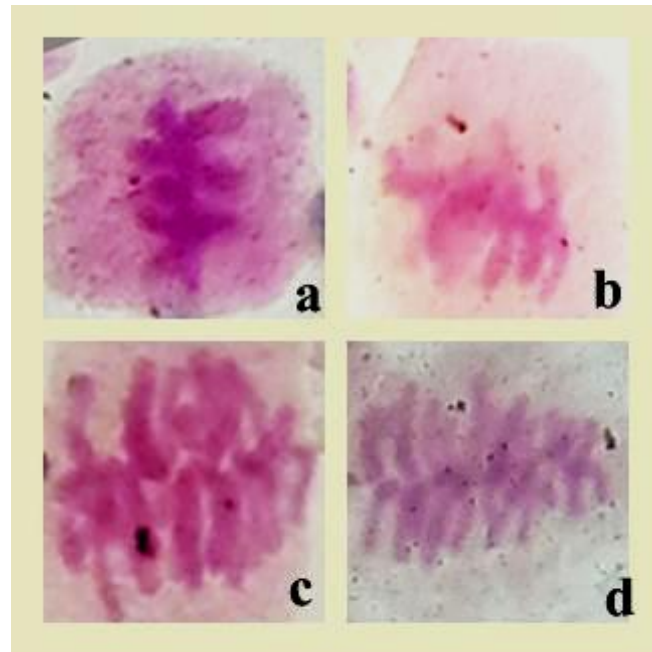
Indeks Stomata	
Kontrol	0.21 ± 0.03 ^a
Kolkisin 5%	0.17 ± 0.04 ^b
Kolkisin 10%	0.20 ± 0.02 ^a
Kolkisin 20%	0.18 ± 0.04 ^b

Keterangan : Angka adalah rata-rata indeks stomata 'Kesuna Bali' enam ulangan ± standar error. Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama berarti tidak berbeda nyata ($P \geq 0.05$).

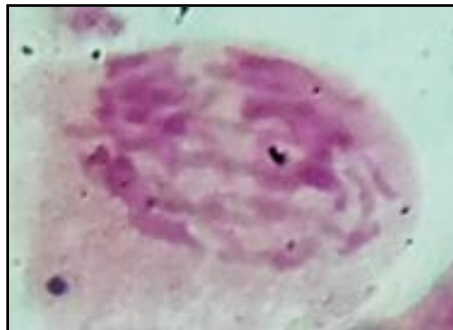
Tabel 2. Jumlah Kromosom Kesuna Bali

Jumlah Kromosom	
Kontrol	14.72 ± 0.47 ^a
Kolkisin 5%	20.22 ± 1.55 ^b
Kolkisin 10%	24.11 ± 1.14 ^{bc}
Kolkisin 20%	27.47 ± 0.28 ^c

Keterangan: Angka adalah rata-rata indeks stomata 'Kesuna Bali' enam ulangan ± standar error. Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama berarti tidak berbeda nyata ($P \geq 0.05$).



Gambar 1. Foto Kromosom 'Kesuna Bali' (a) Kontrol; (b) Kolkisin 5% ; (c) Kolkisin 10%; (d) Kolkisin 20%.



Gambar 2. Foto Kromosom C-anafase Kesuna Bali akibat perlakuan kolkisin.

Berdasarkan pengamatan stomata pada perlakuan konsentrasi kolkisin 10% didapatkan hasil rata-rata indeks stomata yang tidak berbeda nyata dengan kontrol. Sedangkan pada perlakuan kolkisin

5% dan 20% terjadi penurunan indeks stomata (Tabel 1). Tinggi dan rendahnya rata-rata indeks stomata yang didapat berkaitan dengan ukuran stomata. Semakin besar ukuran stomata maka menunjukkan semakin

rendah indeks stomata yang diperoleh, jika ukuran stomata kecil maka rata-rata indeks stomata yang diperoleh semakin tinggi. Pendapat ini didukung oleh penelitian Setyowati *et al.* (2013) menyatakan bahwa kolkisin konsentrasi 0.5 g.L⁻¹ dan 1 g.L⁻¹ mampu meningkatkan ukuran diameter stomata pada semua jenis kultivar bawang wakegi (*Allium x wakegi* Araki). Kolkisin mencegah terbentuknya benang-benang spindel pada kromosom sehingga kromosom tidak tertarik ke arah kutub dan terjadi penggandaan. Kromosom yang mengganda ini menyebabkan peningkatan diferensiasi pada proplastid sehingga menghasilkan tanaman dengan kandungan klorofil yang tinggi. Kadar klorofil yang tinggi pada tanaman menyebabkan bertambahnya jumlah kloroplas pada sel penutup stomata sehingga berdampak pada peningkatan ukuran diameter stomata (Loveless 1991).

Perlakuan mutagen kimia kolkisin konsentrasi 20% menyebabkan peningkatan jumlah kromosom 'Kesuna Bali' menjadi $2n=3x=27$ (Gambar 1, Tabel 2). Senyawa kolkisin dapat menghambat terbentuknya benang *spindle* pada saat mitosis, sehingga kromosom tetap berserakan didalam sel. Pemberian konsentrasi kolkisin yang tinggi dan peredaman dalam jangka waktu yang lama menyebabkan struktur kromosom dalam sel mengalami penggumpalan dan pengkerutan (Suryo 2007). Secara umum pemberian senyawa kolkisin lebih efektif dibandingkan mutagen kimia lain seperti ekstrak etanolik daun tapak dara dalam membuat tanaman poliploid. Hal tersebut mungkin disebabkan karena kolkisin yang digunakan adalah kolkisin murni (*pure analytic*) yang sudah di

purifikasi. Sedangkan kandungan vinkristin dan vinblastin pada tapak dara masih tercampur dengan senyawa lain dalam ekstrak etanolik tersebut (Indraningsih 2010). Pendapat ini didukung oleh penelitian Indraningsih (2008) melaporkan bahwa ekstrak etanolik daun tapak dara dapat menginduksi poliploidisasi bawang merah diploid ($2n=16$) menjadi tetraploid ($2n=4x=32$). Induksi poliploidisasi bawang merah dengan ekstrak etanolik daun tapak dara efektif pada konsentrasi 0,1% dengan perendaman 6, 12, 18, dan 24 jam.

Pada penelitian ini diperoleh kelainan yang diakibatkan oleh kolkisin pada saat pembelahan mitosis (C-mitosis) yaitu kromosom C-anafase (Gambar 2.). Kelainan mitosis pada saat anafase disebabkan oleh senyawa kolkisin mencegah terbentuknya benang-benang spindel yang menyebabkan kromosom gagal berpisah sehingga terjadi penggandaan jumlah kromosom (Karangiannidou *et al.*, 1995). Penyebab lain yang ditimbulkan pada C-anafase adalah *anaphase lag*. *Anaphase lag* merupakan kegagalan kromosom atau kromatid untuk bergabung menjadi satu dalam nukleus sel anakan yang mengikuti pembelahan sel, sebagai hasil dari keterlambatan perpindahan (*lagging*) selama anafase (Strachan dan Andrew 1999).

Senyawa kolkisin dapat menginduksi mutasi secara acak, sehingga memberikan efek yang tidak seragam pada masing-masing sel di tiap individu (Sofia 2007). Pada beberapa perlakuan kolkisin masih ditemukan individu dengan sel yang tetap diploid ($2n$). Pada penelitian ini sel-sel yang mengalami penambahan jumlah kromosom atau poliploid hanya ditemukan tipe triploid ($2n=3x$).

Apabila jumlah kromosom yang dihitung berada diatas atau dibawah kelipatan jumlah kromosom dasar maka dapat diduga telah terjadi delesi atau duplikasi kromosom.

Keanekaragaman genetik yang disebabkan oleh mutasi merupakan sumber plasma nutfah untuk program pemuliaan tanaman. Keanekaragaman ini memungkinkan untuk mengetahui banyak karakter gen, sehingga dapat dijadikan sebagai salah satu penemuan kultivar unggul (Anggarwulan *et al.* 1999, Suryo 1995).

KESIMPULAN

Perlakuan konsentrasi kolkisin 20% menyebabkan penurunan indeks stomata. Penggandaan jumlah kromosom pada 'Kesuna Bali' menghasilkan kromosom triploid ($2n=3x$) pada perlakuan konsentrasi kolkisin 20% serta terjadi kelainan kromosom anafase (C-anafase).

DAFTAR PUSTAKA

- Anggarwulan E, Etikawati N, Setyawan AD (1999) Karyotipe kromosom pada tanaman bawang budidaya (Genus *Allium*; Familia *Amaryllidaceae*). *BioSMART*1:13-19
- Badan Pusat Statistika (2012) Laporan perekonomian Indonesia, Jakarta
- Chahal GS, Gosal SS (2002) Principles and procedures of plant breeding biotechnological and conventional approaches. *Alpha Sci Int* 413-428
- Ernawiati E (2008) Efek mutagenik umbi kembang sungsang (*Gloriosa superba Lindl.*) terhadap pembelahan sel akar umbi bawang bombay. *Jurnal Sains MIPA* 14 (2): 129-132
- Hardiyanto, Devy NF, Supriyanto A (2007) Eksplorasi, karakterisasi, dan evaluasi beberapa klon bawang putih lokal. *J Hortikultura* 17(4): 307-313
- Indraningsih E (2008) Induksi poliploidisasi bawang merah (*Allium cepa* L.) dengan ekstrak etanolik daun tapak dara (*Catharanthus roseus* [L] G. Don.). [Seminar.]. Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta
- Indraningsih E (2010) Analisis fenotipe dan ploidi tanaman melon (*Cucumis melo* L.) hasil perlakuan ekstrak etanolik daun tapak dara (*Catharanthus roseus* [L] G. Don.). [Skripsi]. Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta
- Karangiannidou TH, Elephteridou EP, Tsekos I, Galatis B, Apostolakos P (1995) Colchicine induced paracrystals in root cells of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Ann Bot* 76: 23-30
- Loveless AR (1991) Prinsip-prinsip biologi tumbuhan untuk daerah tropik. PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta
- Lu C, Bridgen MP (1997) Chromosome doubling and fertility study of *Alstroemeria aurea* x *A. caryophyllea*. *Euphytica* 94: 75-81
- Palit JJ (2008) Teknik perhitungan jumlah stomata beberapa kultivar kelapa. teknik litkayasa pelaksanaan lanjutan pada balai penelitian kelapa dan palma lain. *Buletin Teknik Pertanian* 13: 9-11
- Pratimi A (1995) Perbedaan potensi bakteriostatik antara bawang

- putih umbi tunggal dengan bawang putih umbi banyak terhadap bakteri gram positif dan gram negatif. [Skripsi]. Fakultas MIPA Universitas Diponegoro, Semarang
- Setyowati M, Endang S, Aziz P (2013) Induksi Poliploidi dengan Kolkisin pada kultur meristem batang bawang wakegi (*Allium x wakegi* Araki). Jurnal Ilmu Pertanian 16: 58-76
- Soedjono S (2003) Aplikasi mutasi induksi dan variasi somaklonal dalam pemuliaan tanaman. Jl Litbang Pertanian 22: 70-78
- Soesanti N, Setyawan AD (2000) Petunjuk praktikum mikroteknik hewan dan tumbuhan. Surakarta: Fakultas MIPA Universitas Negeri Solo
- Sofia D (2007) Respon pertumbuhan dan produksi mentimun (*Cucumis sativus* L) dengan mutagen kolkisin. [Karya Tulis]. Fakultas Pertanian Universitas Sumatera Utara, Medan
- Strachan T, Andrew PR (1999) Human molecular genetics. 2nd Edition. BIOS Scientific Publishers Ltd, United Kingdom
- Suminah, Sutarno A, Setyawan D (2002) Induksi poliploidi bawang merah (*Allium ascalonicum* L.) dengan pemberian kolkisin. Biodiversitas 3 (1) : 174 – 180
- Suryo (1995) Sitogenetika. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta
- Suryo (2007) Sitogenetika. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta
- Wijaya MA, Anindita R, Setiawan, B (2014) Analisis volatilitas harga volatilitas spillover dan trend harga pada komoditas bawang putih (*Allium sativum* L.). AGRISE 14: 128-143