

**Kajian Pemberian Kolkisin dengan Metode Tetes terhadap Profil
Poliploidi Tanaman Zaitun (*Olea europaea*)**
***Study of Colchicine Administration using Drip Method in Polyploidy Profile
Olive Plants (*Olea europaea*)***

Dewi Rahayu Saraswati^{1*)}, Tintrim Rahayu^{2**)}, Ari Hayati³
^{1,2,3}, Jurusan Biologi FMIPA UNISMA, Indonesia

ABSTRAK

Pohon zaitun (*Olea europaea*) termasuk ke dalam famili Oleaceae. Zaitun (*Olea europaea*) memiliki kromosom $2n = 46$. Evolusi yang dipercepat pada tanaman tingkat tinggi dapat ditandai oleh bertambahnya jumlah kromosom sebagai hasil poliploidi. Kromosom dapat diduplikasi melalui mutasi sehingga memunculkan peristiwa poliploidi. Poliploidi dapat dilakukan dengan menggunakan kolkisin sebagai agen antimitosis. Kolkisin telah banyak digunakan untuk memperoleh poliploidi pada tanaman zaitun untuk meningkatkan kandungan metabolit sekundernya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui profil kromosom tanaman zaitun setelah pemberian konsentrasi kolkisin 0%, 0,25%, 0,50%, 0,75% dan 1% dengan menggunakan metode tetes. Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode deskriptif kualitatif. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa pemberian kolkisin dengan metode tetes dapat mempengaruhi profil kromosom tanaman zaitun. Hasil pengamatan pada konsentrasi 1% menunjukkan bahwa kromosom pada konsentrasi tersebut cenderung lebih banyak. Hal ini dapat digunakan sebagai indikasi adanya poliploidi pada tanaman zaitun.

Kata Kunci: Poliploidi, zaitun, kolkisin

ABSTRACT

The olive (*Olea europaea*) included in the family Oleaceae. Olive has $2n = 46$ chromosomes. Accelerated evolution in higher plants can be characterized by an increase in the number of chromosomes as a result of polyploidy. Polyploidy can be done by duplicating the number of chromosomes and this can be caused by several antimitotic agent and the most common of which is colchicine. Colchicine many successfully used to obtain polyploidy in Olive plants for increasing secondary metabolite ingredients. This study aims to determine chromosome profiles olive plants after administration concentration of colchicine 0 %, 0.25 %, 0.50 %, 0.75 % and 1 % using drip method. The method used in this research is descriptive qualitative method. The results showed that administration of colchicine with a drip method can affect the olive plant chromosome profile. Observations at a concentration of 1 % indicate that chromosomes in the concentrations seen more. It can be used as an indication of polyploidy in Olive plants (*Olea europaea*).

Keywords: Polyploidy, Olives, Colchicine

^{*)}Dewi Rahayu Saraswati, Jurusan Biologi FMIPA UNISMA, Jl. MT. Haryono 193, Malang 65144, 087759866882 and e-mail:dhe.rahayu306@gmail.com

^{**)}Ir. Hj. Tintrim Rahayu, M.Si, Jurusan Biologi FMIPA UNISMA, Jl. MT. Haryono 193, Malang 65144, 08123308396 and e-mail:tintrimr@gmail.com

Diterima Tanggal 11 Agustus 2016 – Disetujui Tanggal 22 Agustus 2016

Pendahuluan

Pohon zaitun (*Olea europaea*) termasuk ke dalam famili *Oleaceae*. Zaitun (*Olea europaea*) memiliki kromosom $2n = 46$. Evolusi yang dipercepat pada tanaman tingkat tinggi dapat ditandai oleh bertambahnya jumlah kromosom sebagai hasil poliploidi. Kromosom dapat diduplikasi melalui mutasi sehingga memunculkan peristiwa poliploidi. Poliploidi dapat dilakukan dengan menggunakan kolkisin sebagai agen antimitosis [1]. Umumnya jumlah kromosom pada tanaman adalah diploid, namun terdapat pula tanaman dengan jumlah kromosom haploid, triploid atau pun tetraploid. Perubahan satu set kromosom lengkap ini disebut poliploidi. Poliploidi memiliki peranan penting di dalam menghasilkan keragaman genetik dan fenotip serta evolusi tanaman [2][3][4].

Kolkisin merupakan salah satu agen pembentuk poliploidi yang paling umum digunakan [5]. Namun cara pelaksanaan memberikan zat tersebut belum banyak dipelajari. Metode merupakan cara atau teknis dalam hal ini adalah memberikan kolkisin dengan tetesan pada bagian tunas. Kandungan zat pada tetes semakin banyak secara logis akan memberikan pengaruh yang semakin tinggi pula dan demikian sebaliknya. Banyaknya tetesan dengan macam konsentrasi kolkisin dari tidak ada atau 0% hingga 1% dapat diduga mempunyai pengaruh dan penelitian ini mencari jawaban sebagaimana disebutkan dalam tujuan penelitian.

Penerapan pada wilayah yang berbeda-beda dimungkinkan adanya hasil yang tidak sama walaupun menggunakan cara atau teknik yang sama. Pelaksanaan di daerah tropis seperti Indonesia masih perlu untuk dipelajari. Berdasarkan alasan tersebut dilakukan penelitian yang bertujuan untuk mengetahui profil kromosom tanaman zaitun setelah pemberian kolkisin menggunakan metode tetes pada konsentrasi 0%, 0,25%, 0,50%, 0,75% dan 1%.

Material dan Metode

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah akar zaitun yang sudah diinduksi menggunakan kolkisin, asam asetat 45%, HCL, *aceto-orcein*, minyak emersi dan H₂O. Alat yang digunakan dalam penelitian adalah mikroskop *fluorescence* merk Olympus seri BX53, silet, penyangga kaki tiga, pembakar bunsen, kapas/tissue, dan alat-alat lain yang menunjang penelitian.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode deskriptif kualitatif dengan pemberian konsentrasi kolkisin 0%, 0,25%, 0,50%, 0,75% dan 1%. Metode pemberian kolkisin yang digunakan adalah metode tetes, yaitu 1 tetes per tunas dan 2 tetes per tunas yang dilakukan dua kali sehari.

Penelitian ini dilakukan dengan cara kerja meliputi: pertama, pemberian kolkisin dengan menggunakan metode tetes. Kedua, pengambilan bahan dan pemotongan akar zaitun. Ketiga, tahap pembuatan sediaan akar zaitun, dan keempat, pengamatan akar zaitun menggunakan mikroskop *fluorescence*. Kolkisin diberikan dengan menggunakan teknik *drop method*, yaitu ditetaskan menggunakan pipet sebanyak satu dan dua tetes pada bagian tunas. Pemberian kolkisin dilakukan dua kali sehari selama dua hari, kemudian diberi jeda selama tujuh hari. Perlakuan yang sama dilakukan sebanyak empat kali.

Tanaman zaitun yang digunakan diambil dari kebun Axilar FMIPA Universitas Islam Malang. Tanaman ini merupakan hasil *microcutting* yang sudah diinduksi kolkisin, kemudian dipilih dan dipotong ujung akarnya yang masih muda sepanjang 1 cm dari tanaman yang telah diambil.

Akar yang telah dipotong dimasukkan ke dalam larutan kolkisin dan disimpan pada ruangan gelap dengan suhu 20°C selama 1 jam. Fiksasi pada akar zaitun dilakukan dengan menggunakan larutan 45% asetat selama 10 menit dan kemudian di maserasi dalam larutan HCL dan Asam Asetat dengan perbandingan 3:1 pada suhu 60°C kurang lebih 2-3 menit [6].

Bagian ujung akar zaitun diambil sepanjang 1 cm dengan menggunakan jarum besi. Bahan diletakkan di atas gelas preparat dan dihancurkan dengan ujung jarum secara hati-hati (*squashing*), kemudian ditetesi larutan *staining aceto-orcein*. Setelah itu ditutup dengan gelas penutup (*cover glass*) dan ditekan.

Kromosom pada akar tanaman zaitun diamati dibawah mikroskop dan didokumentasikan. Perbesaran mikroskop dicatat. Hasil dokumentasi tersebut diolah dengan menggunakan program komputer Adobe Photoshop untuk memperbesar dan memperjelas hasil pemotretan sediaan. Hasil pemotretan dicetak lalu diamati atau jika dapat dihitung jumlah kromosomnya.

Hasil dan Diskusi

Spesies zaitun tersebar di daratan Asia dan sepanjang Laut Mediterania. Zaitun termasuk pada famili Oleaceae yang terdiri dari 29 genus dan genus *Olea* merupakan salah satu genus dengan 35 spesies. Semua spesies dari genus *Olea* memiliki jumlah kromosom dasar yaitu ($2n = 46$). Hasil pengamatan akar tanaman zaitun pada konsentrasi kolkisin yang digunakan menunjukkan adanya profil kromosom yang cenderung berbeda. Profil kromosom pada tanaman yang tidak diberi kolkisin (konsentrasi 0%) terlihat menyebar begitu pula terlihat lengan-lengan kromosomnya. Profil kromosom pada konsentrasi kolkisin 0,25% memiliki posisi kromosom yang bergerombol dan terlihat lengan-lengannya. Hal serupa juga ditemukan pada konsentrasi 0,50% dan 1%. Pemberian konsentrasi Kolkisin 0,75% memberikan profil kromosom yang terlihat menyebar di dalam inti sel, begitu pula dengan lengan-lengan kromosomnya (Tabel 1).

Terdapatnya kromosom yang masih bergerombol dikarenakan proses hidrolisis yang kurang baik. Proses hidrolisis dilakukan untuk mendapatkan sel-sel yang menyebar karena lamela tengah yang luruh pada jaringan meristem yang belum kuat. Zat yang digunakan untuk membantu proses ini adalah asam klorida dan enzim hidrolase. Proses hidrolisis dengan waktu yang lama dapat mengurangi penyerapan pewarna terhadap kromosom sehingga kromosom terurai karena denaturasi protein dan asam nukleat [7][8].

Tabel 1. Hasil Pengamatan Profil Kromosom Tanaman Zaitun pada Pemberian Kolkisin 1 Tetes

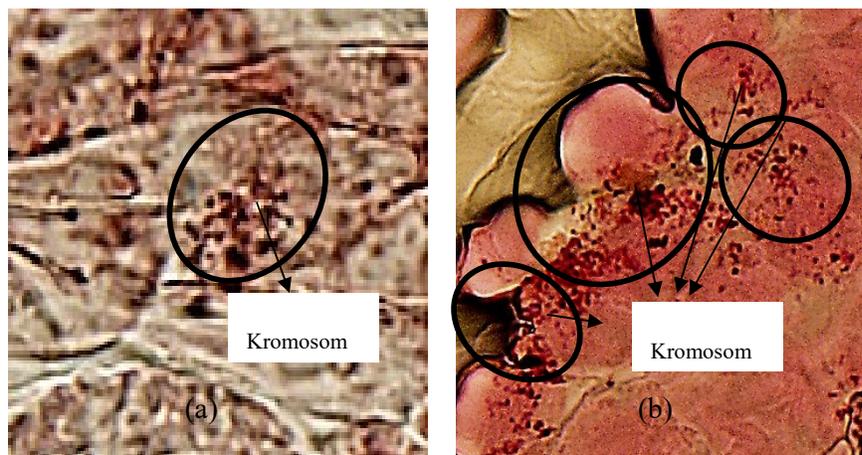
No.	Konsentrasi Kolkisin (%)	Profil Kromosom*)
1	0	- Kromosom sudah terlihat dan menyebar - Lengan-lengan kromosom terlihat meskipun masih samar - Penyerapan warnaberbeda antara kromosom dan organel sel yang lain.
2	0,25	- Kromosom sudah terlihat akan tetapi masih bergerombol - Lengan-lengan kromosom sudah terlihat meskipun masih samar. - Penyerapan warna berbeda antara kromosom dan organel sel yang lain.
3	0,50	- Kromosom sudah terlihat akan tetapi masih bergerombol - Lengan-lengan kromosom sudah terlihat meskipun masih samar. - Penyerapan warna berbeda antara kromosom dan organel sel yang lain.
4	0,75	- Kromosom sudah terlihat dan menyebar. - Lengan-lengan kromosom tampak samar - Perbedaan penyerapan warna sudah terlihat jelas antara kromosom dan organel sel yang lain.
5	1	- Kromosom sudah terlihat dan menyebar. - Lengan-lengan kromosom tampak samar - Perbedaan penyerapan warna sudah terlihat jelas antara kromosom dan organel sel yang lain.

Keterangan: *) diamati dengan perbesaran 1000x menggunakan mikroskop *fluorescence* merk Olympus seri BX53.

Tabel 2. Hasil Pengamatan Kromosom Tanaman Zaitun pada Pemberian Kolkisin 2 Tetes

No.	Konsentrasi Kolkisin (%)	Profil Kromosom*)
1	0	<ul style="list-style-type: none"> - Kromosom terlihat dan bergerombol. - Lengan-lengan kromosom masih terlihat samar. - Terdapat perbedaan penyerapan warna antara kromosom dan organel sel yang lain.
2	0,25	<ul style="list-style-type: none"> - Kromosom sudah terlihat dan menyebar - Lengan-lengan kromosom sudah terlihat. - Penyerapan warna berbeda antara kromosom dan organel sel yang lain.
3	0,50	<ul style="list-style-type: none"> - Kromosom sudah terlihat akan tetapi masih bergerombol - Lengan-lengan kromosom sudah terlihat. - Penyerapan warna berbeda antara kromosom dan organel sel yang lain.
4	0,75	<ul style="list-style-type: none"> - Kromosom sudah terlihat dan bergerombol. - Lengan-lengan kromosom tampak samar - Perbedaan penyerapan warna sudah terlihat jelas antara kromosom dan organel sel yang lain.
5	1	<ul style="list-style-type: none"> - Kromosom sudah terlihat dan menyebar. - Penyebaran kromosom lebih banyak terlihat dibandingkan perlakuan yang lain. - Lengan-lengan kromosom terlihat - Perbedaan penyerapan warna sudah terlihat jelas antara kromosom dan organel sel yang lain.

Keterangan: *) diamati dengan perbesaran 1000x menggunakan mikroskop *fluorescence* merk Olympus seri BX53.



Gambar 1. Perbandingan kenampakan kromosom pada akar tanaman tanpa induksi kolkisin (a) dan setelah induksi kolkisin (b)

Tabel 2 menunjukkan profil kromosom setelah pemberian kolkisin dari konsentrasi 0% sampai dengan 1% pada pemberian kolkisin 2 tetes. Sebagian besar kromosom terlihat menyebar dan juga lengan-lengan kromosomnya. Hasil pengamatan menunjukkan posisi kromosom sudah berada diluar sel serta terdapatnya kenampakan kromosom yang terlihat lebih sedikit dibandingkan kontrol kemungkinan disebabkan oleh sel-sel tanaman zaitun yang masih dalam tahap adaptasi pada senyawa kolkisin yang digunakan. Sanford [9] menyebutkan bahwa kolkisin dengan konsentrasi yang tinggi atau durasi perlakuan yang terlalu lama dapat menyebabkan kematian pada jaringan meristem. Zeng *et al* [10] juga menyatakan bahwa kolkisin dapat menurunkan viabilitas protoplas, menghambat pembelahan protoplas serta mengindikasikan adanya toksisitas pada kalus jeruk Nagami dan jeruk manis.

Hasil pengamatan profil kromosom pada kedua Tabel di atas, menunjukkan bahwa terdapat perbedaan penyerapan warna antara kromosom dengan organel sel yang lain sehingga memudahkan proses pengamatan. Kromosom cenderung berwarna lebih merah dibandingkan dengan organel sel yang lain, hal ini menunjukkan bahwa larutan *staining aceto-orcein* diserap dengan baik oleh sel akar tanaman zaitun. Suryo [11] menyatakan bahwa pewarnaan dengan teknik khusus harus dilakukan sebelum melakukan pengamatan kromosom. Proses ini sangat membantu pada saat pengamatan karena kromosom dapat menyerap zat pewarna dengan baik.

Poliploidisasi pada sel yang diberi kolkisin belum terlihat jelas untuk dapat dihitung secara rinci jumlahnya, akan tetapi jika dilihat pada hasil dokumentasi pemberian konsentrasi 1% pada 2 tetes menunjukkan kenampakan kromosom yang lebih banyak dibandingkan dengan tanpa pemberian Kolkisin (Gambar 1). Hal ini mengindikasikan kecenderungan adanya poliploidisasi pada tanaman zaitun. Suminah [5] menyebutkan agen pembentuk poliploidi yang sering digunakan adalah kolkisin. Tanaman poliploid umumnya memiliki ukuran morfologi lebih besar dibandingkan tanaman diploid.

Kromosom membawa DNA yang berisi sebagian besar informasi untuk aktivitas regulasi sel [12]. Senyawa kolkisin digunakan untuk menginduksi poliploidi [13]. Kenampakan inti sel yang lebih besar serta morfologi yang bertambah besar merupakan salah satu karakter tanaman poliploid [14].

Poliploidi memiliki peran penting dalam keragaman genetik dan fenotip serta dalam evolusi tanaman dan pemuliaan [2][3][4]. Mekanisme kerja kolkisin pada dasarnya adalah dengan menghambat terbentuknya mikrotubula. Kolkisin akan berikatan dengan dimer tubulin α dan β , sehingga tidak terbentuk protofilamen. Protofilamen yang tidak terbentuk, maka tidak akan terbentuk mikrotubula singlet dan mikrotubula dublet, sehingga berakibat tidak terbentuknya gelendong pembelahan. Terhambatnya pembentukan spindle pembelahan, maka kromosom yang sudah dalam keadaan mengganda tidak dibagi kearah berlawanan, sehingga membentuk sel yang poliploid [15].

Perubahan yang terjadi pada tanaman akibat pemberian kolkisin bisa bervariasi [16]. Sebagian tanaman mengalami mutasi pada hampir seluruh bagian tanaman mulai titik tumbuh hingga organ generatif, namun sebagian lainnya hanya mengalami mutasi pada beberapa organ saja. Sehingga kolkisin yang diberikan kepada setiap individu tanaman tidak mempengaruhi semua sel tanaman, tetapi hanya sebagian sel-sel saja. Adanya pengaruh yang berbeda pada sel-sel tanaman karena kolkisin hanya efektif pada sel yang sedang aktif membelah.

Kepekaan terhadap kolkisin berbeda diantara spesies tanaman, oleh karena itu waktu perlakuan serta konsentrasi akan berbeda untuk setiap spesies, bahkan untuk bagian tanaman yang berbeda. Pemberian kolkisin pada tunas dapat berupa larutan yang ditetes atau agar yang dioleskan setiap 2 atau 3 kali seminggu dengan konsentrasi 0,5% sampai 1,0% [14].

Penggunaan *colchicine* pada titik tumbuh dari tanaman akan mencegah pembentukan serabut-serabut gelendong dan pemisahan kromosom pada anafase dari mitosis menyebabkan penggandaan kromosom tanpa pembentukan dinding sel. Perlakuan ini dapat menyebabkan peningkatan jumlah kromosom sebelum terjadi penggandaan kromosom dapat terlihat jelas selama tahap-tahap tertentu dari pembelahan inti [17].

Kesimpulan

Berdasarkan kajian pemberian kolkisin dengan metode tetes terhadap profil poliploidi tanaman zaitun (*olea europaea*) dapat disimpulkan bahwa kolkisin cenderung mempengaruhi profil kromosom tanaman zaitun pada konsentrasi 1% dengan 2 tetes. Hasil dokumentasi menunjukkan bahwa kenampakan kromosom pada konsentrasi tersebut lebih banyak dibandingkan pada konsentrasi yang lain. Hal ini dapat digunakan sebagai indikasi kecenderungan adanya poliploidi pada tanaman zaitun.

Daftar Pustaka

- [1] Ioannis, T. 2009. *Crop production science in horticulture series*. School of Agriculture Aristotle University. Thessaloniki
- [2] Xing. 2011. *Prediction of nucleosome occupancy in Saccharomyces cerevisiae using position-correlation scoring function*. School of Physical Science and Technology. Inner Mongolia University. China.
- [3] Ramsey, J. and W.D. Schemske. 1998. *Pathways, mechanisms, and rates of polyploidy formation in flowering plants*. Department of Botany of Washington University. Seattle.
- [4] Dhooghe, Van Laerek, Eckhaut, L. Leus and J. Van Huylenbroeck. 2011. Mitotic Chromosome Doubling Of Plant Tissues in Vitro. *Plant Cell Tissue Organ Culture* **104**: 359–373.
- [5] Suminah, S. dan A. D. Setyawan. 2002. Induksi poliploidi bawang merah (*Allium ascalonicum* L.) dengan pemberian kolkisin. *Biodiversitas* **3 (1)** : 174 – 180.
- [6] Wulandari, A.S. dan T.R. Wijaya. 2015. *Analisis Kromosom Tanaman Jati (Tectona grandis Lf) Dengan Metode Pewarnaan*. Departemen Silviculture Fakultas Kehutanan IPB. Bogor.
- [7] Jahier, J., A. M. Chevre, F. Eber, R. Delourme and A. M. Tanguy. 1996. *Techniques of Plants Cytogenetics*. Science Publisher Inc. Lebanon.177 p.
- [8] Setyawan, A. D. dan Sutikno. 2000. Karyotipe Kromosom pada *Allium sativum* L. (Bawang Putih) dan *Pisum Sativum* L (Kacang Kapri). *BioSmart* **2(1)**: 20–27.
- [9] Sanford, J.C. 1983. *Ploidy Manipulations* in J.N. Janik (Eds). *Advances in Fruit Breeding*. Purdue University Press. West Lafayette. p100-123.
- [10] Zeng, H.Z., C.W. Chen, L. Hong, J.H. Liu and X.X. Deng, 2006. In Vitro Induction, Regeneration and Analysis of Autotetraploids Derived from Protoplasts and Callus Treated with Colchicine in Citrus. *Plant Cell Tissue and Organculture* **87**:85-93.
- [11] Suryo, 2003. *Sitogenetika*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- [12] Francis. 2007. *New processes and players in the nitrogen cycle: the microbial ecology of anaerobic and archaeal ammonia oxidation*. Department of Geological and Environmental Sciences of Stanford University. Stanford.
- [13] Eigsti, O.J. and P. Dustin. 1995. *Colchicine in Agriculture, Medicine, Biology, and Chemistry*. The Iowa State College Press. Iowa.
- [14] Poespodarsono, S. 1988. *Dasar-dasar Ilmu Pemuliaan Tanaman*. PAU - LSI. IPB. Bogor. p169.
- [15] Sofia, D. 2007. Respon Pertumbuhan dan Produksi Mentimun (*Cucumis sativus* L) dengan Mutagen Kolkisin. (serial online). Tanggal Akses 14 Januari 2016. URL: <http://repository.usu.ac.id/bitstream/123456789/pdf>.
- [16] Avery Jr., S. George and E.B. Johnson. 1947. *Hormones and horticulture*. Mc Graw-Hill Book Co. Inc. New York.
- [17] Crowder, L.V. 1997. *Genetika Tumbuhan* (Diterjemahkan oleh Lilik Kusdiarti). Cet-5. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.