

## Penggandaan Kromosom Marigold (*Tagetes erecta* L.) dengan Perlakuan Kolkisin

Ida Ayu Ratih Purnama Dewi<sup>1\*</sup>, Made Pharmawati<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,  
Universitas Udayana, Kampus Bukit Jimbaran Bali, Indonesia

\*email: made\_pharmawati@unud.ac.id

### Abstract

The purpose of this research is to analyze the effect of colchicine treatments to the number of marigold's chromosome and to determine the effective concentration of colchicine to induce polyploidy of marigold sprouts. Marigold sprouts were soaked in colchicine with a concentration of 0.1% and 0.2% for six hours. As control sprouts were soaked in water. The parameter observed in this research was the amount of marigold's chromosome at the root tip of marigold sprout in each treatment using squash method. In this study, colchicine led to doubling the number of chromosomes. The average number of chromosomes in control was  $2n=2x=20.5$ , while the average of chromosomes number at seedling treated by colchicine on 0.1% and 0.2% were  $2n=4x=42$  and  $2n=4x=43$  respectively.

**Keywords:** Asteraceae, gemitir, seedling, root tip squash

### Abstrak

Penelitian bertujuan untuk menganalisis pengaruh pemberian kolkisin terhadap jumlah kromosom marigold serta dapat mengetahui konsentrasi kolkisin yang efektif untuk menginduksi poliploid pada kecambah marigold. Kecambah direndam dalam kolkisin dengan konsentrasi 0,1% dan 0,2% selama 6 jam, sebagai kontrol digunakan akuades. Parameter yang diamati adalah jumlah kromosom ujung akar marigold pada masing-masing perlakuan. Pengamatan kromosom dilakukan dengan metode *squash* ujung akar. Pemberian kolkisin menyebabkan penggandaan jumlah kromosom kecambah marigold. Rata-rata jumlah kromosom kecambah marigold pada kontrol adalah  $2n=2x=20,5$ , sementara rata-rata jumlah kromosom yang diberi perlakuan kolkisin 0,1% dan 0,2 % berturut-turut yaitu  $2n=4x=42$  dan  $2n=4x=43$ .

**Kata kunci :** Asteraceae, gemitir, kecambah, *squash* ujung akar

### Pendahuluan

Tanaman marigold (*Tagetes erecta* L.) atau yang di Bali dikenal dengan nama gemitir termasuk ke dalam Asteraceae dan memiliki banyak manfaat. Bunga marigold bagi masyarakat Hindu di Bali, digunakan sebagai sarana upacara, dapat pula digunakan sebagai tanaman hias dalam pot maupun sebagai karangan bunga. Hal ini karena bunga marigold memiliki bentuk yang unik serta warna yang indah (Widyawan & Prihastuti, 1994). Marigold juga dapat digunakan sebagai anti hama karena mengandung terpenoid, serta dapat pula digunakan sebagai pakan ternak (Yolanda, 2012). Permintaan konsumen yang tinggi akan bunga marigold, menyebabkan diperlukan upaya untuk meningkatkan kualitas dan perbaikan sifat tanaman misalnya meningkatnya jumlah dan ukuran bunga, serta lebih tahan lama. Upaya tersebut salah satunya dapat dilakukan dengan induksi poliploid menggunakan mutagen kimia kolkisin (Chahal & Gosal, 2002; Soedjono, 2003).

Kolkisin merupakan salah satu mutagen kimia yang dapat menginduksi poliploid, dimana organisme memiliki tiga kali atau lebih set kromosom dasar dalam sel-selnya (Sulistyaningsih *et al.*, 2004). Kolkisin menyebabkan terhambatnya pembentukan benang spindel dengan cara berikatan dengan tubulin, sehingga polimerasi tubulin menjadi mikrotubulin akan terhambat. Hal tersebut mengakibatkan kromosom tidak mengalami pemisahan pada saat proses pembelahan sel sehingga sel mengandung jumlah set kromosom yang berlipat dan terbentuk organisme yang poliploid (Sundov *et al.*, 2005).

Konsentrasi dan lama perendaman kolkisin dalam menginduksi poliploid, berbeda pada tiap tanaman. Umumnya konsentrasi yang digunakan berkisar 0.01% sampai 2% (Maritz, 2008, Wiendra *et al.*, 2011, Rahayu *et al.*, 2015, Sinha *et al.*, 2016). Lama perendaman yang digunakan bervariasi antara 1 jam sampai 72 jam (Udensi & Untoi, 2013).

Berdasarkan uraian di atas serta ditinjau dari besarnya manfaat marigold bagi masyarakat,

perlu dilakukan penelitian mengenai efek kolkisin pada tanaman marigold. Penelitian bertujuan untuk menganalisis pengaruh pemberian kolkisin terhadap jumlah kromosom marigold serta menentukan konsentrasi kolkisin yang efektif untuk menginduksi poliploidi pada kecambah marigold.

## Metode

### Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Genetika, Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana. Penelitian dilakukan pada bulan November 2016 sampai Januari 2017.

### Bahan Tanaman

Benih marigold diperoleh dari perkebunan Bali Gemitir di Banjar Mayungan, Antapan, Baturiti, Kabupaten Tabanan, Bali. Benih diuji viabilitasnya dengan merendam dalam air, dan hanya benih yang tenggelam yang digunakan.

### Cara Kerja

#### Perkecambahan dan Perlakuan Kolkisin

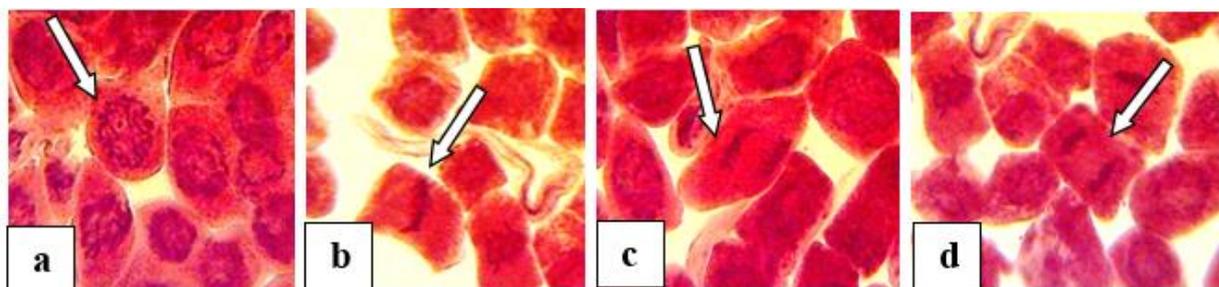
Benih viable direndam dalam air selama 6 jam untuk proses imbibisi dan dikecambahkan dengan *tissue* basah di dalam cawan petri. Kecambah marigold berukuran  $\pm 1$  cm, direndam dengan kolkisin 0,1 %; 0,2 %; dan akuades sebagai kontrol selama 6 jam dari jam 01.00 WITA sampai jam 07.00 WITA. Masing-masing perlakuan digunakan 40 kecambah. Setelah perlakuan kolkisin, kecambah dicuci di bawah air mengalir kemudian dikecambahkan kembali di dalam cawan petri.

## Pengamatan Jumlah Kromosom

Ujung akar dari kecambah marigold dipotong sepanjang 2 – 3 mm pada pagi hari pukul 07.00 - 08.00 WITA untuk dibuat preparat kromosom. Ujung akar difiksasi dengan fiksatif *Farmer* (alkohol 95% dan asam asetat glasial dengan perbandingan 3:1) selama 3 jam dari jam 8.00 WITA sampai jam 11.00 WITA. Selanjutnya ujung akar direndam dengan alkohol 70%, dan dapat disimpan dalam lemari pendingin sampai tahap selanjutnya. Ujung akar direndam dengan HCl 3 N selama 10 menit. Tahap selanjutnya ujung akar diberi pewarna *Aceto-orcein* selama 10 menit. Selanjutnya ujung akar ditutup dengan *cover glass* dan di-*squash* dengan ibu jari serta diketuk-ketuk dengan pensil berkaret lalu dilewatkan di atas api bunsen. Kromosom diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 40x10. Perhitungan kromosom dilakukan pada 4 akar pada masing-masing perlakuan termasuk kontrol. Pada tiap akar, kromosom dihitung pada tiga sel pada bidang pandang yang berbeda. Data dianalisis dengan ANOVA menggunakan program SPSS.

## Hasil dan Pembahasan

Semua fase pembelahan mitosis pada ujung akar tanaman marigold (*Tagetes erecta*) dapat teramati (Gambar 1). Hal ini menunjukkan bahwa sel-sel kecambah marigold aktif melakukan pembelahan pada pagi hari. Hasil penelitian ini sesuai dengan pembelahan sel pada tanaman pepaya solo (*Carica papaya*), dimana indeks mitosis tertinggi tanaman pepaya solo yaitu pada pukul 07.30 – 08.00 Wita (Angkasa, 2006). Hasil perhitungan kromosom ditampilkan pada Tabel 1.

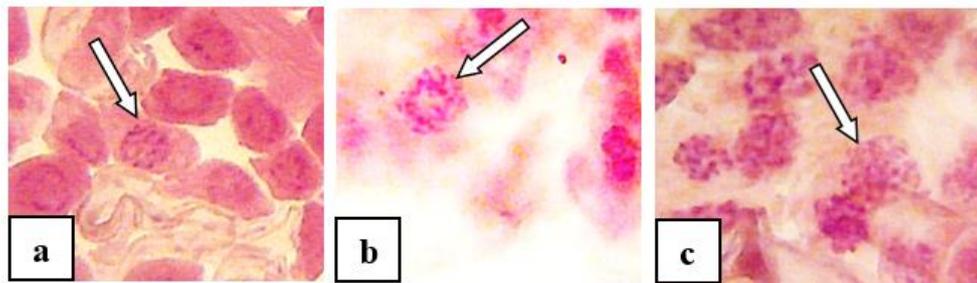


Gambar 1. Fase-fase pembelahan sel pada tanaman marigold (*Tagetes erecta*) tanpa perlakuan kolkisin dengan perbesaran 40x10. Profase (a), metafase (b), anafase (c), dan telofase (d). Tanda panah menunjukkan sel dengan kromosom pada fase mitosis

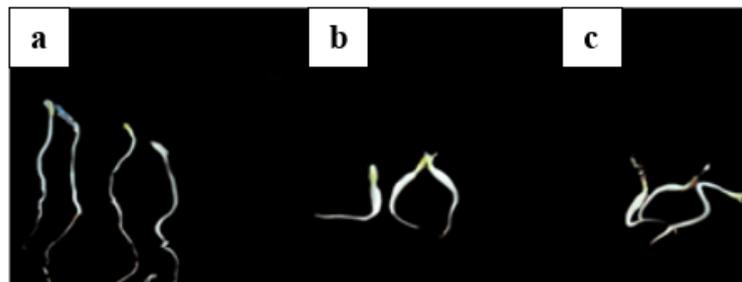
Tabel 1. Jumlah kromosom marigold pada kontrol serta pada perlakuan kolkisin 0,1% dan 0,2%

	Jumlah Kromosom				Rata-rata	Tingkat ploidi
	1	2	3	4		
Kontrol	21	21	20	20	20,5 <sup>a</sup>	2n=2x
0,10%	43	41	43	40	42 <sup>b</sup>	2n=4x
0,20%	42	40	46	43	43 <sup>b</sup>	2n=4x

Huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf 0.05



Gambar 2. Tahap profase akhir pada tanaman marigold kontrol (a), perlakuan kolkisin konsentrasi 0,1% (b) dan 0,2% (c). Tanda panah menunjukkan kromosom marigold.



Gambar 3. Kecambah tanaman marigold kontrol dan perlakuan kolkisin pada 5 hari setelah semai. (a) kecambah kontrol, (b) kecambah hasil perlakuan kolkisin 0,1% dan (c) kecambah hasil perlakuan kolkisin 0,2%

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa sel pada kecambah marigold memiliki jumlah kromosom  $2n=2x=20,5$  sedangkan menurut Zang *et al.* (2011) jumlah kromosom tanaman marigold adalah  $2n=2x=24$ . Jumlah kromosom pada kecambah marigold yang diberi perlakuan kolkisin baik pada konsentrasi 0,1% dan 0,2% adalah dua kali lipat dari jumlah kromosom pada kecambah marigold kontrol. Kecambah yang diberi perlakuan kolkisin pada konsentrasi 0,1% dan 0,2% memiliki kromosom tetraploid ( $2n=4x$ ). Gambar 2 menunjukkan kromosom pada ujung akar kecambah marigold pada kontrol, perlakuan kolkisin 0,1% dan 0,2%.

Perlakuan kolkisin mempengaruhi pertumbuhan kecambah marigold (Gambar 3). Kecambah yang diberi perlakuan kolkisin berukuran lebih pendek tetapi memiliki ukuran diameter batang kecambah lebih besar dibandingkan kecambah pada kontrol.

Jumlah kromosom marigold pada kontrol adalah  $2n=2x=20,5$ . Hal ini berbeda dengan Zang *et al.* (2011) yang mengatakan jumlah kromosom marigold adalah  $2n=2x=24$ . Ukuran kromosom yang kecil menyebabkan kesulitan dalam

perhitungan. Faktor lain yang dapat menyebabkan perbedaan jumlah kromosom adalah adanya mutasi yang telah terjadi pada biji yang digunakan. Mutasi tersebut dapat terjadi karena pengaruh pemberian insektisida atau herbisida pada tanaman marigold yang dilakukan oleh petani marigold. Insektisida dan herbisida dapat pula mempengaruhi reproduksi tanaman sehingga mengganggu pembentukan biji (Boutin *et al.*, 2014). Menurut Aranes dan Rubio (1993), pemberian insektisida pada *Allium* dapat menyebabkan berbagai mutasi kromosom salah satunya perubahan jumlah kromosom.

Jumlah kromosom pada kecambah yang diberi perlakuan kolkisin dengan konsentrasi 0,1% dan 0,2% adalah dua kali lipat jumlah kromosom kontrol. Penelitian Gultom (2016) pada tanaman bawang putih (*Allium sativum*) kultivar 'Doulu' yang diberi kolkisin konsentrasi 0,2% selama 6 jam perendaman, menghasilkan tanaman yang tetraploid dengan jumlah kromosom  $2n=4x=33$ . Pada tanaman srikaya, pemberian kolkisin 0,1% menyebabkan peningkatan jumlah kromosom menjadi tetraploid yaitu  $2n=4x=28$  (Dwijayanti, 2011). Respon tanaman terhadap pengaruh

kolkisin berbeda-beda bergantung pada lama perendaman kolkisin, bagian yang diberi kolkisin, serta jenis tanaman (Suci, 2006, Zuhrah *et al.*, 2010, Wiendra *et al.*, 2011).

Hasil penelitian menunjukkan perbedaan jumlah kromosom di setiap ulangan dikarenakan letak kromosom yang saling tumpang tindih dan berdekatan satu sama lain menyebabkan beberapa kromosom tidak terhitung. Penelitian Wiendra *et al.* (2011), dengan menggunakan tanaman pacar air (*Impatiens balsamina*) dengan perlakuan kolkisin konsentrasi 0,01%, juga menunjukkan perbedaan jumlah kromosom pada setiap ulangan. Jumlah kromosom yang teramati yaitu 20-27 kromosom.

Jumlah kromosom yang berlipat ganda pada perlakuan kolkisin dengan konsentrasi 0,1% dan 0,2% terjadi karena kolkisin dapat menghambat tahap metafase selama proses pembelahan sel. Penggandaan jumlah kromosom pada tanaman yang diberi perlakuan kolkisin terjadi karena terhambatnya proses pembelahan pada tahap metafase akibat pengaruh kolkisin. Mekanisme kolkisin dalam menghasilkan tanaman poliploid adalah dengan cara membentuk ikatan dengan tubulin, akibatnya polimerisasi tubulin menjadi mikrotubulin akan terhambat. Hal tersebut mampu menghambat pembentukan benang spindel sehingga kromatid tidak berpisah ke kutub berlawanan dan kromosom tidak mengalami pemisahan pada proses pembelahan. Set kromosom menjadi berlipat ganda dan terbentuk tanaman poliploid (Sheeler & Bianchi, 1987).

Pengaruh pemberian kolkisin dapat diamati melalui pengamatan bentuk morfologi tanaman, selain melalui pengamatan jumlah kromosom, (Ganies & Daryono, 2014). Hasil pengamatan morfologi kecambah marigold yang diberi perlakuan kolkisin 0,1% dan 0,2% memperlihatkan hasil yang berbeda dengan kontrol. Morfologi yang tampak merupakan efek dari pembesaran sel yang terjadi akibat penggandaan kromosom (Poespodarsono, 1988). Stebbins (1970) mengatakan bahwa sel tetraploid memiliki ukuran sel yang lebih besar

dibandingkan dengan diploid. Hal tersebut menyebabkan ukuran jaringan serta organ dapat menjadi lebih besar pula dibanding dengan organisme diploid sehingga ukuran morfologi kecambah yang diberi perlakuan kolkisin juga terlihat besar dibandingkan dengan kecambah kontrol.

Kecambah kontrol dan kecambah perlakuan kolkisin 0,1% dan 0,2% memperlihatkan pertumbuhan yang berbeda yaitu kecambah marigold yang diberi perlakuan kolkisin lebih lambat pertumbuhannya dibandingkan dengan kecambah kontrol. Kolkisin menghalangi proses polimerisasi mikrotubula penyusun sel. Hal tersebut dapat merusak tata letak glikoprotein di dalam sel (Wolfe, 1983). Peran dari glikoprotein di dalam sel yaitu sebagai pengikat molekul-molekul pada permukaan sel serta sebagai protein reseptor. Tata letak glikoprotein yang rusak tersebut menyebabkan molekul-molekul tidak tersalurkan dengan baik sehingga pertumbuhan tanaman yang diberi perlakuan kolkisin menjadi lebih lambat. Hal ini terlihat dengan pertumbuhan kecambah yang diberi perlakuan kolkisin lebih lambat dibandingkan dengan tanaman kontrol (Wolfe, 1983). Yunita dan Pharmawati (2015), melaporkan bahwa kolkisin dengan konsentrasi 0,05%, 0,1%, dan 0,15% mempengaruhi morfologi bibit kamboja jepang. Bibit kontrol lebih tinggi dibandingkan dengan tanaman yang telah diberi perlakuan kolkisin pada umur 35 hari setelah semai. Bibit kontrol juga memiliki panjang dan lebar kotiledon yang tertinggi.

## Simpulan

Kolkisin dengan konsentrasi 0,1% dan 0,2% menginduksi poliploid pada tanaman marigold (*Tagetes erecta*). Jumlah kromosom marigold (*Tagetes erecta*) tanpa perlakuan kolkisin adalah  $2n=2x=20,5$ , dengan perlakuan kolkisin konsentrasi 0,1% yaitu  $2n=2x=42$  dan dengan perlakuan kolkisin konsentrasi 0,2% yaitu  $2n=2x=43$ .

## Daftar Referensi

- Angkasa, K.B. 2006. Variasi Konsentrasi Kolkisin untuk Menginduksi Poliploid pada Pepaya Solo (*Carica papaya* L.). (Skripsi). Jurusan Biologi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana.
- Aranes, A.T. & Rubio R.O.. 1993. Genotoxicity of Two Organophosphate Insecticides Based on Allium Test. *Sci. Diliman* 5(2): 1-11
- Boutin, C., B. Strandberg, D. Carpenter, S.K. Mathiassen & P.J. Thomas. 2014. Herbicide Impact on Non-target Plant Reproduction: What are the toxicological and ecological implications? *Env. Poll.* 18: 295-306.
- Chahal, G.S. & Gosal S.S., 2002. *Principles and Procedures of Plant Breeding. Biotechnological and Conventional Approaches*. Alpha Science: Pangbourne, UK.

- Ganies, R.A. & B.S. Daryono. 2014. Karakter Fenotipik Tanaman Stroberi Festival (*Fragaria x ananassa* D.) Hasil Induksi Kolkisin pada Konsentrasi 0,05 % dan 0,01 %. *Biogenesis* 2(2): 70-78.
- Dwijayanti, I. 2011. Pengaruh Kolkisin Terhadap Fenotipe Pertumbuhan Awal dan Jumlah Kromosom Tanaman Srikaya (*Annona squamosa* Linn.). (Skripsi). Fakultas Pertanian. Universitas Sevelas Maret. Surakarta.
- Gultom, T. 2016. Pengaruh Pemberian Kolkisin Terhadap Jumlah Kromosom Bawang Putih (*Allium sativum*) Lokal Kultival Doulu. *Biodiversitas* 2(3):165-172.
- Maritz. T. 2008. Induction of Polyploidy in Eucalyptus Species and Interspecific Hybrids. (Thesis). School of Biochemistry, Genetics, Microbiology and Plant Pathology, University of KwaZulu-Natal.
- Poespodarsono, S., 1998. *Dasar-Dasar Pemuliaan Tanaman*. IPB Press: Bogor.
- Rahayu, D., D. Sukma, M. Syukur, & Irawati. 2015. Induksi Poliploidi *Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume dan *Phalaenopsis amboinensis* J. J. Smith dengan Kolkisin dalam Kultur In Vitro. Eka Martha J. Agron. Indonesia 43 (3) : 219 – 226.
- Sheeler, P. & D.G. Bianchi. 1987. *Cell and Molecular Biology*. John Wiley and Sons, Inc.: Canada.
- Sinha, P., R. Kannan & D. Ganes. 2016 Optimizing of Polyploidization by In-Vitro Methods for Genetic Improvements of Garlic (*Allium sativum* L.) Res. J. Pharm. Biol. Chem. Sci. 7(6): 2014:2012.
- Soedjono, S. 2003. Aplikasi Mutasi Induksi dan Variasi Somaklonal dalam Pemuliaan Tanaman. *Litbang Pertanian* 22(1): 70-78.
- Stebbins G.L. 1971. *Chromosomal Evolution in Higher Plants*. Edward Arnold (Publisher) Ltd.: London.
- Suci, A. 2006. Pengaruh Kolkisin Terhadap Keragaan Fenotipe dan Jumlah Kromosom Jahe Emprit (*Zingiber officinale* Rosc.) Asal In Vitro. (Skripsi). Program Studi Pemuliaan Tanaman dan Teknologi Benih. Fakultas Pertanian. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Sulistianingsih, R., Z. A. Suyanto, & A. E. Noer. 2004. Peningkatan Kualitas Anggrek *Dendrobium hibrida* dengan Pemberian Kolkisin. *Ilmu Pertanian* 11(1): 13-2.
- Sundov, Z., Z. Nincevicb, M.D. Gojanovicc, M.G. Durdovc, I. Jukica, N. Hulinad and A. Tonkica. 2005. Fatal Colchicine Poisoning by Accidental Ingestion of Meadow Saffron-case Report. *For. Sci. Int.* 149(2): 253-256.
- Udensi, O.U. & Ontui, V. 2013. Determination by Flow Cytometry Polyploidy Inducing-capacity of Colchicine in *Cajanus cajan* (L.) Mill sp. Pak. J. Biol. Sci.16: 630-635.
- Widyawan R. dan S. Prahastuti. 1994. *Bunga Potong*. Pusat Dokumentasi dan Informasi Ilmiah. LIPI: Jakarta.
- Wiendra, N.M.S., M. Pharmawati & N.P.A. Astiti. 2011. Pemberian Kolkisin dengan Lama Perendaman Berbeda pada Induksi Poliploidi Pacar Air (*Impatiens balsamina* L.). *J. Biologi* 15(1):9-14.
- Wolfe, S. L. 1983. *Introduction to Cell Biology*. Wadsworth Publishing Company: California.
- Yolanda. 2012. Pengaruh Pemberian Tepung Daun dan Bunga Marigold (*Tagetes erecta*) dalam Pakan Terhadap Kualitas dan Kandungan Vitamin A Telur Ayam. (Skripsi). Departemen Ilmu Nutrisi dan Teknologi Pakan Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor.
- Yunita, P.A. & M. Pharmawati. 2015. Pengamatan Morfologi dan Anatomi Bibit Kamboja Jepang (*Adenium* sp.) akibat Perendaman Biji dengan Kolkisin. *Jurnal Simbiosis* 3(1):322-325.
- Zang, P., L. Zeng, Y., Xue Su, X. W. Gong, & X. S. Wang. 2011. Karyotype Studies on *Tagetes erecta* L. and *Tagetes patula* L. *Afr. J. Biotechnol.* 10(72):16138-16144.
- Zuhrah, A., N. Aini, & T. Wardiati. 2010. Respon Morfologi Tanaman Sedap Malam (*Polianthes tuberosa* L. cv Roro Anteng) Terhadap Pemberian Kolkisin. *Buana Sains* 10(2): 153-158.