

PENGGANDAAN JUMLAH KROMOSOM CABAI
DENGAN PERLAKUAN KOLKISIN
SECARA *IN VIVO* DAN *IN VITRO*

CICA ALI



JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
1998

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkannya dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



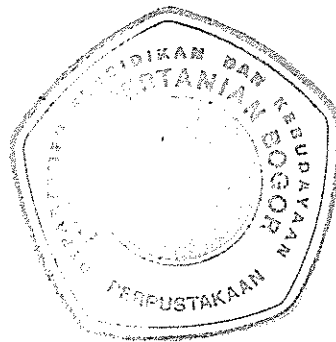
RINGKASAN

CICA ALI. Penggandaan Jumlah Kromosom Cabai dengan Perlakuan Kolkisin secara *In vivo* dan *In vitro* (*Chromosome Doubling of Pepper by In vivo and In vitro Colchicine Treatment*). Dibimbing oleh ENCE DARMO JAYA SUPENA dan SUHARSONO.

Tanaman dan biji muda cabai besar dan cabai keriting diberi perlakuan kolkisin secara *in vivo* dan *in vitro* untuk menggandakan jumlah kromosomnya. Perlakuan secara *in vivo* dilakukan dengan penetasan larutan kolkisin konsentrasi 0 (kontrol), 0,1, 0,2, dan 0,4% pada bagian calon tunas lateral. Perlakuan secara *in vitro* dilakukan dengan (i) perendaman biji muda dalam larutan kolkisin konsentrasi 0 (kontrol), 1, 5, dan 10 g/l selama 2 dan 4 jam; (ii) penambahan kolkisin pada media kultur konsentrasi 0 (kontrol), 50, dan 100 mg/l dengan lama perlakuan 7 dan 14 hari.

Penetasan 0,1% kolkisin pada bagian calon tunas lateral tanaman cabai menyebabkan tanaman memiliki ukuran stomata yang lebih besar, jumlah kloroplas dalam stomata yang lebih banyak, dan kerapatan stomata dan sel epidermis yang lebih rendah dibandingkan tanaman kontrol. Perubahan ciri-ciri tersebut menunjukkan bahwa telah terjadi induksi dari cabai diploid ($2n=24$) menjadi tetraploid ($2n=48$).

Perlakuan perendaman biji muda dalam larutan kolkisin kurang efektif untuk menggandakan jumlah kromosom cabai, karena hanya konsentrasi 10 g/l selama 4 jam yang dapat menggandakan jumlah kromosom cabai. Sedangkan penanaman biji di dalam media yang mengandung 100 mg/l kolkisin dengan lama perlakuan 7 hari dan 50 mg/l dengan lama perlakuan 14 hari lebih efektif menggandakan jumlah kromosom cabai dari diploid menjadi tetraploid.



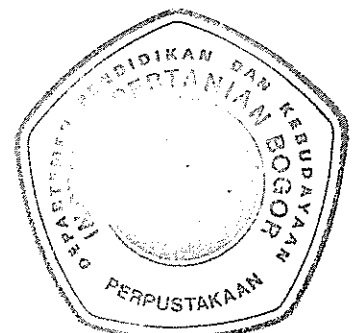


PENGGANDAAN JUMLAH KROMOSOM CABAI DENGAN PERLAKUAN KOLKISIN SECARA *IN VIVO* DAN *IN VITRO*

CICA ALI

Skripsi
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains
pada
Program Studi Biologi

JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
1998





Judul : Pengandaan Jumlah Kromosom Cabai dengan Perlakuan Kolkisin secara *In vivo* dan *In vitro*
Nama : Cica Ali
NIM : G 30.0026

Menyetujui,



Ir. Ence Darmo Jaya Supena, M.Si.

Pembimbing I



Dr. Ir. Suharsono, D.E.A.

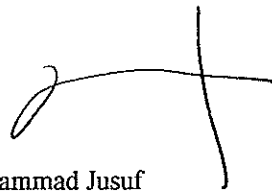
Pembimbing II

Mengetahui,



Dr. Siti Muhammad Jusuf

Ketua Program Studi



Tanggal Lulus : 22 Juli 1998



RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Padang pada tanggal 27 Pebruari 1975 sebagai anak bungsu dari empat bersaudara dari pasangan Ali Dius Luin dan Kamisar.

Tahun 1993 penulis lulus dari SMA Negeri 1 Jambi dan pada tahun yang sama masuk IPB melalui jalur Undangan Seleksi Masuk IPB. Pada tahun 1994 penulis diterima di Program Studi Biologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.

Selama mengikuti perkuliahan penulis menjadi asisten mata kuliah Anatomi dan Morfologi Tumbuhan pada tahun ajaran 1997/1998 dan mata kuliah Genetika Dasar pada tahun ajaran 1996/1997 dan 1997/1998.

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas segala nikmat dan hidayah-Nya sehingga karya ilmiah ini berhasil diselesaikan. Penelitian ini dilaksanakan dari bulan Maret - Desember 1997 dan dibiayai oleh proyek Penelitian Hibah Bersaing V/2 Perguruan Tinggi Tahun Anggaran 1997/1998 Kontrak Nomor: 34/P2IPT/DPPM/97/PHB III/5/V/1997.

Terima kasih penulis ucapkan kepada Bapak Ir. Ence Darmo Jaya Supena, M.Si. dan Bapak Dr. Ir. Suharsono, D.E.A. yang telah membimbing penulis selama penelitian dan penulisan karya ilmiah, serta kepada Ibu Dra.Hilda Akmal, sebagai wakil komisi pendidikan pada ujian sidang karya ilmiah atas saran dan nasehatnya. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Bapak Adi, Bapak Mulya, Netin, Rini, Wiwik, dan seluruh warga Laboratorium Biologi Molekuler dan Seluler Tanaman PAU Bioteknologi IPB atas bantuan dan kerjasamanya selama ini. Ungkapan terima kasih juga disampaikan kepada papa, mama, dan uda uni tercinta atas segala doa dan kasih sayangnya.

Semoga karya ilmiah ini dapat bermanfaat.

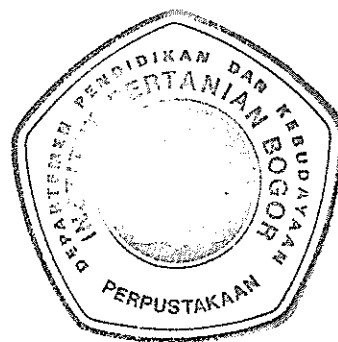
Bogor, Juli 1998

Cica Ali



DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR GAMBAR	vi
DAFTAR LAMPIRAN	vii
PENDAHULUAN	1
BAHAN DAN METODE	
Tempat dan Waktu	1
Bahan Tanaman	1
Metode Penelitian	2
HASIL DAN PEMBAHASAN	
Perlakuan Penetasan	3
Perlakuan Perendaman	6
Perlakuan pada Media Kultur	7
KESIMPULAN	10
SARAN	10
DAFTAR PUSTAKA	10
LAMPIRAN	12



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Stomata dan sel epidermis hasil dari berbagai perlakuan kolkisin pada cabai besar (CB)	3
2. Jumlah kloroplas dalam stomata hasil perlakuan penetesan larutan kolkisin pada cabai besar (CB) dan cabai keriting (CK)	5
3. Jumlah kloroplas dalam stomata pada tanaman cabai keriting (CK) hasil perlakuan penetesan larutan kolkisin : (A) tidak mengalami perubahan, (B) mengalami peningkatan jumlah	5
4. Pengaruh perlakuan perendaman biji dalam larutan kolkisin terhadap perkecambahan biji cabai besar (CB) dan cabai keriting (CK)	6
5. Pengaruh lama waktu perendaman dalam kolkisin terhadap jumlah biji cabai besar (CB) dan cabai keriting (CK) yang berkecambah pada umur 12 mst.	6
6. Penampakan pertumbuhan tanaman cabai besar (CB) dari biji yang direndam selama 2 jam (kiri) dan 4 jam (kanan) dalam larutan 1 g/l kolkisin pada umur 17 mst.	7
7. Sel tetraploid hasil perendaman biji cabai keriting (CK) dalam larutan 10 g/l kolkisin selama 4 jam	7
8. Pengaruh penambahan kolkisin pada media terhadap perkecambahan cabai besar (CB) dan cabai keriting (CK)	8
9. Pengaruh konsentrasi kolkisin yang ditambahkan pada media terhadap perkecambahan biji cabai besar (CB) dan cabai keriting (CK) pada umur 12 mst.	8
10. Penampakan tanaman cabai besar (CB) pada umur 17 mst. yang berasal dari biji yang ditanam selama 14 hari di dalam media yang mengandung 50 mg/l kolkisin	9
11. Sel-sel tetraploid pada cabai besar (CB) dan cabai keriting (CK) hasil penambahan kolkisin pada media tumbuh	9
12. Sel dengan jumlah kromosom berbeda dari akar yang berbeda dari tanaman yang sama pada cabai besar (CB) hasil penambahan 100 mg/l kolkisin ke dalam media selama 7 hari : (A) diploid, $2n = 24$, (B) tetraploid, $2n = 48$	9

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengemukakan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Komposisi media Murashige dan Skoog (MS)	13
2. Komposisi larutan fuelgen	13
3. Jumlah tanaman berdasarkan tingkat ploidi hasil perlakuan perendaman biji cabai dalam larutan kolkisin	14
4. Pengaruh lama waktu penanaman biji di dalam media yang mengandung 50 mg/l kolkisin terhadap perkembangan akar kecambah cabai besar (CB)	14
5. Pengaruh konsentrasi kolkisin di dalam media dan lama penanaman di dalam media yang mengandung kolkisin terhadap ploidi tanaman	15



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

PENDAHULUAN

Cabai (*Capsicum annum* L.) merupakan tanaman sayuran yang penting. Luas pertanaman cabai di Indonesia pada tahun 1995 adalah 182 ribu ha dengan rata-rata produksi 2,6 ton/ha (BPS, 1996). Sedangkan menurut FAO (1996) luas pertanaman cabai di Indonesia pada tahun 1995 mencapai 235 ribu ha dengan rata-rata produksi hanya 2,0 ton/ha. Berdasarkan data-data tersebut, Indonesia merupakan negara dengan pertanaman terluas tetapi produktivitasnya masih jauh di bawah rata-rata produktivitas dunia (9,5 ton/ha) (FAO, 1996). Oleh karena itu program intensifikasi dengan menggunakan benih unggul, diantaranya berupa benih hibrida, merupakan alternatif yang tepat untuk meningkatkan produksi cabai.

Untuk mengembangkan varietas atau benih hibrida diperlukan galur murni (diploid homoisogous) untuk dijadikan tetua dalam persilangan. Salah satu cara mendapatkan galur murni yaitu melalui pembentukan tanaman haploid yang dilanjutkan dengan penggandaan jumlah kromosomnya. Metode ini, khususnya untuk Solanaceae dan Gramineae telah terbukti dapat mereduksi waktu dibandingkan metode konvensional dan dapat memproduksi dalam jumlah yang besar (Szarejko *et al.*, 1991).

Induksi penggandaan jumlah kromosom dapat dilakukan dengan menggunakan senyawa kimia kolkisin (Eigsti & Dustin, 1957). Kolkisin, $C_{22}H_{25}O_6N$, diekstrak dari umbi *Colchicum autumnale*, adalah metil eter dari suatu enolon yang mengandung 3 grup metoksi, 1 grup amino primer yang terasetilasi dan 3 ikatan rangkap non benzena. Pada suhu ruang berbentuk padatan dengan titik lebur 155-157°C. Kolkisin larut dalam alkohol, kloroform atau air dingin, tetapi sedikit larut dalam air panas atau benzena dingin dan hampir tidak larut dalam eter (Eigsti & Dustin, 1957).

Kolkisin mengubah atau merusak benang-benang gelendong yang pengrusakannya dimulai pada bagian ujung kutub ketika polaritas muncul. Adanya kolkisin menyebabkan benang-benang dan polarisasi gelendong dengan cepat berubah menjadi tidak berbentuk (*pseudo spindle*) atau globul hialin sehingga menghilangkan polarisasi dan tidak mampu memisahkan kromatid bersaudara pada saat mitosis berlangsung dan tidak terjadi sitokinesis. Akibat dari proses ini jumlah kromosom

dalam setiap sel menjadi dua kali lipat atau terjadi proses poliploidisasi. Molekul kolkisin akan berinteraksi dengan sistem molekular benang gelendong seperti interaksi enzim dengan substratnya (Eigsti & Dustin, 1957).

Penggunaan kolkisin untuk menggandakan jumlah kromosom tanaman dapat dilakukan secara *in vivo* dengan penetesan pada bagian pucuk atau secara *in vitro* dengan penambahan pada medium kultur (Jahier *et al.*, 1996).

Kolkisin telah banyak digunakan untuk menghasilkan tanaman poliploidi. Contoh penggunaan kolkisin yaitu: regenerasi kalus dobel haploid dari kultur anter jagung (Wan *et al.*, 1989), pembentukan tanaman dodecaploid pada *Diospyros kaki* L. (Tamura *et al.*, 1996), dan penggandaan kromosom pada Inca Lily (Chunsheng & Bridgen, 1997).

Tingkat ploidi pada tanaman dapat dilihat dari ukuran sel penjaga stomata, jumlah kloroplas pada stomata dan ukuran sel epidermis (Newcomer, 1941; Chaudari & Barrow, 1975; Barrino & Powell, 1988; dan Srivalli, *et al.*, 1995). Menurut Srivalli *et al.* (1995) tanaman cabai tetraploid mempunyai ukuran stomata yang lebih besar, jumlah kloroplas yang lebih banyak, dan kerapatan stomata dan sel epidermis yang lebih rendah daripada tanaman diploid. Selain itu penghitungan jumlah kromosom merupakan metode yang paling tepat untuk mendeteksi terjadinya poliploidi (Newcomer, 1941).

Penelitian ini bertujuan untuk menginduksi pembentukan cabai tetraploid dari diploid dengan perlakuan kolkisin secara *in vivo* dan *in vitro*.

BAHAN DAN METODE

Tempat dan Waktu

Penelitian dilakukan di rumah kaca dan laboratorium Biologi Molekuler dan Seluler Tanaman, Pusat Antar Universitas (PAU) Bioteknologi IPB, Kampus IPB Darmaga, Bogor dari bulan Maret sampai Desember 1997.

Bahan Tanaman

Tanaman cabai besar (*Capsicum annum*) yang digunakan adalah cabai keriting (Hot spiral, Cemeti-I) dan cabai merah besar (Jatilaba I.v).



Metode Penelitian

Induksi penggandaan kromosom dengan senyawa kolkisin dilakukan secara *in vivo* yaitu dengan penetasan pada bagian tunas lateral dan secara *in vitro* yaitu dengan perendaman eksplan dan penambahan pada media kultur.

1. Perlakuan penetasan.

Cabai ditanam pada pot plastik berdiameter \pm 20 cm dan dipelihara di dalam rumah kaca. Pada umur 2 minggu setelah tanam (mst), pucuk tanaman dipotong, kemudian calon tunas lateral ditutup dengan kapas steril dan diikat.

Penetasan larutan kolkisin dilakukan dengan 4 taraf konsentrasi yaitu: 0 (kontrol), 0,1%, 0,2%, dan 0,4%. Kolkisin diemulsi dan diperkaya dengan 2% DMSO, 0,3 ml/l Tween 20, 10% Glycerin, 10 mg/l GA₃, dan 10 mg/l BA (Jensen, 1983). Penetasan pada kapas dilakukan pagi hari selama tiga hari berturut-turut. Tanaman ditutup dengan plastik untuk menjaga kelembabannya. Kapas dibuka pada hari ke tujuh setelah perlakuan. Untuk setiap konsentrasi dilakukan delapan ulangan atau tanaman.

Pengamatan meliputi ukuran dan kerapatan stomata, kerapatan sel epidermis, dan jumlah kloroplas dalam stomata.

Daun kelima dari tunas lateral diambil dan dibuat irisan paradermal dengan menggunakan silet tajam sehingga diperoleh lapisan epidermis yang tipis. Untuk melihat ukuran dan kerapatan stomata dan sel epidermis, irisan diwarnai dengan 1% safranin, diletakkan pada gelas objek yang telah diberi 10% gliserin dan ditutup dengan gelas penutup (Herbawati, 1989). Sedangkan untuk menghitung jumlah kloroplas dalam stomata digunakan larutan AgNO₃ (Jahier *et al.*, 1996). Preparat kemudian diamati di bawah mikroskop dan difoto. Preparat diawetkan dengan memberi kuteks bening di sekeliling gelas penutup.

2. Perlakuan perendaman

Bahan eksplan diperoleh dari buah cabai hasil penyerbukan sendiri yang berumur 3 minggu. Buah disterilisasi permukaan dengan perendaman di dalam larutan 2 g/l Agrept dan 2 g/l Benomyl selama 15 menit, kemudian dibilas dengan menggunakan akuades. Sterilisasi dilanjutkan dengan perendaman dalam 70% alkohol selama 1 menit, diikuti 50% Cloroks selama 15 menit dan masing-masing dibilas 3 kali dengan akuades steril di

bawah kondisi aseptik (Supena & Suharsono, 1997). Buah dibelah dan bijinya di isolasi.

Perendaman biji muda dalam larutan kolkisin terdiri dari 4 taraf konsentrasi yaitu: 0 (kontrol), 1 g/l, 5 g/l, dan 10 g/l dengan 2 taraf waktu perendaman yaitu: 2 jam dan 4 jam.

Setelah perendaman biji dikulturkan pada media dasar Murashige dan Skoog (MS) (Lampiran 1) yang mengandung 0.5 mg/l IAA, 0.1 mg/l BA, 0.5 mg/l GA₃ dan 20 mg/l rifampisin. Untuk setiap perlakuan dilakukan 8 ulangan dimana 1 ulangan adalah 1 botol kultur dengan 3 biji untuk tiap botol. Kultur diinkubasi pada ruang kultur suhu 25-28°C dengan pencahayaan bersumber dari lampu TL 1500 lux, 16 jam terang/hari sampai berkecambah dan membentuk tanaman.

3. Perlakuan pada Media Kultur

Perlakuan penambahan pada media kultur terdiri dari 3 taraf konsentrasi yaitu: 0 (kontrol), 50 mg/l dan 100 mg/l dengan 2 taraf waktu perlakuan yaitu: 7 hari dan 14 hari.

Media yang digunakan adalah media MS yang mengandung 0,5 mg/l IAA, 0,1 mg/l BA, 0,5 mg/l GA₃, 20 mg/l rifampisin. Biji ditanam pada media dengan 3 biji tiap botol kultur. Untuk setiap perlakuan dilakukan 8 ulangan, 1 ulangan sama dengan 1 botol kultur. Setelah 7 atau 14 hari inkubasi, biji dipindahkan ke media tanpa kolkisin. Kultur diinkubasi di ruang kultur dengan pencahayaan dari lampu TL 1500 lux, 16 jam terang/hari, suhu 25-28°C sampai berkecambah dan membentuk tanaman.

Pengamatan untuk perlakuan perendaman dan perlakuan pada media kultur adalah jumlah eksplan biji yang berkecambah dan jumlah kromosom.

Pengamatan Jumlah Kromosom.

Ujung akar tanaman dari botol kultur dipotong sepanjang 1-2 mm, dimasukkan ke dalam wadah yang berisi air destilata. Ujung akar direndam di dalam larutan praperlakuan, 0,029% hidroksikuinolin selama 3,5-4 jam pada suhu 18-20°C. Kemudian akar difiksasi dalam alkohol absolut: asam asetat glasial (3:1) selama 48 jam, suhu 4°C, dilanjutkan dengan proses hidrolisis menggunakan 1 N HCl suhu 60°C selama 4-9 menit. Akar segera dicuci dengan air destilata, dan dipindahkan ke larutan *fuelgen* (Lampiran 2) untuk diwarnai selama 30 menit. Setelah itu ujung akar diletakkan

di atas gelas objek yang telah ditetesi 1-2 tetes 2% aseto orcein, ditutup dengan gelas penutup, dipanaskan, dan ditekan sambil disebar (Karp, 1991). Kromosom diamati di bawah mikroskop, dihitung dan difoto.

HASIL DAN PEMBAHASAN

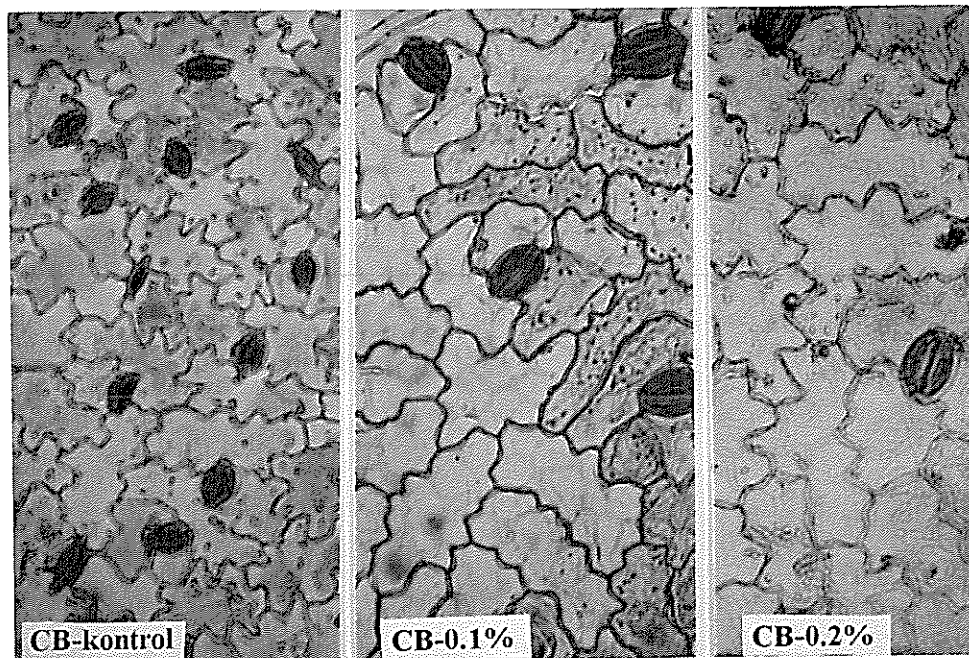
Perlakuan Penetasan

Tanaman cabai keriting dan cabai besar yang diberi perlakuan penetasan kolkisin baik konsentrasi 0,1%, 0,2% maupun 0,4% memperlihatkan adanya peningkatan ukuran panjang dan lebar stomata serta penurunan tingkat kerapatan stomata dan sel epidermis (Tabel 1 - Gambar 1). Hasil pengamatan menunjukkan bahwa perubahan lain yang terjadi adalah jumlah kloroplas tiap stomata pada cabai hasil perlakuan penetasan kolkisin dapat meningkat dua kali lipat dibandingkan kontrol (Tabel 1 - Gambar 2).

Berdasarkan kriteria yang diberikan Srivalli *et al.* (1995) maka tanaman-tanaman ini merupakan tanaman tetraploid. Jadi konsentrasi kolkisin 0,1% telah mampu menginduksi cabai diploid menjadi tetraploid.

Pada cabai keriting penetasan kolkisin konsentrasi 0,1% dan 0,2% tidak selalu menyebabkan perubahan ciri-ciri tersebut di atas. Pada konsentrasi sampai dengan 0,2 % menghasilkan tanaman diploid dan tetraploid (Tabel 1 -Gambar 3).

Perlakuan penetasan kolkisin mempengaruhi daya hidup tanaman. Cabai besar lebih peka terhadap perlakuan kolkisin daripada cabai keriting. Hal ini ditunjukkan dengan tidak adanya cabai besar yang hidup pada konsentrasi 0,4%. Pada konsentrasi ini perlakuan menyebabkan terbentuknya tumor dibagian yang diberi perlakuan sehingga tunas lateral yang diharapkan tidak pernah berkembang dan lama-kelamaan tanaman menjadi mati. Menurut Tang & Lin (1963) konsentrasi kolkisin yang tinggi dapat menyebabkan kerusakan serius pada bagian yang ditetesi.



Gambar 1. Stomata dan sel epidermis hasil dari berbagai perlakuan kolkisin pada cabai besar (CB) (perbesaran 180 ×).

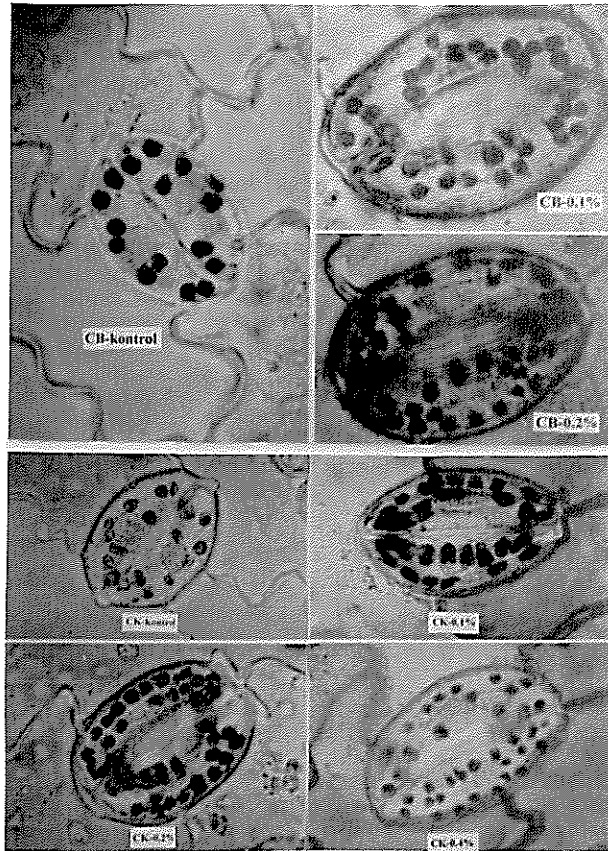
Tabel 1. Pengaruh perlakuan penetesan larutan kolkisin pada cabai besar dan cabai keriting terhadap ukuran stomata, kerapatan stomata dan sel epidermis, jumlah kloroplas dalam stomata, dan jumlah tanaman

Konsentrasi kolkisin (%)	Jumlah ulangan	Jumlah tanaman yang hidup (%)	Kelompok*	Panjang stomata (μm)	Lebar stomata (μm)	Kerapatan stomata (%)**	Kerapatan sel epidermis***	Jumlah kloroplas/stomata	Dugaan frekuensi Tanaman (%)	
									Diploid	tetraploid
Cabai besar										
0,0 (kontrol)	8	75,0	1	29,9 \pm 1,9	21,5 \pm 0,6	24,1 \pm 3,6	53,1 \pm 3,3	17,2 \pm 1,3	100,0	0,0
0,1	8	25,0	2	44,5 \pm 1,2	29,0 \pm 0,4	14,9 \pm 4,5	20,9 \pm 1,8	35,2 \pm 1,4	0,0	100,0
0,2	8	12,5	2	43,0 \pm 3,6	29,1 \pm 2,0	13,5 \pm 2,6	26,6 \pm 4,0	36,4 \pm 2,3	0,0	100,0
Cabai keriting										
0,0 (kontrol)	8	75,0	1	30,3 \pm 1,9	21,8 \pm 0,9	30,1 \pm 2,0	78,6 \pm 5,4	17,1 \pm 1,1	100,0	0,0
0,1	8	62,5	2	44,1 \pm 3,0	30,3 \pm 1,9	19,5 \pm 2,9	32,9 \pm 8,0	37,0 \pm 0,8	20,0	80,0
			1	30,1 \pm 3,3	22,3 \pm 1,9	30,5 \pm 3,1	93,3 \pm 8,7	18,0 \pm 2,1		
0,2	8	37,5	2	41,0 \pm 1,1	28,4 \pm 1,0	18,6 \pm 1,5	43,3 \pm 5,8	32,9 \pm 0,9	33,3	66,7
			1	32,3 \pm 4,8	23,9 \pm 2,7	30,2 \pm 4,0	85,3 \pm 8,4	20,0 \pm 2,2		
0,4	8	12,5	2	42,0 \pm 5,0	29,9 \pm 2,7	15,5 \pm 4,1	25,4 \pm 5,0	34,2 \pm 3,4	0,0	100,0

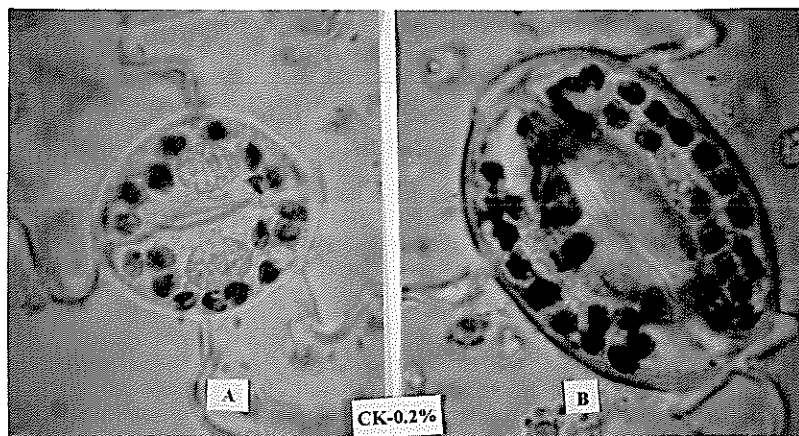
* Kelompok 1 : tanaman kontrol atau tanaman hasil perlakuan yang mempunyai ciri-ciri anatomi seperti tanaman kontrol
2 : tanaman hasil perlakuan dan mempunyai ciri-ciri anatomi yang berbeda dari tanaman kontrol

** Perbandingan jumlah stomata terhadap jumlah sel epidermis pada luas daerah pengamatan 5937,5 μm^2

*** Jumlah sel epidermis dalam luas area pengamatan 337,5 $\mu\text{m} \times 225 \mu\text{m} = 5937,5 \mu\text{m}^2$



Gambar 2. Jumlah kloroplas dalam stomata hasil perlakuan penetesan larutan kolkisin pada cabai besar (CB) dan cabai keriting (CK) (perbesaran CB 920 \times , CK 630 \times).



Gambar 3. Jumlah kloroplas dalam stomata pada tanaman cabai keriting (CK) hasil perlakuan penetesan larutan kolkisin: (A) tidak mengalami perubahan, (B) mengalami peningkatan jumlah (perbesaran 1100 \times).

Perlakuan Perendaman

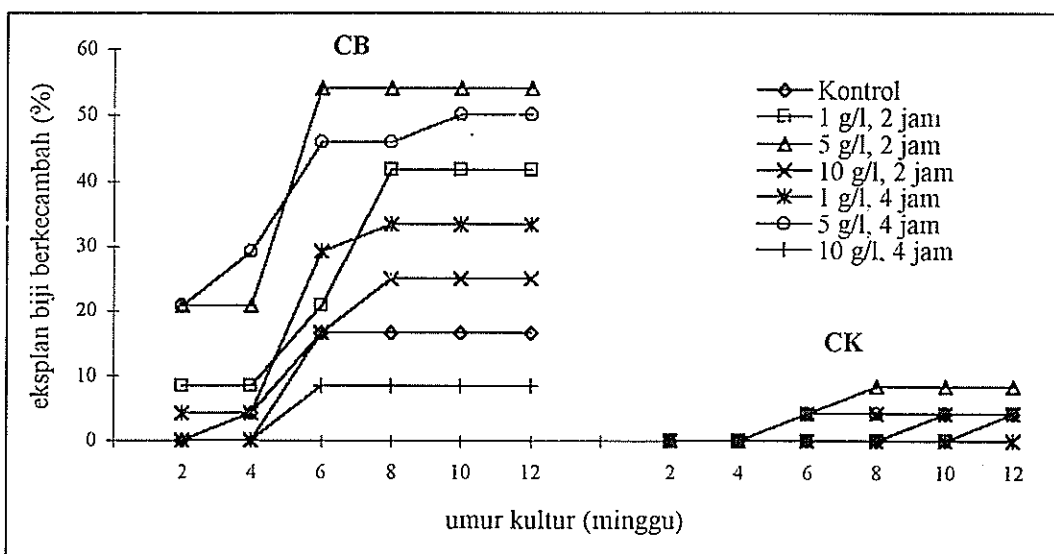
Perendaman biji dalam kolkisin dengan konsentrasi sampai dengan 10 g/l tidak menurunkan daya kecambah biji cabai. Persentase perkecambahan cabai besar pada umur kultur 12 minggu lebih besar daripada cabai keriting untuk semua perlakuan yaitu berkisar antara 8,3-54,2% pada cabai besar dan 0-8,3% pada cabai keriting (Gambar 4).

Lama waktu perendaman berpengaruh pada perkecambahan biji dan pertumbuhan tanaman. Semakin lama waktu perendaman semakin kecil persentase perkecambahannya (Gambar 5) dan

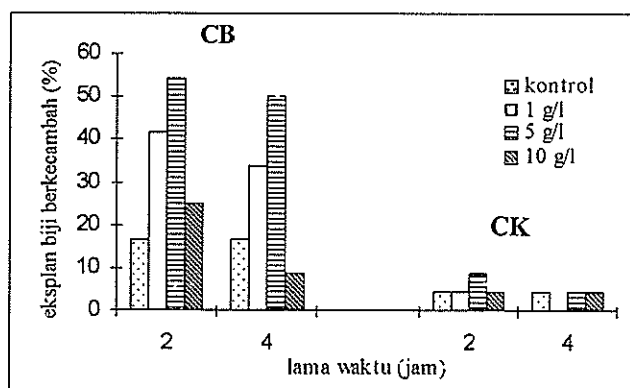
semakin lambat pertumbuhan tanaman (Gambar 6). Hal ini sesuai dengan yang diperoleh Ping dan Peffley (1997).

Hasil pengamatan kromosom menunjukkan bahwa konsentrasi 1 g/l dan 5 g/l kolkisin dengan waktu perendaman 2 dan 4 jam belum dapat menginduksi penggandaan jumlah kromosom (Lampiran 3). Hanya konsentrasi 10 g/l kolkisin selama 4 jam dapat menyebabkan penggandaan jumlah kromosom dari keadaan diploid menjadi tetraploid (Gambar 7).

@Hak cipta milik IPB University

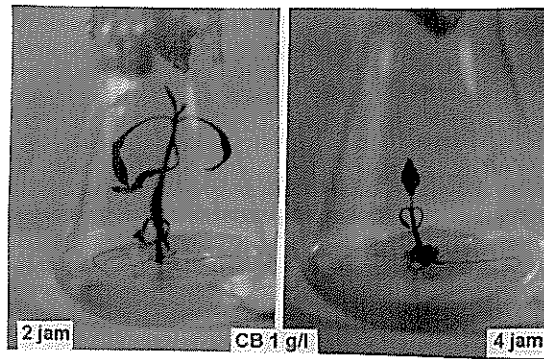


Gambar 4. Pengaruh perlakuan perendaman biji dalam larutan kolkisin terhadap perkecambahan biji cabai besar (CB) dan cabai keriting (CK).

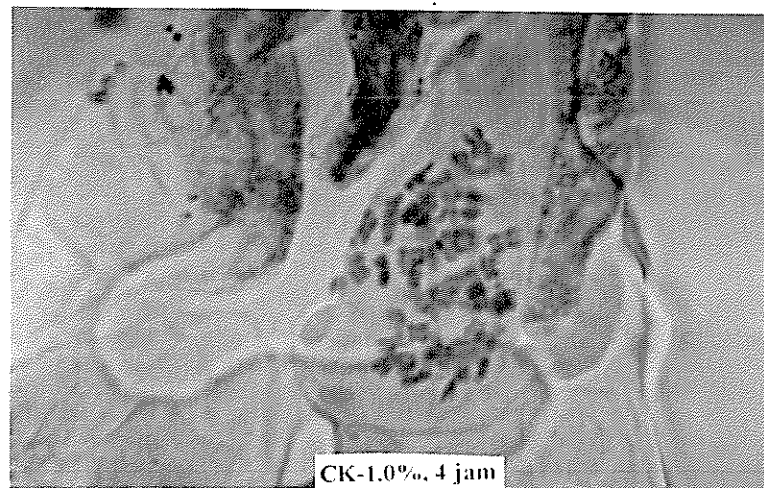


Gambar 5. Pengaruh lama waktu perendaman dalam kolkisin terhadap jumlah biji cabai besar (CB) dan cabai keriting (CK) yang berkecambah pada umur 12 mst.

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengemukakan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



Gambar 6. Penampakan pertumbuhan tanaman cabai besar (CB) dari biji yang direndam selama 2 jam (kiri) dan 4 jam (kanan) dalam larutan 1 g/l kolkisin pada umur 17 mst.



Gambar 7. Sel tetraploid hasil perendaman biji cabai keriting (CK) dalam larutan 10 g/l kolkisin selama 4 jam (perbesaran 1600 ×).

Perlakuan pada Media Kultur

Pada cabai keriting penambahan kolkisin pada media kultur menghambat perkecambahan biji, sedangkan pada cabai besar hanya konsentrasi 100 mg/l selama 14 hari dan 50 mg/l selama 7 hari yang dapat menghambat perkecambahan (Gambar 8).

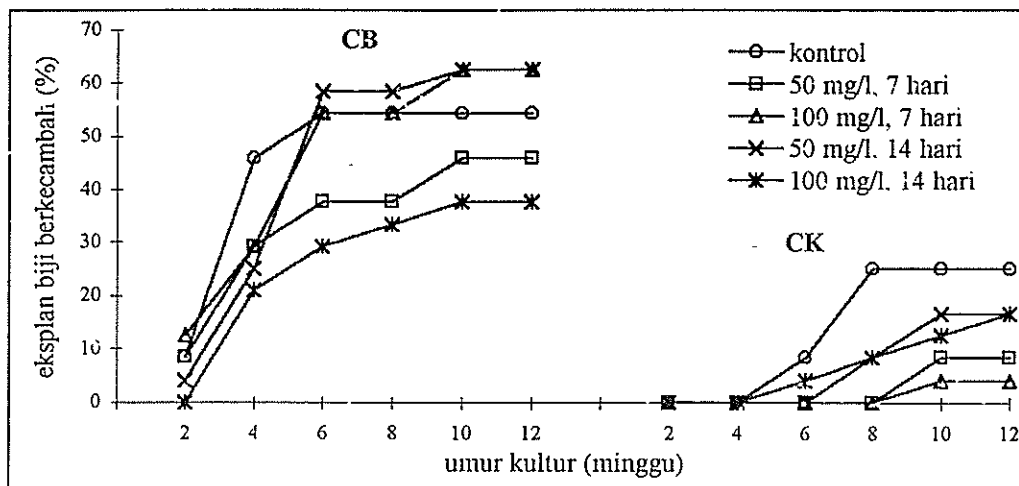
Pada cabai keriting semakin tinggi konsentrasi kolkisin yang diberikan semakin rendah persen-

tase perkecambahan biji (Gambar 9). Hasil ini sesuai dengan Ping dan Peffley (1997). Pada cabai besar tidak memperlihatkan hasil yang konsisten.

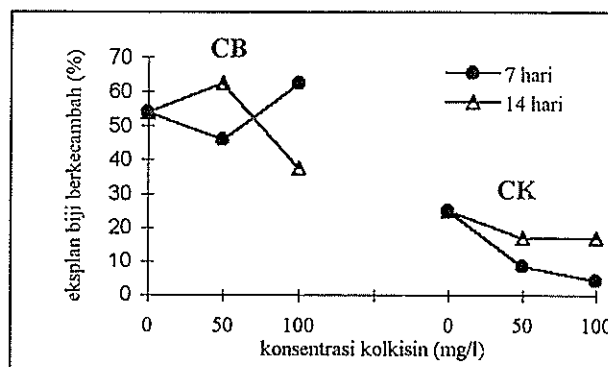
Lama waktu perlakuan tidak berpengaruh terhadap persentase perkecambahan tetapi berpengaruh terhadap pertumbuhan tanaman. Perkembangan akar pada perlakuan 14 hari lebih lambat dibandingkan perlakuan selama 7 hari (Lampiran



@Hak cipta milik IPB University



Gambar 8. Pengaruh penambahan kolkisin pada media terhadap perkecambahan cabai besar (CB) dan cabai keriting (CK).



Gambar 9. Pengaruh konsentrasi kolkisin yang ditambahkan pada media terhadap perkecambahan biji cabai besar (CB) dan cabai keriting (CK) pada umur 12 mst.

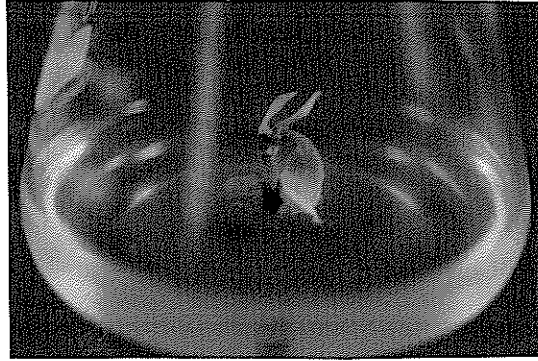
4). Beberapa tanaman dengan perlakuan kolkisin, tidak membentuk akai dan mati (Gambar 10).

tanaman diperoleh tipe daun diploid dan tetraploid sekaligus.

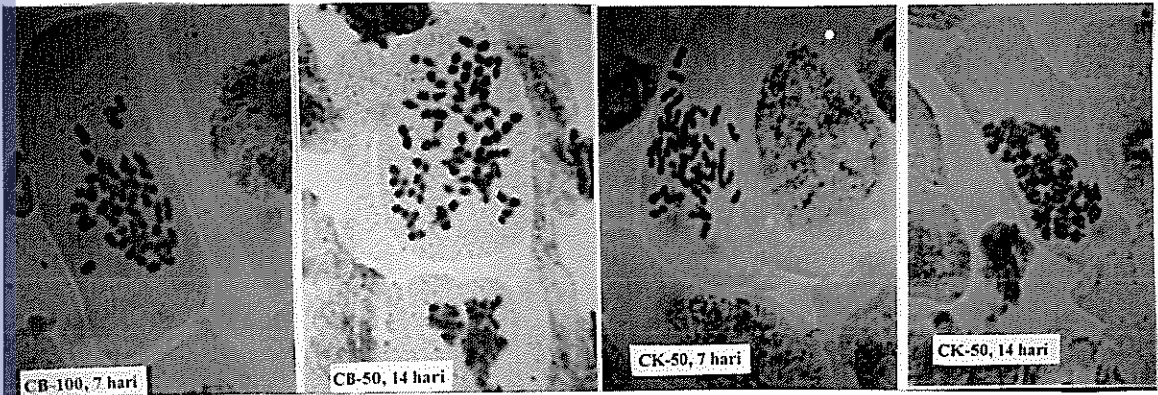
Berdasarkan pengamatan kromosom diperoleh bahwa perlakuan 100 mg/l selama 7 hari dan 50 mg/l selama 14 hari pada cabai besar dan 50 mg/l selama 7 hari dan 14 hari pada cabai keriting mampu menginduksi penggandaan jumlah kromosom cabai dari diploid menjadi tetraploid (Gambar 11 - Lampiran 5). Pada cabai besar perlakuan 100 mg/l kolkisin selama 7 hari ditemukan adanya kimera (Gambar 12). Peristiwa ini pernah dilaporkan oleh Arisumi (1964) dimana dari satu



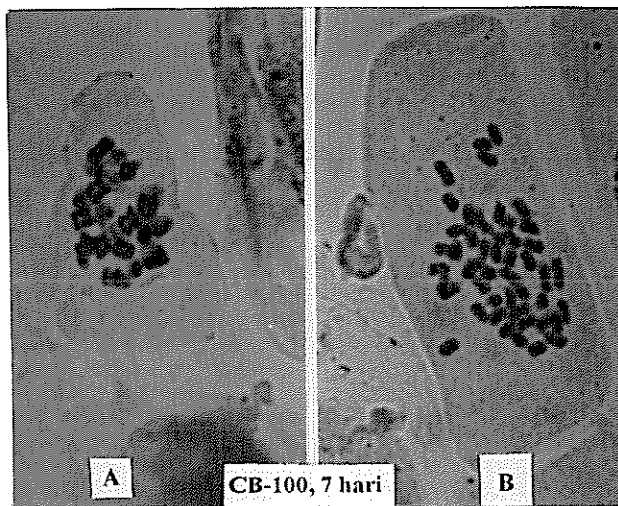
@Hak cipta milik IPB University



Gambar 10. Penampakan tanaman cabai besar (CB) pada umur 17 mst yang berasal dari biji yang ditanam selama 14 hari di dalam media yang mengandung 50 mg/l kolkisin.



Gambar 11. Sel-sel tetraploid pada cabai besar (CB) dan cabai keriting (CK) hasil penambahan kolkisin pada media tumbuh (perbesaran 1000 ×).



Gambar 12. Sel dengan jumlah kromosom berbeda dari akar yang berbeda dari tanaman yang sama pada cabai besar (CB) hasil penambahan 100 mg/l kolkisin ke dalam media selama 7 hari: (A) diploid, $2n = 24$, (B) tetraploid, $2n = 48$ (perbesaran 1600 ×).



KESIMPULAN

Penetasan 0.1% kolkisin pada bagian calon tunas lateral tanaman cabai keriting dan cabai besar telah mampu menginduksi cabai diploid menjadi tetraploid.

Perlakuan perendaman biji muda kurang efektif untuk menggandakan jumlah kromosom cabai, karena hanya konsentrasi 10 g/l selama 4 jam yang dapat menggandakan jumlah kromosom cabai. Sedangkan penanaman biji di dalam media yang mengandung 100 mg/l kolkisin dengan lama perlakuan 7 hari atau 50 mg/l dengan lama perlakuan 14 hari lebih efektif menggandakan jumlah kromosom cabai dari diploid menjadi tetraploid.

SARAN

Untuk penerapan induksi penggandaan jumlah kromosom pada tanaman haploid dengan perlakuan penetasan larutan kolkisin secara *in vivo* cukup menggunakan konsentrasi 1%. Sedangkan perlakuan secara *in vitro* disarankan menggunakan perlakuan penambahan kolkisin pada media kultur dengan konsentrasi 50 mg/l selama 14 hari.

DAFTAR PUSTAKA

- Arisumi, T.** 1964. Colchicine-induced tetraploid and cytochimeral daylilies. *J. Hered.* 55:255-258.
- Barrino, E.M. & W. Powell.** 1988. Stomatal guard cell length as an indicator of ploidy in microspore-derived plants of barley. *Genome* 30:158-160.
- BPS.** 1996. Produksi Tanaman Sayuran dan Buah-buahan 1995. Biro Pusat Statistik, Jakarta.
- Chaudhari, H. K. & J. R. Barrow.** 1975. Identification of cotton haploids by stomatal chloroplast count techniques. *Corp Sci.* 15:760-762.
- Chunsheng, L. & M. P. Bridgen.** 1997. Chromosome doubling and fertility study of *Alostromeria aurea* x *A. caryophyllaea*. *Euphytica* 94:75-81.
- Eigsti, O. J. & P. Dustin, Jr.** 1957. Colchicine in Agriculture, Medicine, Biology and Chemistry. Iowa State College Press, Iowa.
- FAO.** 1996. FAO Yearbook: Production 1995. Food and Agriculture Organization (FAO) of The United Nations, Rome.
- Herbawati, N.** 1989. Studi morfologi dan anatomi guna mempelajari perubahan genetik kedelai varietas orba dan wilis akibat perlakuan kolkisin. Skripsi. Jurusan Biologi FMIPA IPB, Bogor.
- Jahier, J., A. M. Chevre, F. Eber, R. Delourme & A. M. Tanguy.** 1996. Techniques of Plant Cytogenetics. Science Publ. Inc., New Hampshire.
- Jensen, C. H.** 1983. Producing haploid plants by chromosome elimination. p.55-79. Di dalam *Cell and Tissue Culture Techniques For Cereal Crop Improvement*. Proceeding of A Workshop on Potential of Cell and Tissue Culture Techniques in The Improvement of Cereal Crops, Beijing.
- Karp, A.** 1991. Cytological techniques. p.C4:1-13. Di dalam K. Lindsey (Penyunting). *Plant Tissue Culture Manual*. Kluwer Academic Publ., Netherlands.
- Newcomer, E. H.** 1941. A colchicine induced tetraploid cosmos. *J. Hered.* 32:161-164.
- Ping, S. & E. B. Peffley.** 1997. Chromosome doubling of *Allium fistulosum* x *A. cepa* interspecific F1 hybrids through colchicine treatment of regenerating callus. *Euphytica* 93:257-262.
- Srivalli, T., N. Lakshmi & V. V. R. Rao.** 1995. Ploidy assessment using stomatal chloroplast number in Capsicum. *Capsicum and Eggplant Newsl.* 13:43-46.



Supena, E. D. J. & Suharsono. 1997. Pembentukan galur murni cabai (*Capsicum annum* L.) menggunakan teknik *in vitro* dan mutagenesis. Laporan Hibah Bersaing V/I. IPB, Bogor (tidak dipublikasikan).

Szarejko, L., M. Małuszynki, K. Polok & A. Kilian. 1991. Double haploids in the mutation breeding of selected crops, p:355-378. Proceeding of an International Symposium: Plant Mutation Breeding for Crop Improvement, vol.2. Vienna.

Tamura, M., R. Tao & A. Sugiura. 1996. Production of dodecaploid plants of Japanese persimmon (*Diosyros kaki* L.) by colchicine treatment of protoplasts. *Plant Cell Rep.* 15:470-473.

Tang, W. T. & C. C. Lin. 1963. Artificial induction and practical value of tetraploid soybean. *Bot. Bull. Acad. Sinica* 4:103-110.

Wan, Y., J. F. Petolino & J. M. Widholm. 1989. Efficient production of doubled haploid plants trough colchicine treatment of anther derived maize callus. *Theor. Appl. Genet.* 77:889-892.

@Hak cipta milik IPB University

IPB University



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengemukakan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



@Hak cipta milik IPB University

IPB University



IPB University
Bogor Indonesia

LAMPIRAN

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Lampiran 1. Komposisi Media Murashige and Skoog (MS)

Bahan Kimia	Konsentrasi (g/l)
<u>Hara makro</u>	
KNO ₃	190,0
NH ₄ NO ₃	165,0
CaCl ₂ ·2H ₂ O	88,0
MgSO ₄ ·7H ₂ O	74,0
KH ₂ PO ₄	34,0
<u>Hara mikro</u>	
MnSO ₄ ·4H ₂ O	22,3
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	8,6
H ₃ BO ₃	6,2
KI	0,83
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0,25
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0,025
CoCl ₂ ·6H ₂ O	0,025
<u>FeEDTA</u>	
FeSO ₄ ·7H ₂ O	12,45
Na ₂ EDTA·2H ₂ O	16,63
<u>Vitamin</u>	
Asam nikotinat	1
HCl piridoksin	1
HCl Tiamin	1
Mio Inositol	100
Sukrosa	30
Gel rite	2,5

Lampiran 2. Komposisi larutan fuelgen

Bahan : 0,9 g basic fuchsin
 4,8 g sodium metabisulfit
 250 ml 0,15 M HCl

Bahan dicampur di tabung erlenmeyer yang ditutup aluminium foil, dikocok selama 24 jam. Lima gram karbon aktif ditambahkan ke dalam larutan, dikocok dengan sempurna dan disaring. Perlakuan dengan karbon aktif diulangi hingga warna larutan berkurang. Larutan disimpan di tempat gelap pada suhu 4°C.

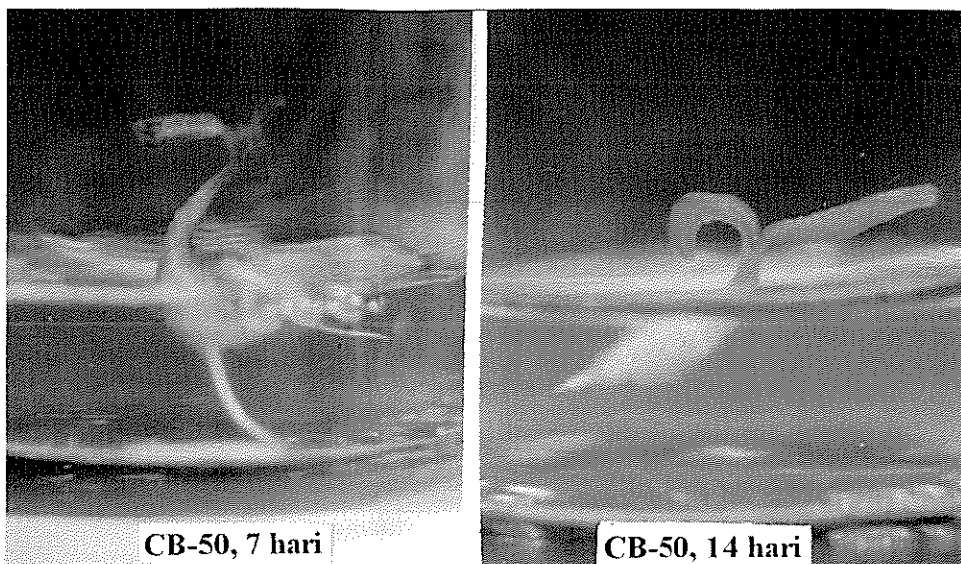


Lampiran 3. Jumlah tanaman berdasarkan tingkat ploidi hasil perlakuan perendaman biji cabai dalam larutan kolkisin

Konsentrasi kolkisin	jumlah yang tumbuh	jumlah yang berakar	teramati diploid	teramati tetraploid	tidak teramati*
Cabai Besar					
0 (kontrol)	4	4	0	0	4
1 gr/l, 2 jam	10	8	2	0	6
5 gr/l, 2 jam	13	9	3	0	6
10 gr/l, 2 jam	6	5	0	0	5
1 gr/l, 4 jam	8	6	2	0	4
5 gr/l, 4 jam	12	11	1	0	10
10 gr/l, 4 jam	2	2	0	0	2
Cabai Keriting					
0 (kontrol)	1	1	0	0	1
1 gr/l, 2 jam	1	1	0	0	1
5 gr/l, 2 jam	2	2	0	0	2
10 gr/l, 2 jam	1	1	0	0	1
1 gr/l, 4 jam	0	0	0	0	0
5 gr/l, 4 jam	1	0	0	0	0
10 gr/l, 4 jam	1	1	0	1	0

* Perikuan yang tidak teramati disebabkan karena :

- akar yang tidak berkembang sehingga tidak didapat akar muda yang aktif membelah,
- tidak diperoleh sel yang sedang membelah pada saat pengamatan, dan
- tidak dihasilkannya kromosom yang menyebar dengan baik sehingga tidak bisa dihitung.



Lampiran 4. Pengaruh lama waktu penanaman biji di dalam media yang mengandung 50 mg/l kolkisin terhadap pertumbuhan akar kecambah cabai besar (CB).

Lampiran 5. Jumlah tanaman berdasarkan tingkat ploidi hasil perlakuan dalam media kultur

Konsentrasi kolkisin dan lama inkubasi	jumlah yang tumbuh	jumlah yang berakar	teramati		tidak teramati
			diploid	tetraploid	
<u>Cabai Besar</u>					
0 (kontrol)	13	13	6	0	7
50 mg/l, 7 hari	12	10	2	0	8
100 mg/l, 7 hari	15	11	3	1*	8
50 mg/l, 14 hari	15	14	2	1	11
100 mg/l, 14 hari	9	8	0	0	8
<u>Cabai Keriting</u>					
0 (kontrol)	7	5	1	0	4
50 mg/l, 7 hari	2	2	0	1	1
100 mg/l, 7 hari	1	1	0	0	1
50 mg/l, 14 hari	5	5	0	1	4
100 mg/l, 14 hari	4	4	0	0	4

* kimera



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.