

The Role of Kolkisin in Multiplication of Planlet Banana Kepok Abu Poliploidi in Vitro

Peran Kolkisin dalam Multiplikasi Planlet Pisang Kepok Abu Poliploidi Secara *In Vitro*

Dewi Sartika¹, Rochmah Agustina¹, Eti Ernawati*¹, Bambang Irawan¹

¹Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Lampung
Jl. Prof. Soemantri Brojonegoro Gedong Meneng, Rajabasa, Bandar Lampung, 35141

*Correspondent Author: eti.ernawati@gmail.com

ABSTRACT

Bananas are one of the horticultural crops of the fruit group that have quite high social and economic value. One type of banana that is very popular is the pisang kepok. The main obstacle in pisang kepok production is the availability of seedlings. The above constraints can be overcome by propagation of banana seedlings using tissue culture techniques by adding colchicine to the tissue culture media. Colchicine is often used to improve plant quality. This study aims to determine the effect of adding colchicine to the media on the growth and formation of pisang kepok abu plantlet. The study was conducted from November 2019 - February 2020 at the MTC Laboratory, PT Great Giant Pineapple PG 4, East Lampung. The concentration of colchicine added to the media was 0.1%. The growth and development of plantlets produced from media with colchicine treatment will be compared with plantlets from the control group. The tests were repeated 10 times. The results showed that the growth and formation of pisang kepok abu plantlets from the treatment of colchicine were lower than the growth and formation of the pisang kepok plantlets in the control group.

Keywords : Pisang Kepok, Colchicine, Plantlet

ABSTRAK

Pisang merupakan salah satu tanaman hortikultura kelompok buah-buahan yang memiliki nilai sosial dan ekonomi yang cukup tinggi. Salah satu jenis pisang yang sangat disukai adalah pisang kepok. Kendala utama produksi pisang kepok adalah ketersediaan bibit tanaman. Kendala tersebut dapat diatasi dengan perbanyakan bibit pisang melalui teknik kultur jaringan dengan menambahkan senyawa kolkisin pada media kultur pisang kepok abu secara *in vitro*. Kolkisin merupakan salah satu senyawa yang sering digunakan untuk memperbaiki kualitas tanaman. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan kolkisin ke dalam media kultur jaringan terhadap pertumbuhan planlet pisang kepok abu. Penelitian dilakukan dari November 2019 - Februari 2020, di Laboratorium MTC, PT Great Giant Pineapple PG 4, Lampung Timur. Penelitian ini merupakan penelitian observasi dengan perlakuan kolkisin murni 0,1% dan tanpa pemberian 0% sebagai kontrol. Semua perlakuan diulang sebanyak 10 kali. Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif untuk membandingkan planlet yang diperoleh dari setiap perlakuan. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pertumbuhan dan pembentukan planlet pisang kepok abu pada perlakuan kolkisin lebih rendah dibandingkan pada perlakuan kontrol.

Kata Kunci : Pisang kepok, Kolkisin, Planlet

PENDAHULUAN

Sebagai salah satu tanaman hortikultura kelompok buah-buahan, pisang memiliki nilai sosial dan ekonomi yang cukup tinggi. Pisang kepok merupakan salah satu jenis pisang yang banyak dikonsumsi setelah diolah terlebih dahulu seperti digoreng dalam berbagai variasi, dibuat keripik, sirup, dan aneka olahan tradisional lainnya, serta dibuat tepung (Abdillah, 2010). Pisang kepok memiliki beberapa kultivar, setiap kultivar memiliki genom yang berbeda. Pisang kepok abu termasuk ke dalam jenis pisang triploid dengan jumlah kromosom 33 dan genom AAB (Nurhasanah, 2017).

Kolkisin merupakan senyawa yang sering digunakan untuk memperbaiki kualitas tanaman. Aplikasi kolkisin dapat diterapkan baik secara *in vivo* maupun *in vitro*. Kolkisin diketahui dapat menghambat tahap metafase pada proses mitosis, karena kolkisin mencegah polimerisasi tubulin menjadi mikrotubul yang berfungsi sebagai pengikat kromosom. Akibatnya pada tahap anafase, pemisahan kromosom pada mikrotubul ke kutub-kutub yang berlawanan tidak dapat berlangsung, dinding pemisah sel baru gagal terbentuk yang berarti pembelahan sel tidak terjadi. Kromosom dan duplikatnya tetap berada di dalam sel yang sama sehingga sel yang semula diploid menjadi sel tetraploid (Wiendra, 2011). Sulistianingsih *et al.* (2004), menjelaskan bahwa kolkisin bersifat sebagai zat penghambat pertumbuhan yang dapat menyebabkan terbentuknya poliploid yaitu organisme yang memiliki sel dengan tiga set atau lebih kromosom. Penelitian penggunaan kolkisin secara *in vitro* pada kultur jaringan temulawak menunjukkan adanya penghambatan pertumbuhan pada tinggi tunas, jumlah akar, dan jumlah daun planlet (Maghfirah *et al.*, 2018).

BAHAN DAN METODE

Waktu dan Tempat

Penelitian dilakukan dari Desember 2019 s/d April 2020, bertempat di Laboratorium MTC, PT. Great Giant Pineapple PG 4, Lampung Timur.

Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian observasi untuk melihat pembentukan dan pertumbuhan planlet pisang kepok abu dari media yang diberikan kolkisin 0,1% dan kontrol. Penelitian diulang setiap satuan 10 kali.

Persiapan Bahan Uji dan Alat

Alat yang digunakan adalah peralatan untuk kultur jaringan meliputi: scaple, botol kultur, kompor, *pH meter*, *sterilizer*, *autoclave*, *Laminar Air Flow*, *magnetic stirrer*, rak kultur, timbangan analitik, alat tulis kerja dan kamera. Bahan yang digunakan adalah bonggol pisang kepok abu diperoleh dari daerah sekitar Rajabasa. Bahan lainnya adalah kolkisin murni, media dasar MS (Murashige and Skoog) yang telah dimodifikasi dari PT. GGP (Great Giant Pineapple), larutan ZPT, larutan C (asam sitrat), alkohol, agar-agar, dan aquades.

Prosedur Kerja

Kolkisin yang digunakan adalah kolkisin murni. Larutan kolkisin 0,1% dibuat dengan cara melarutkan 0,032g kolkisin murni berbentuk kristal dalam aquades sampai volumenya mencapai 32 mL. Kolkisin 0,1% dihomogenkan dengan *magnetik stirrer*. Media kultur jaringan yang digunakan adalah media kultur jaringan yang telah disediakan oleh PT. GGP. Media yang telah siap pakai ditutup secara aseptis kemudian digoyangkan hingga tercampur dengan baik dan diberi label sesuai dengan kode perlakuan yang telah ditentukan. Media disterilisasikan selama 30 menit dalam *autoclave* pada suhu 121 °C dengan tekanan 2 atm lalu disimpan di dalam suhu ruang.

Preparasi Eksplan

Sumber eksplan adalah bonggol pisang kepok abu yang diperoleh dari tanaman di kebun warga. Bonggol pisang yang masih utuh dibersihkan dan dipotong-potong hingga diperoleh potongan bonggol dengan ukuran ± 2 cm. *Corm* kemudian direndam dalam alkohol 96% dalam toples steril. *Corm* kemudian dipindahkan ke dalam toples steril berisi larutan C (asam sitrat) dan dikocok-kocok dengan lembut selama sekitar 10 menit sampai diperkirakan

larutan asam sitrat meresap ke dalam corm secara merata. Perendaman dengan larutan C diulang kembali agar proses sterilisasi eksplan optimal. Kemudian *corm* yang berukuran 2 cm dibelah menjadi 4 bagian. Pemotongan eksplan dilakukan secara steril di dalam *Laminar Air Flow*.

Penanaman Eksplan dalam Media Kultur

Induksi pembentukan tunas dan akar planlet pisang kepok abu secara *in vitro* dilakukan dalam 5 tahap, yaitu tahap: pembentukan kalus (E2); pembentukan tunas (P0); pemanjangan tunas (P1 dan P2); dan pembentukan akar (*Rooting*).

Parameter yang diukur

Keberhasilan pertumbuhan planlet diukur melalui observasi terhadap parameter pertumbuhan tunas dan dilihat dari diferensiasi morfologi planlet dalam rentang 4 minggu untuk setiap tahapan dalam botol kultur jaringan. Parameter yang diamati yaitu: persentase kultur yang kontaminan, persentase eksplan hidup, jumlah tunas, tinggi tunas (cm), jumlah akar, panjang akar (cm), jumlah daun, dan luas daun (cm).

Analisis Data

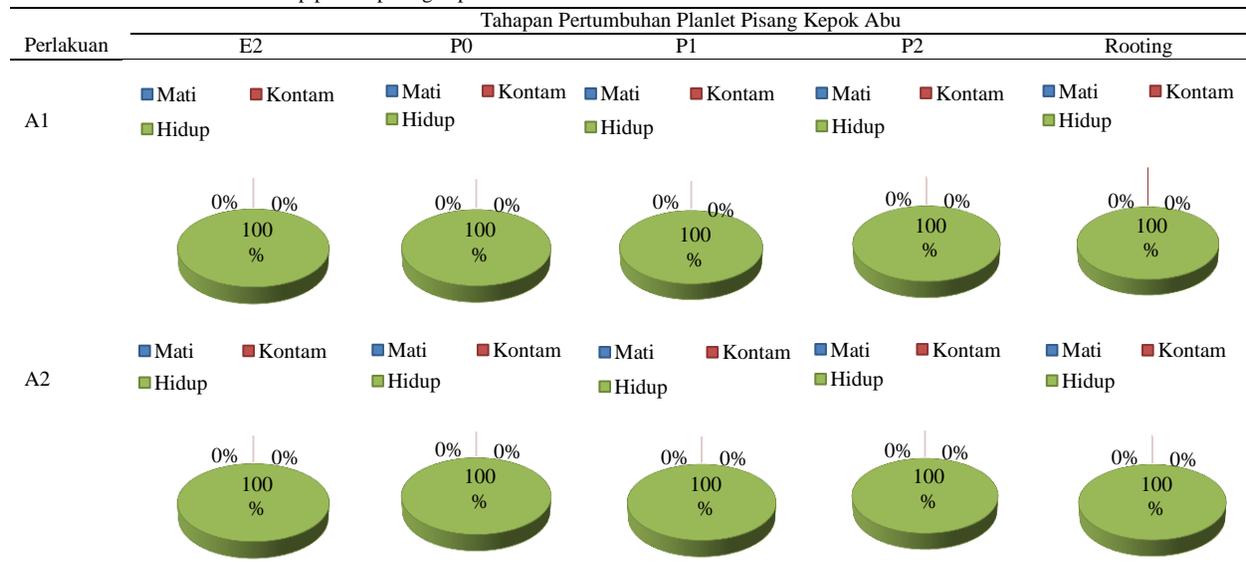
Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif untuk membandingkan planlet yang diperoleh dari setiap perlakuan kemudian akan dipersentasikan dalam bentuk diagram batang

HASIL DAN PEMBAHASAN

Persentase Eksplan Hidup

Hasil pengamatan persentase eksplan pisang kepok abu yang hidup akibat pengaruh penambahan kolkisin 0,1% ke dalam media kultur pada setiap tahapan pembentukan planlet dapat dilihat pada Tabel 1

Tabel 1. Persentase kelulusan hidup planlet pisang kepok abu



Keterangan: E2 : pembentukan kalus; P0 : pembentukan tunas; P1-P2 : pemanjangan tunas; Rooting: pertumbuhan akar dan daun

Hasil observasi pada eksplan pisang kepok abu yang hidup menunjukkan bahwa keberhasilan eksplan hidup pada perlakuan kontrol (A1) dan perlakuan kolkisin (A2) adalah 100%.

Diferensiasi Morfologi Eksplan Pisang Kepok Abu

Hasil pengamatan perkembangan eksplan pisang kepok abu berdasarkan hasil *skoring* dapat dilihat secara lengkap pada Tabel 2.

Tabel 2. *Skoring* diferensiasi morfologi eksplan pisang kepok abu

Ulangan	E2		P0		P1		P2		Rooting	
	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2
1	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
3			3	3	3	3	3	3	3	3
4			3	3	3	3	3	3	3	3
5					3	3	3	3	3	3
6					3	3	3	3	3	3
7					3	3	3	3	3	3
8					3	3	3	3	3	3
9					3	2	3	3	3	3
10					3	2	3	3	3	3

Keterangan: E2 : tahap pembentukan kalus; P0 : tahap pembentukan tunas; P1 : tahap pemanjangan tunas; P2 : tahap pemanjangan tunas; *Rooting* : tahap pembentukan akar; A1 : Kontrol; A2 : Kolkisin; 0 : Eksplan mati; 1 : Eksplan tetap segar tetapi tidak berkembang; 2 : Eksplan tetap segar dan berkembang; 3 : Eksplan tetap segar dan terbentuk tunas

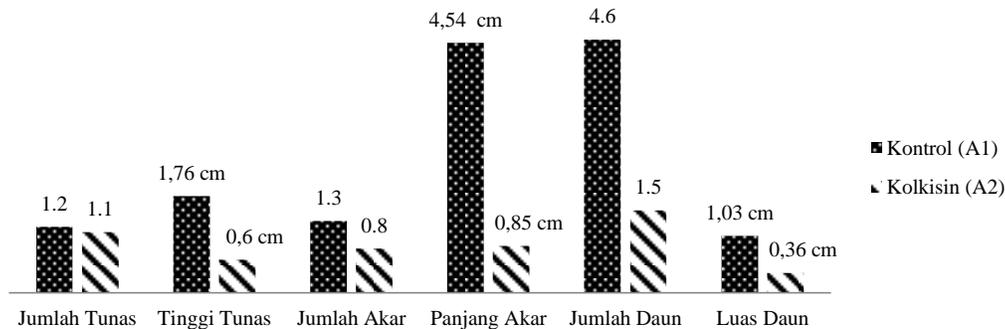
Berdasarkan hasil *skoring* diketahui bahwa pada perlakuan kontrol (A1) maupun pada perlakuan penambahan kolkisin (A3) menunjukkan adanya perkembangan morfologi yang baik. Semua eksplan tumbuh segar dengan membentuk tunas pada setiap tahapan, namun pada tahap P1 hasil perlakuan kolkisin (A3) terdapat dua sampel yang menunjukkan perlambatan pertumbuhan planlet dimana meskipun eksplan tetap segar namun tidak menghasilkan tunas. Penghambatan pertumbuhan planlet hasil perlakuan kolkisin diduga karena tanaman mengalami fase pemulihan yang lebih lama dibandingkan planlet dari perlakuan kontrol. Pertumbuhan yang lambat dan terbentuknya morfologi abnormal merupakan gejala yang umum terjadi pada tanaman yang diberi perlakuan kolkisin (Gambar 1). Hasil penelitian pada pertumbuhan planlet *Phalaenopsis* yang diberi perlakuan kolkisin menunjukkan pertumbuhan yang lebih lambat dari pada planlet kontrol. Pertumbuhan yang lebih lambat tersebut diduga sebagai akibat adanya penetrasi kolkisin ke dalam lapisan sel apikal sehingga mempengaruhi proses pembelahan sel (Griesbach, 1981).



Gambar 1. Planlet hasil perlakuan kontrol (A), perlakuan kolkisin (B)

Pertumbuhan Planlet Pisang Kepok Abu

Pertumbuhan planlet pisang kepok abu dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Rata-rata jumlah tunas, tinggi tunas, jumlah akar, panjang akar, jumlah daun, dan luas daun planlet pisang kepok abu

Gambar 2 dapat diketahui bahwa perlakuan kontrol (A1) ternyata menghasilkan rata-rata jumlah tunas, tinggi

tunas, jumlah akar, panjang akar, jumlah daun, dan luas daun lebih tinggi dibandingkan pada perlakuan kolkisin (A2). Perbedaan yang sangat tinggi terutama pada panjang akar dan jumlah daun. Jumlah tunas planlet hasil perlakuan kontrol dan perlakuan kolkisin relatif sama. Sedangkan tinggi planlet hasil perlakuan kontrol menghasilkan planlet yang lebih tinggi (1,76 cm) dibandingkan tinggi tunas planlet yang ditambah pada media hasil perlakuan kolkisin (0,6 cm). Hasil ini diduga karena konsentrasi kolkisin 0,1 % belum optimal untuk mendukung pertumbuhan planlet pisang kepok abu sehingga tidak dapat menghasilkan jumlah dan ukuran tunas yang lebih baik dari perlakuan kontrol. Perlakuan penambahan kolkisin 0,1 % menyebabkan pertumbuhan planlet lebih lambat terlihat pada jumlah dan ukuran tunas yang lebih sedikit, morfologi planlet abnormal yaitu planlet lebih pendek dan tampak seperti roset. Penampakan planlet seperti roset pada kultur pisang kepok abu diduga karena kolkisin berperan sebagai zat penghambat pertumbuhan. Sulistianingsih *et al.* (2004), menjelaskan pula bahwa kolkisin bersifat sebagai zat penghambat pertumbuhan yang dapat menyebabkan terbentuknya poliploid, yaitu organisme yang memiliki sel dengan tiga set atau lebih kromosom. Hasil yang diperoleh dalam penelitian ini memiliki kesamaan dengan hasil sebelumnya pada penelitian induksi poliploid beberapa tanaman yang sensitif terhadap kolkisin. Rauf *et al.* (2006), menyatakan kolkisin 0,1 % dapat menurunkan pertumbuhan tinggi tanaman kapas dibandingkan dengan kontrolnya. Namun demikian, efek penghambatan pertumbuhan tersebut diimbangi dengan adanya beberapa kelebihan tanaman poliploid yang terbentuk. Menurut Dounias (2008) kelebihan tanaman poliploid yaitu: selnya lebih besar, tanaman lebih tinggi, daun lebih lebar, buah lebih besar, produksi lebih tinggi, dan lebih tahan terhadap serangan penyakit.

Sama halnya dengan tunas, jumlah akar planlet yang dihasilkan pada perlakuan kontrol lebih banyak dibandingkan jumlah akar planlet hasil perlakuan kolkisin (Gambar 2). Tinggi akar planlet hasil perlakuan kontrol (4,54 cm) lebih tinggi dibandingkan tinggi akar planlet hasil perlakuan kolkisin (0,85 cm). Rendahnya jumlah dan tinggi akar yang dihasilkan dari perlakuan kolkisin menunjukkan bahwa kolkisin menyebabkan pembentukan akar menjadi lama. Hasil ini didukung oleh pendapat Fajrina *et al.* (2012), menyatakan bahwa perlakuan kolkisin menyebabkan rentang waktu inisiasi akar menjadi lebih panjang. Apabila kolkisin diberikan dalam konsentrasi yang tepat dapat meningkatkan pertumbuhan pada eksplan. Yulianti (2015) juga berpendapat bahwa pemberian kolkisin pada konsentrasi yang tepat dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman karena mampu bersinergi dengan hormon pertumbuhan, sehingga memacu pertumbuhan tanaman.

Seperti juga pada akar, jumlah daun pada planlet yang dihasilkan dari perlakuan kolkisin lebih sedikit (1,5) dibandingkan dengan jumlah daun pada planlet hasil perlakuan kontrol (4,6). Luas daun pada planlet hasil perlakuan kolkisin (0,36 cm) lebih kecil dibandingkan dengan luas daun pada planlet hasil perlakuan kontrol (1,03 cm). Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan kolkisin dapat menghambat pertumbuhan jumlah dan luas daun pada tanaman pisang kepok abu. Pemberian kolkisin memberikan pengaruh terhadap penurunan jumlah daun. Penurunan jumlah daun diduga sebagai akibat adanya poliploidi pada planlet sehingga pertumbuhan planlet lebih lambat dibandingkan tanaman kontrol. Pembelahan sel yang lambat akibat pemberian kolkisin dapat menyebabkan pembentukan dan perkembangan primordial daun yang lambat (Haryanti *et al.*, 2009).

Kolkisin bersifat sebagai racun dapat mengganggu proses mitosis yang terjadi di dalam sel. Mutasi akibat kolkisin tidak hanya memberikan dampak perubahan jumlah dan ukuran daun yang lebih kecil dibandingkan kontrolnya, namun juga dapat berdampak pada penyusutan ukuran daun (Herman *et al.*, 2013). Daun yang dihasilkan dari perlakuan kolkisin menunjukkan ciri daun-daun yang baru menebal, berwarna lebih hijau, serta planlet berukuran pendek. Kondisi ini diduga ada kaitannya dengan sifat ploidi. Jaringan poliploid diduga mengandung lebih banyak klorofil sehingga warna daun terlihat lebih hijau. Tanaman yang diberi zat kimia kolkisin akan memiliki ukuran daun lebih besar. Namun pada penelitian ini, tanaman yang diberi kolkisin menunjukkan jumlah daun yang lebih sedikit serta luas daun lebih kecil jika dibandingkan dengan kontrolnya. Hal ini diduga karena perubahan morfologi pada tanaman akibat pemberian kolkisin sangat bervariasi.

SIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan bahwa pertumbuhan dan pembentukan planlet pisang kepok abu pada media yang ditambah kolkisin 0,1 % lebih rendah dibandingkan pada media dengan perlakuan kontrol.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdillah, F.**, 2010. Modifikasi Tepung Pisang Tanduk (*Musa paradisiaca Formatypica*) Melalui Proses Fermentasi Spontan dan Pemanasan Otoklaf untuk Meningkatkan Kadar Pati Resisten. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Damayanti, F., Mariska, I.**, 2003. Induksi Poliploidi dengan Kolkisin pada Hibrid F1 hasil persilangan antar spesies pada tanaman panili asal ciamis. *Berita Biologi*, 6(4)
- Dounias, E.**, 2008. *Gloriosa superba* L. Protologue Sp. Pl. 1 : 305 (1753).
- Fajrina, A., Idris, M., Mansyurdin., Surya, N.**, 2012. Penggandaan Kromosom dan Pertumbuhan Somaklonal Andalas (*Morus macroura* Miq. Var *macroura*) yang Diperlakukan dengan Kolkhisin. *Jurnal Biologi Universitas Andalas*. 1(1)
- Griesbach, R.J.**, 1985. Polyploidy in *Phalaenopsis* orchid improvement. *The Journal of Heredity* 76:74-75.
- Haryanti, S., Hastuti, R.B., Setiari, N., Banowo, A.**, 2009. Pengaruh Kolkisin Terhadap Pertumbuhan, Ukuran Sel Metafase dan Kandungan Protein Biji Tanaman Kacang Hijau (*Vigna radiata* (L.) Wilczek). *Jurnal Penelitian Sains & Teknologi*, 10(2): 112 – 120.
- Herman., Malaum I.N., Roslim, D.I.**, 2013. Pengaruh Mutagen Kolkisin Pada Biji kacang Hijau (*Vigna radiata* L.) Terhadap Jumlah Kromosom dan Pertumbuhan. *J. BioETI.* : 13-20.
- Maghfirah., Rofiq, M., Nihayati, E.**, 2018. Pengaruh Pemberian Kolkisin Terhadap Keragaman Pertumbuhan Dua Klon Temulawak (*Curcuma xathorriza* Roxb.) Secara In Vitro. *Jurnal Produksi Tanaman*, 6(6): 1000 -1004.
- Nurhasanah, E.**, 2017. Biodiversitas Plasma Nutfah Pisang (*Musa* spp.) Berdasarkan Jumlah Kromosom dan Tipe Genom di Kota Bandar Lampung. *Skripsi*. FMIPA. Universitas Lampung.
- Rauf, S., Khan, I.A., Khan, F.A.**, 2006. Colchicine-induced tetraploidy and changes in allele frequencies in colchicine-treated populations of diploid assessed with RAPD markers in *Gossypium arboreum* L. *Turkey Journal of Biology*, 30:93-100.
- Sulistianingsih, R., Suyanto Z.A., Anggia, N.E.** 2004. Peningkatan Kualitas Anggrek *Dendrobium hibrida* dengan Pemberian Kolkhisin. *J. Ilmu Pertanian*, 11 (1): 13-21.
- Wiendra, N.M.S., Pharmawati, M., Astuti, N.P.A.**, 2011. Pemberian Kolkhisin dengan Lama Perendaman Berbeda Pada Induksi Poliploidi Tanaman Pacar Air (*Impatiens balsamina* L.). *Jurnal Biologi*, XV(1): 9-14.
- Yulianti, F., Purwito, A., Husni, A., Dinarti, D.**, 2015. Induksi Tetraploid Tunas Pucuk Jeruk Siam Simadu (*Citrus nobilis* Lour) menggunakan Kolkisin secara *In Vitro*. *Jurnal Agronomi Indonesia*, 43(1):66-71.