Karakter Morfologi dan Sitologi Tanaman Bawang Daun (*Allium fistulosum* L.) Hasil Induksi Kolkisina pada Generasi Vegetatif Kedua

Morphological and Sitological Characters of Bunching Onion (Allium fistulosum L.) Resulted by Colchicine Induced in Second Vegetative Generation

Anisa Wulan Asri¹, Endang Sulistyaningsih², dan Rudi Hari Murti²

ABSTRACT

Morphological and sitological characters of bunching onion (Allium fistulosum L.) resulted by colchicine induced in second vegetative generation and between aneuploid bunching onion and diploid bunching onion were studied. Research conducted at nursery house, Agriculture Faculty, Universitas Gadjah Mada at Crop Science Laboratory from October 2012 to December 2012. Plant materials were 119 bunching onion accesions, divided by 2, Fragrant (76 accesions) and Lambau (43 accesion) with unequal replications (between 1 to 7). which are arranged in a completely randomized design. Data were analyzed by analysis of orthogonal contrasts with the 95% confidence level. The result showed that there were are 2 accessions had chromosome number 2n+1 = 17and there was one accession had a chromosome number of 2n+2 = 18. Fragrant had 1 aneuploid plant and Lambau had 2 aneuploid plants. In the second vegetative generation, plant height and diameter of Fragrant were greater than those of in Lambau. Aneuploid Fragrant had a greater stem diameter, shorter roots than those of in diploid Fragrant. Aneuploid Lambau had the same morphological characters with Lambau diploid plants. Stomatal characters were unable to distinguish between aneuploid and diploid plants.

Keywords: Allium fistulosum L., bunching onion, colchicine, aneuploidy

INTISARI

Salah satu cara untuk meningkatkan keragaman genetik tanaman bawang daun adalah dengan induksi poliploid dengan kolkisina. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakter morfologi dan sitologi tanaman bawang daun (Allium fistulosum L.) hasil induksi kolkisina vegetatif kedua dan mengetahui perbandingan karakter morfologi dan sitologi pada tanaman bawang daun (Allium fistulosum L.) aneuploid dengan diploid. Penelitian dilakukan pada bulan Oktober 2012 hingga Desember 2012 di rumah kawat, Fakultas Pertanian, Universitas Gadiah Mada dan di Laboratorium Ilmu Tanaman. Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada. Bahan tanam yang digunakan adalah tanaman bawang daun sejumlah 119 nomor tanaman yang terdiri dari 2 kultivar yaitu kultivar Fragrant berjumlah 76 nomor dan kultivar Lambau berjumlah 43 nomor dengan ulangan tak sama, yang disusun dalam Rancangan Acak Lengkap. Data dianalisis dengan analisis kontras ortogonal dengan tingkat kepercayaan 95%. Dari penelitian diperoleh 2 nomor yang memiliki jumlah kromosom 2n+1 = 17 dan terdapat 1 nomor yang memiliki jumlah kromosom 2n +2 =18. Kultivar Fragrant memiliki 1 nomor tanaman aneuploid dan 2 nomor tanaman lainnya berasal dari kultivar Lambau. Pada vegetatif kedua, tanaman bawang daun Fragrant memiliki tinggi tanaman dan diameter batang yang lebih

¹Alumni Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

²Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

besar daripada kultivar Lambau. Tanaman bawang aneuploid Fragrant memiliki diameter batang lebih besar, akar yang lebih pendek dibandingkan tanaman diploid Fragrant. Tanaman bawang daun Lambau aneuploid memiliki karakter morfologi yang sama dengan tanaman bawang Lambau diploid. Karakter stomata tidak dapat untuk membedakan tanaman aneuploid dan diploid.

Kata kunci : Allium fistulosum L., bawang daun, kolkisina, aneuploidi

PENDAHULUAN

Tanaman bawang daun (*Allium fistulosum* L.) merupakan salah satu komoditas hortikultura yang berasal dari kawasan Asia Tenggara. Di Indonesia, tanaman yang dikenal dengan nama 'loncang' ataupun 'muncang' ini biasa digunakan masyarakat sebagai bahan untuk memasak karena memberikan aroma yang harum dan rasa yang enak. Bawang daun potensial dan layak dikembangkan secara intensif dalam skala agribisnis. Selain teknik budidaya yang optimal, cara meningkatkan produktivitas tanaman ini adalah melalui program pemuliaan tanaman.

Mangoendidjojo (2003) menyatakan bahwa pelaksanaan pemuliaan tanaman pada awalnya dilakukan dengan metode yang sangat sederhana, kemudian berkembang seiring dengan kemajuan ilmu dan teknologi. Pada dasarnya, pemuliaan tanaman dapat dilakukan dengan: (1) melakukan pemilihan terhadap suatu populasi tanaman yang sudah ada, (2) melakukan kombinasi sifat-sifat yang diinginkan (secara generatif dan vegetatif), (3) melakukan penggandaan kromosom dan/atau mutasi sebelum melakukan pemilihan, dan (4) melalui rekayasa genetika.

Dalam bidang pemuliaan tanaman, teknik mutasi dapat meningkatkan keragaman genetik tanaman sehingga memungkinkan pemulia melakukan seleksi genotipe tanaman sesuai dengan tujuan pemuliaan yang dikehendaki. Teknik mutasi buatan merupakan usaha mengubah susunan atau jumlah genetik/ DNA dengan menggunakan radiasi sinar radioaktif (sinar X, sinar alpha, sinar beta, dan sinar gamma) atau senyawa kimia. Berbagai mutagen kimia dapat menyebabkan jumlah mutasi yang lebih tinggi dibanding radiasi, namun hasil memuaskan tergantung pada konsentrasi, lama perlakuan, suhu, pH larutan mutagenik, dan kadar air mutan (Sofia, 2007). Salah satu contoh senyawa kimia yang dapat digunakan sebagai mutagen adalah kolkisina.

Kolkisina (C₂₂H₂₅O₆N) merupakan suatu alkaloid berwarna putih yang diperoleh dari umbi tanaman *Colchichum autumnale* L. (Familia *Liliaceae*). Senyawa ini dapat menghalangi terbentuknya benang-benang spindel pada pembelahan sel sehingga menyebabkan terbentuknya individu poliploidi (Eigsti dan Dustin, 1957). Kolkisina yang diaplikasikan pada biji atau bibit yang sedang berkecambah terserap melalui tunas atau akar. Hanya sebagian saja dari keseluruhan sel tanaman yang mengalami penggandaan kromosom, karena tidak semua sel berada dalam keadaan pembelahan aktif pada waktu yang sama. Mutasi akan menghasilkan kimera, yaitu dimana keturunan-keturunan selsel mutan dan sel-sel normal akan menghasilkan jaringan genotipe yang berbeda (Nasir, 2002).

Pada penelitian ini dilakukan pengamatan sitologi dan morfologi pada tanaman generasi vegetatif kedua. Evaluasi karakter sitologi didasarkan pada pengamatan jumlah kromosom, panjang stomata, lebar stomata, dan kerapatan stomata. Evaluasi karakter morfologi didasarkan pada pengamatan tinggi tanaman, jumlah daun, warna daun, diameter batang, panjang akar, dan berat segar.

BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu tanaman bawang daun sejumlah 119 nomor, aquades, kertas saring, kertas label, plastik, pasir, pupuk kompos,insektisida, bakterisida, fungisida. Sedangkan alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain gelas ukur, petridish, pinset, *pottray*, *polybag* ukuran 30 cm x 25 cm, ember, sprayer, gembor, cetok, gelas (wadah), selang air, penggaris, label, jangka sorong, SPAD, *object glass, deglass, waterbath*, timbangan analitik, timbangan elektrik, kamera, mikroskop, optilab (edisi *upgrade advance*), penggaris, serta alat tulis.

Penelitian ini dilakukan di rumah kawat, Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada (Oktober 2012). Pada tahapan ini, dilakukan penanaman serta pemeliharaan tanaman bawang daun. Selain itu penelitian ini juga dilakukan di Laboratorium Ilmu Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada (Desember 2012). Terdapat dua tahapan yang dilakukan dalam laboratorium ini. Pertama, pengamatan sitologi (jumlah kromosom, ukuran sel epidermis, ukuran

stomata, dan kerapatan stomata). Kedua, pengamatan morfologi (tinggi tanaman, jumlah daun, warna daun, diameter batang).

Penelitian ini menggunakan bahan tanam bawang daun sejumlah 119 nomor tanaman yang terdiri dari 2 kultivar yaitu kultivar Fragrant berjumlah 76 nomor dan kultivar Lambau berjumlah 43 nomor dengan ulangan tak sama (antara 1 sampai 7), yang disusun dalam Rancangan Acak Lengkap.

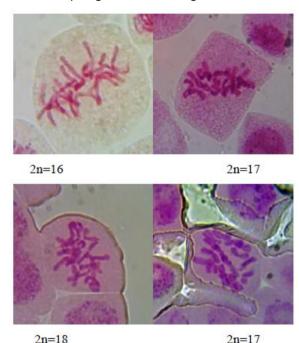
Pengamatan jumlah kromosom bawang daun dilakukan saat umur tanaman mulai memasuki umur 8 minggu. Caranya yaitu dengan memanen akar tanaman bawang daun. Akar yang baik adalah akar yang berwarna putih dan pada bagian ujungnya (sepanjang 2 mm - 3 mm) agak berbeda warna. Sampel ujung akar ± 1 cm dimasukkan ke dalam larutan fiksatif yaitu campuran alkohol: asam asetat glasial (3:1). Menurut Mac Gregor dan Varley (1983) larutan fikastif dapat didapat dengan mencampurkan asam asetat glasial dengan etanol ataupun methanol. Asam asetat glasial yang dicampur dengan methanol menghasilkan fiksatif yang lebih kuat. Setelah akar terfiksasi, akar tanaman bawang daun dihidrolisis dengan HCL 1N selama 7 menit dalam waterbath dengan suhu 60°C. Tujuan dari hidrolisis adalah melunakkan jaringan agar mudah dipencet di kaca objek. Kemudian pewarnaan (staining) kromosom menggunakan larutan fuchsin. Akar yang telah terwarnai kemudian diberi setetes larutan asam asetat 45% kemudian di-squeeze. Preparat yang sudah jadi harus langsung diamati untuk mendapatkan gambar terbaik, lalu diambil menggunakan kamera optilab.

Pembuatan preparat dilakukan dengan cara mengoleskan cat kuku bening pada lapisan luar tanaman daun, selanjutnya ditempelkan selotip pada bagian daun yang telah diolesi cat kuku bening tersebut. Setelah 15 menit, selotip yang telah menempel pada cat kuku yang telah mengering dibuka dan ditempelkan pada *object glass*. Preparat tersebut kemudian diamati dibawah mikroskop.

Data yang dianalisis terdiri atas data hasil pengamatan pada pertanaman vegetatif kedua. Data pada pertanaman kedua dianalisis dengan analisis kontras ortogonal dengan tingkat kepercayaan 95%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tanaman bawang daun diamati dan dipilah berdasarkan jumlah kromosomnya. Pengamatan yang dilakukan meliputi pengamatan morfologi tanaman bawang daun dan pengamatan sitologi.



Gambar 1. Kromosom yang diamati pada perbesaran 1000x

Fase yang paling tepat untuk mengamati kromosom adalah metafase dimana letak kromosom tersebar dan mudah dihitung. Jumlah kromosom bawang daun (*Allium fistulosum*) yaitu 2n=16 (diploid) dimana satu set kromosom terdiri atas 2 kromosom homolog.

Chahal and Gosal (2002), menyatakan bahwa poliploidi dapat dibedakan atas euploid dan aneuploid. Pada kondisi euploid, jumlah kromosom merupakan kelipatan kromosom dasar (x), dapat secara autopoliploid. Variasi euploid yang dapat terjadi antara lain triploid (3x), tetraploid (4x), pentaploid (5x), heksaploid (6x), septaploid (7x), oktaploid (8x) dan seterusnya. Berdasarkan Tabel 4.1 terdapat 3 nomor tanaman aneuploid yang teramati. Terdapat 2 nomor yang memiliki jumlah kromosom 2n=17 dan terdapat 1 nomor yang memiliki jumlah kromosom 2n=18. Dari kultivar Fragrant memiliki 1 nomor tanaman aneuploid dan 2 nomor tanaman lainnya berasal dari kultivar Lambau. Masing-masing nomor tanaman aneuploid memiliki 3 ulangan.

Aneuploid mengacu pada ketidak seimbangan kromosom baik itu mengalami kelebihan maupun pengurangan dari diploid normalnya. Kelebihan kromosom dapat menghasilkan trisomi, tetrasomi, atau bahkan level aneuploidi yang lebih tinggi lagi (Papp et al., 1996; Toress et al., 2008).

Asal usul aneuploid adalah *nondisjunction* dari salah satu pasang kromosom homolog. Perbedaan jumlah kromosom tersebut akan terekspresikan pada beberapa karakter morfologi dan sitologi tanaman sehingga perlu dilakukan analisis terhadap karakter-karakter tersebut pada individu aneuploid.

Perubahan karakter sitologi dan morfologi tanaman dapat terjadi akibat adanya perubahan jumlah kromosom dikarenakan penggunaan kolkisina meskipun tidak mengalami poliploidisasi, sehingga perlu dilakukan analisis karakter sitologi maupun morfologi tanaman yang tidak mengalami poliploidisasi dan hasilnya dibandingkan dengan diploidnya.

Tabel 1. Morfologi Tanaman Bawang Daun

Tabel 1. Morrologi Tahaman Bawang Baan									
Kultivar	Kromosom	Tinggi Tanaman (cm)	Jumlah Daun	Diameter Batang (cm)	Panjang Akar (cm)	Berat Segar (g)	Warna Daun		
Fragrant	2n	57,59	3,82	0,38	22,98	43,14	53,47		
	2n+1	52,13	4,67	0,98	13,83	36,76	58,13		
	Rerata	54,86	4,24	0,68	18,41	39,95	55,80		
Lambau	2n	52,51	3,83	0,37	17,62	32,62	49,56		
	2n+1	34,53	3,67	0,42	15,00	10,86	54,13		
	2n+2	54,60	4,33	0,40	20,17	64,85	62,37		
	Rerata	47,21	3,94	0,40	17,60	36,11	55,35		
Perbandingar	า								
Fragrant vs Lambau		*	ns	*	ns	ns	ns		
Fragrant Diploid vs Fragrant Aneuploid		ns	ns	*	*	ns	ns		
Lambau Diploid vs Lambau Aneuploid		ns	ns	ns	ns	ns	ns		
Lambau Trisomi vs Lambau Tetrasomi		*	ns	ns	ns	*	ns		

Keterangan: tanda * menunjukkan ada beda nyata, ns = tidak berbeda nyata berdasarkan uji kontras (α = 5 %)

Tanaman bawang daun kultivar Fragrant memiliki tanaman lebih tinggi dibandingkan kultivar Lambau. Dilihat dari analisis kontras, dapat disimpulkan bahwa ada beda nyata antara tinggi tanaman bawang daun kultivar Fragrant dengan kultivar Lambau. Tanaman diploid dengan tanaman aneuploid tidak berbeda nyata baik tanaman bawang daun kultivar Fragrant ataupun kultivar Lambau. Tanaman aneuploid trisomi berbeda nyata dengan tetrasomi pada kultivar Lambau. Tanaman trisomi bawang daun lebih pendek dibandingkan dengan tanaman tetrasomi. Hal ini menunjukkan tanaman tetrasomi pada bawang daun yang diteliti tidak mengalami hambatan pertumbuhan khususnya

dalam tinggi tanaman, bahkan lebih tinggi daripada tanaman diploid. Tanaman trisomi pada bawang daun mengalami hambatan pertumbuhan sehingga tanamannya pendek.

Hal ini dapat dijelaskan dengan hipotesis keseimbangan gen, dimana ketidak seimbangan dosis dari gen yang mengkode pengaturan molekul pada kromosom yang berbeda mengganggu stokiometri dalam kompleks multi protein dan mengganggu proses-proses seluler (Birchler and Veitia 2007).

Jumlah daun, dapat disimpulkan tidak ada perbedaan yang nyata baik itu dilihat dari kultivarnya maupun dari ploidinya. Hal ini menunjukkan bahwa tanaman aneuploid bawang daun yang diteliti tidak mengalami hambatan terhadap jumlah daun.

Diameter kultivar Fragrant nyata lebih besar dibandingkan tanaman bawang daun kultivar Lambau. Selain itu ada beda nyata antara tanaman diploid dengan tanaman aneuploid kultivar Fragrant. Tanaman aneuploid kultivar Fragrant memiliki diameter yang lebih besar dibandingkan diameter tanaman diploidnya. Tanaman Fragrant aneuploid memiliki satu kromosom tambahan. Dimungkinkan kromosom tambahan ini memiliki peranan tertentu yang menguntungkan pada pertumbuhan diameter batang.

Panjang akar tanaman aneuploid bawang daun kultivar Fragrant berbeda nyata dengan panjang akar tanaman diploidnya. Akar tanaman diploid lebih panjang dibandingkan dengan tanaman aneuploidnya. Tanaman trisomi tumbuh lebih lambat daripada tanaman euploidnya, dan tidak dapat berkompetisi dengan tipe liar yang telah dibudidayakan. Buruknya kenampakan tanaman aneuploid dapat terjadi karena beberapa hal, ketidak seimbangan protein bisa menjadi sebab utama (terkait dengan adanya penambahan jumlah kromosom).

Tidak terdapat beda nyata berat segar tanaman bawang daun kultivar Fragrant dengan berat segar kultivar Lambau. Berat segar trisomi beda nyata dengan tetrasomi tanaman Lambau. Hal ini menunjukkan tanaman trisomi mengalami hambatan dalam pertumbuhan. Tanaman aneuploid (tetrasomi dan trisomi) tidak berbeda nyata dengan tanaman diploidnya.

Daun yang lebih hijau diduga memiliki kandungan klorofil yang lebih tinggi. Daun yang memiliki klorofil yang lebih tinggi diharapkan lebih efisien dalam proses fotosintesis. Tanaman bawang daun yang paling tinggi warna daunnya yaitu tanaman Lambau tetrasomi dan paling rendah Lambau diploid.

Namun berdasarkan analisis kontras dapat disimpulkan tidak ada perbedaan nyata antar kultivar maupun antar jumlah kromosom yang berbeda. Hal ini menunjukkan bahwa tanaman aneuploid bawang daun yang diteliti parameter pertumbuhan khususnya pada parameter warna daun sama dengan tanaman diploidnya.

Tabel 2. Rerata panjang stomata, lebar stomata dan densitas stomata tanaman bawang daun

tanaman bawang adam						
Kultivar	Kromosom	Panjang	Lebar	Densitas		
		Stomata	Stomata	Stomata		
	2n	22,15	5,27	84,36		
Fragrant	2n+1	19,41	4,13	122,33		
_	Rerata	20,78	4,70	103,35		
	2n	20,16	5,83	83,63		
Lambau	2n+1	20,63	2,93	95,33		
Lambau	2n+2	18,77	4,00	77,33		
	Rerata	19,85	4,25	85,43		
Perbandingan						
Fragrant vs Lambau		ns	ns	ns		
Fragrant Diploid vs	Fragrant Aneuploid	ns	ns	ns		
	Lambau Aneuploid	ns	ns	ns		
Lambau Trisomi vs	s Lambau Tetrasomi	ns	ns	ns		

Keterangan: tanda * menunjukkan ada beda nyata, ns = tidak berbeda nyata berdasarkan uji kontras (α = 5 %)

Panjang stomata, lebar stomata dan densitas tanaman bawang daun tidak menunjukan adanya perbedaan yang signifikan antara kultivar yang berbeda maupun kromosom yang berbeda. Hal ini berarti tidak ada perbedaan stomata antara kultivar Fragrant dan kultivar Lambau, dan juga tidak ada pengaruh perbedaan jumlah kromosom terhadap stomata tanaman bawang daun yang diamati.

KESIMPULAN

- 1. Pada vegetatif kedua, tanaman bawang daun Fragrant memiliki tinggi tanaman dan diameter batang yang lebih besar daripada kultivar Lambau.
- 2. Tanaman bawang aneuploid Fragrant memiliki diameter batang lebih besar, akar yang lebih pendek dibandingkan tanaman diploid Fragrant.
- Tanaman bawang daun Lambau aneuploid memiliki karakter morfologi yang sama dengan tanaman bawang Lambau diploid.
- Karakter stomata tidak dapat untuk membedakan tanaman aneuploid dan diploid.

UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada Dr. Ir. Endang Sulistyaningsih, M.Sc. yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian sekaligus membimbing tugas skripsi dan Dr. Rudi Hari Murti, S.P., M.P. yang telah berkenan menjadi Dosen Pendamping dalam membimbing skripsi tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

- Mangoendidjojo, W. 2003. Dasar-Dasar Pemuliaan Tanaman. Kanisius, Yogyakarta.
- McClintock, B., 1929 A cytological and genetical study of triploid maize. Genetics 14: 180–222.
- Nasir, M. 2002. Bioteknologi Molekuler, Teknik Rekayasa Genetik Tanaman. Penerbit P.T. Citra Aditya Bakti, Bandung.
- Sofia, D. 2007. Pengaruh konsentrasi dan lama waktu pemberian kolkisina terhadap pertumbuhan dan poliploid pada biji muda kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.)yang dikultur secara *in vitro*). Universitas Sumatera Utara. Tesis.
- Torres, E.M., Williams B.R., Amon A. 2008. Aneuploidy: Cells Losing Their Balance. Genetic Society of America 737-746