

KARIOTIPE KROMOSOM SALAK¹

THE KARYOTYPE OF SALAK CHROMOSOMES

Parjanto², Sukarti-Moeljopawiro³, W. T. Artama², dan Aziz-Purwantoro²

ABSTRACT

Cytogenetic studies of salak [*Salacca zalacca* (Gaertner) Voss.] are important in giving information about genetic aspect and for breeding program of the species. A karyotype analysis has been done using squash-aceto-orcein method. Shape and size of prometaphase chromosomes were successfully determined. The chromosomes length of salak were $1.15 \mu\text{m} - 2.38 \mu\text{m}$. The suggested karyotype formula of salak was $2n = 28 = 11 m + 1 m (\text{SAT}) + 2 sm$, which meant the disomic state was eleven pairs of metacentric chromosomes, single pair of metacentric chromosomes bearing satellite, and two pairs of submetacentric chromosomes. The intrachromosomal asymmetry index was 0.3 ± 0.03 , and the interchromosomal asymmetry index was 0.2 ± 0.02 . Some chromosome pairs had similar size and shape that were difficult to distinguish. Further identification using chromosomal banding is necessary to justify the result.

Key words: salak [*Salacca zalacca* (Gaertner) Voss.], chromosome, karyotype analysis.

INTISARI

Penelitian sitogenetika tanaman salak (*Salacca zalacca* [Gaertner] Voss) merupakan aspek penting dalam analisis genetika tanaman salak dan menunjang program pemuliaan untuk merakit kultivar salak unggul. Analisis kariotipe kromosom salak telah dilakukan dengan metode *squash* dan pewarnaan *aceto-orcein*. Dengan metode ini, pengamatan morfologi kromosom, yakni ukuran dan bentuk kromosom, dapat dilakukan dengan hasil baik pada stadia prometafase. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa panjang kromosom salak $1,15 \text{ mm} - 2,38 \text{ mm}$. Berdasarkan hasil analisis sifat morfologi kromosom, rumus kariotipe salak adalah $2n = 28 = 11 m + 1 m (\text{SAT}) + 2 sm$, yang berarti adalah sebelas pasang kromosom metasentrik, satu pasang kromosom metasentrik dengan satelit, dan dua pasang kromosom submetasentrik. Indeks asimetri kariotipe intrakromosom adalah $0,3 \pm 0,03$ dan indeks asimetri interkromosom adalah $0,2 \pm 0,02$. Beberapa pasangan kromosom salak mempunyai bentuk dan ukuran yang mirip sehingga sulit dibedakan. Identifikasi kromosom tanaman salak dengan teknik pemitaan kromosom (*chromosomal banding*) perlu dilakukan untuk mendukung hasil yang telah dicapai.

Kata kunci: salak, kromosom, analisis kariotipe.

¹ Bagian dari Penelitian untuk Disertasi Program Pascasarjana UGM

² Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret Surakarta.

³ Program Pasca Sarjana Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

PENDAHULUAN

Salak [*Salacca zalacca* (Gaertner) Voss.] merupakan salah satu komoditas penting dalam pengembangan hortikultura di Indonesia. Buah salak mempunyai nilai ekonomi tinggi dan mempunyai prospek pasar cerah termasuk pasar internasional karena negara-negara lain belum mengembangkan tanaman ini (Prajitno, 2000; Sukardjo, 2001).

Upaya perakitan kultivar-kultivar salak unggul baru perlu dilakukan untuk memenuhi permintaan konsumen yang selalu berkembang dan mengantisipasi kendala-kendala budidaya yang potensial. Jumlah kultivar salak unggul masih relatif terbatas. Ketersediaan kultivar-kultivar unggul baru akan sangat mendukung pengembangan budidaya salak. Indonesia merupakan salah satu pusat keragaman tanaman salak sehingga mempunyai potensi sumberdaya genetik yang besar untuk mendukung program pemuliaan salak.

Penelitian sitogenetika tanaman salak merupakan aspek penting untuk mendukung program pemuliaan tanaman buah-buahan tersebut. Peloquin (1981) mengemukakan bahwa temuan-temuan baru di bidang sitogenetika dapat berguna untuk mendukung program pemuliaan tanaman, baik secara tidak langsung, yaitu berupa peningkatan pengetahuan susunan genetik suatu jenis tanaman, maupun secara langsung, yang berupa penerapan teknik sitogenetika untuk perbaikan sifat tanaman.

Pengetahuan sitogenetika salak sampai sekarang ini masih relatif terbatas. Beberapa peneliti melaporkan bahwa tanaman salak memiliki jumlah kromosom $2n = 28$ (Hadi *et al.*, 2002; Sharma *cit.* Tri-Harsono, 1994). Oleh karena itu, diperlukan penelitian tentang sifat morfologi kromosom tanaman salak, yang meliputi panjang kromosom, posisi lekukan primer (sentromer) dan bentuk kromosom, posisi lekukan sekunder dan satelit, rumus kariotipe, dan indeks asimetri kariotipe. Selain itu juga diuraikan metode pemeriksaan kromosom salak.

BAHAN DAN METODE

Bahan tanaman

Tanaman (bibit) salak pondoh betina asal cangkok yang diperoleh dari petani di sentra pertanaman salak Kecamatan Turi, Kabupaten Sleman, Yogyakarta digunakan dalam penelitian ini. Bibit ditanam dalam pot/keranjang bambu. Akar-akar tanaman dipangkas dan media diberi kompos untuk memacu pertumbuhan akar baru yang bersifat meristematis. Ujung akar yang aktif tumbuh (meristematis) digunakan sebagai bahan pembuatan sediaan untuk pengamatan kromosom.

Pembuatan sediaan dengan metode *squash* (pemencetan).

Ujung akar yang meristematis diambil kira-kira 5 mm lalu direndam dalam air suling selama 24 jam pada suhu 5–8 °C. Selanjutnya ujung akar difiksasi dengan larutan Carnoy (6 etanol : 3 kloroform : 1 asam asetat glasial, v/v) selama 24 jam pada suhu kamar. Cuplikan ujung akar yang telah difiksasi dihidrolisis dengan larutan HCl 1N selama 5–10 menit pada suhu kamar, kemudian dicuci dengan air suling. Untuk pewarnaan kromosom, cuplikan ujung akar direndam dalam larutan *aceto-orcein* 2% selama 24 jam pada suhu kamar. Setelah perendaman, tudung akar pada cuplikan ujung akar dihilangkan dengan jarum preparat dan bagian meristematis (kurang lebih 0,5 mm) diambil lalu diletakkan

pada gelas preparat. Selanjutnya, preparat tersebut ditetesi asam asetat 45%, ditutup dengan gelas penutup, lalu dipencet (*squash*).

Pengamatan kromosom

Kromosom tahap prometafase atau metafase yang menunjukkan penyebaran kromosom dengan baik dipotret dengan mikroskop-foto Nikon dan dibuat mikrografinya. Gambar kromosom hasil pemotretan diperbesar dan dicetak dengan program komputer *Corel Photo-Paint*. Selanjutnya, hasil cetak gambar kromosom tersebut digunakan untuk pengamatan jumlah dan sifat morfologi kromosom. Sifat morfologi kromosom yang diamati adalah panjang kromosom yang terdiri atas panjang lengan pendek (*p*), panjang lengan panjang (*q*), dan panjang total (*p+q*), letak lekukan sekunder (satelit kromosom), dan bentuk kromosom.

Bentuk masing-masing kromosom ditentukan berdasarkan nisbah lengan kromosom ($r = q/p$) mengikuti cara Olinici *cit.* Ciupercescu *et al.* (1990):

Bentuk kromosom	Rasio lengan ($r = q/p$)
Metasentrik (m)	1,0 - 1,7
Submetasentrik (sm)	1,7 - 3,0
Akrosentrik (t)	3,0 - 7,0
Telosentrik (T)	> 7,0

Analisis kromosom

Sifat morfologi kromosom tanaman salak dianalisis secara deskriptif berdasarkan gambar kromosom hasil pemotretan dan data pengamatan panjang dan bentuk kromosom. Susunan kromosom secara berurutan dari ukuran terpanjang sampai terpendek dipaparkan sebagai kariogram. Dalam penyusunan kariogram, kromosom dipasang-pasangkan dengan kromosom homolognya. Pasangan kromosom homolog ditentukan berdasarkan kemiripan ukuran dan bentuk kromosom (nisbah lengan kromosom). Berdasarkan rata-rata data pengamatan panjang absolut dan nisbah lengan masing-masing kromosom dari sepuluh sel somatik, disusun idiogram kromosom tanaman salak.

Morfologi kromosom juga dianalisis berdasarkan simetri kariotipe, menggunakan indeks asimetri intrakromosom dan interkromosom menurut Romero *cit.* Chen dan Roath (1995). Indeks asimetri intrakromosom ($A1$) = $1 - [\sum_{i=1}^n (b_i / B_i) / n]$, dengan b_i adalah rata-rata lengan pendek tiap pasangan kromosom homolog, B_i adalah rata-rata lengan panjang tiap pasangan kromosom homolog, dan n adalah jumlah pasangan kromosom homolog. Nilai $A1$ berkisar antara nol dan satu. $A1$ semakin kecil (mendekati nol) bila proporsi kromosom metasentris semakin besar. Indeks asimetri interkromosom ($A2$) = SD / \bar{X} , dengan SD adalah simpangan baku rerata panjang kromosom dalam suatu kariotipe dan \bar{X} adalah rata-rata panjang kromosom dalam suatu kariotipe.

HASIL DAN PEMBAHASAN

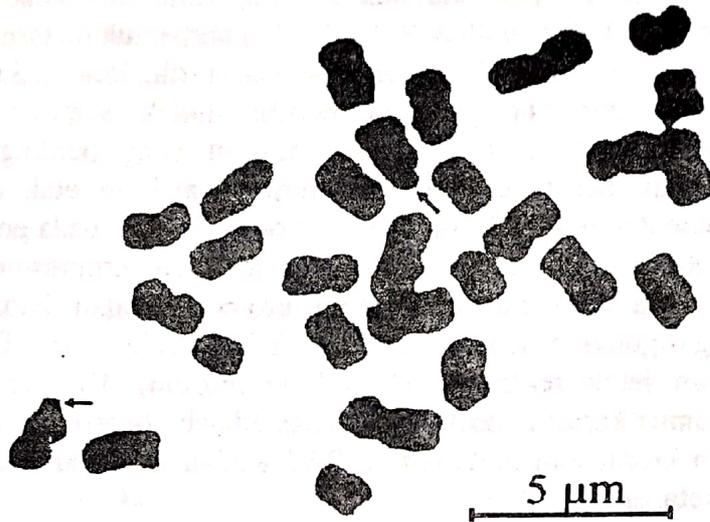
Hasil pengamatan kromosom sel ujung akar menunjukkan bahwa tanaman salak memiliki jumlah kromosom $2n = 28$ (Gambar 1). Jumlah tersebut mempertegas hasil penelitian sebelumnya (Sharma *cit.* Tri-Harsono, 1994; Tri-Harsono, 1994; Hadi *et al.*, 2002).

Panjang kromosom salak berkisar antara $1,15 \pm 0,13$ mm sampai dengan $2,38 \pm 0,24$ mm. Lengan pendek kromosom berkisar antara $0,36 \pm 0,06$ mm sampai dengan $1,11 \pm 0,15$ mm, sedangkan lengan panjang berkisar antara $(0,80 \pm 0,07)$ mm sampai dengan $(1,27 \pm 0,12)$ mm. Pada sel yang berbeda dapat terjadi perbedaan ukuran panjang kromosom yang disebabkan oleh perbedaan tingkat kondensasi kromosom. Rata-rata panjang pasangan kromosom homolog diuraikan pada Tabel 1.

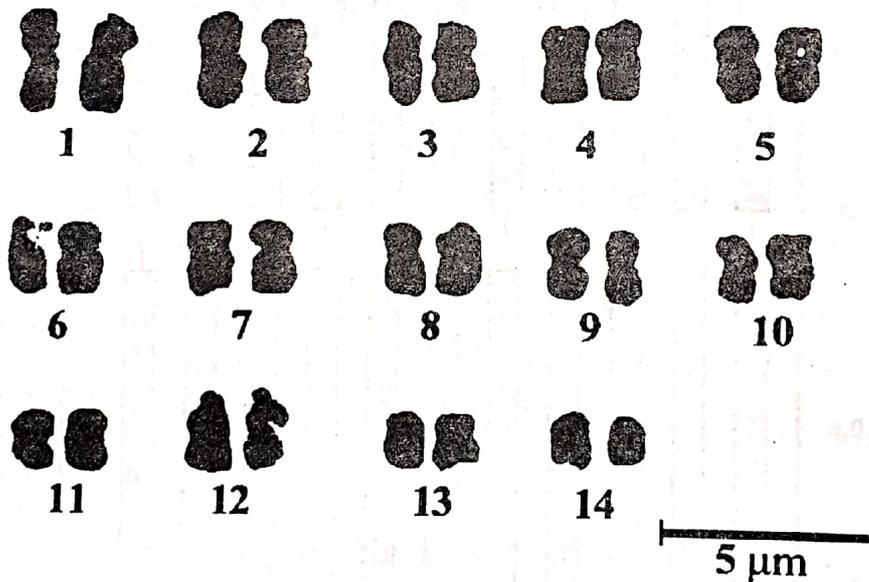
Tabel 1. Ukuran dan bentuk kromosom tanaman salak.

Pasangan kromosom	Panjang kromosom ($\bar{X} \pm SD, \mu\text{m}$)			Nisbah lengan, $r = q/p$ ($\bar{X} \pm SD$)	Bentuk kromosom
	Lengan panjang (q)	Lengan pendek (p)	(q+p)		
1	$1,27 \pm 0,12$	$1,11 \pm 0,15$	$2,38 \pm 0,24$	$1,15 \pm 0,12$	m
2	$1,19 \pm 0,14$	$0,92 \pm 0,11$	$2,11 \pm 0,23$	$1,29 \pm 0,11$	m
3	$1,17 \pm 0,15$	$0,87 \pm 0,10$	$2,03 \pm 0,22$	$1,35 \pm 0,16$	m
4	$1,08 \pm 0,10$	$0,87 \pm 0,11$	$1,95 \pm 0,19$	$1,26 \pm 0,14$	m
5	$1,10 \pm 0,11$	$0,80 \pm 0,08$	$1,90 \pm 0,17$	$1,38 \pm 0,14$	m
6	$1,10 \pm 0,07$	$0,77 \pm 0,10$	$1,86 \pm 0,16$	$1,44 \pm 0,14$	m
7	$1,07 \pm 0,06$	$0,74 \pm 0,12$	$1,81 \pm 0,14$	$1,47 \pm 0,26$	m
8	$1,03 \pm 0,07$	$0,73 \pm 0,10$	$1,76 \pm 0,13$	$1,42 \pm 0,20$	m
9	$0,99 \pm 0,12$	$0,68 \pm 0,10$	$1,68 \pm 0,17$	$1,47 \pm 0,22$	m
10	$0,88 \pm 0,11$	$0,66 \pm 0,09$	$1,55 \pm 0,17$	$1,35 \pm 0,17$	m
11	$0,89 \pm 0,11$	$0,59 \pm 0,10$	$1,47 \pm 0,20$	$1,53 \pm 0,18$	m
12	$0,85 \pm 0,09$	$0,52 \pm 0,08$	$1,37 \pm 0,15$	$1,67 \pm 0,22$	m (SAT)
13	$0,83 \pm 0,08$	$0,44 \pm 0,04$	$1,25 \pm 0,11$	$1,84 \pm 0,20$	sm
14	$0,80 \pm 0,07$	$0,36 \pm 0,06$	$1,15 \pm 0,13$	$2,22 \pm 0,23$	sm

Keterangan: m = metasentrik
sm = submetasentrik
SAT = mempunyai satelit kromosom.



Gambar 1. Kromosom prometafase sel ujung akar salak ($2n = 28$). Anak panah menunjukkan satelit kromosom.



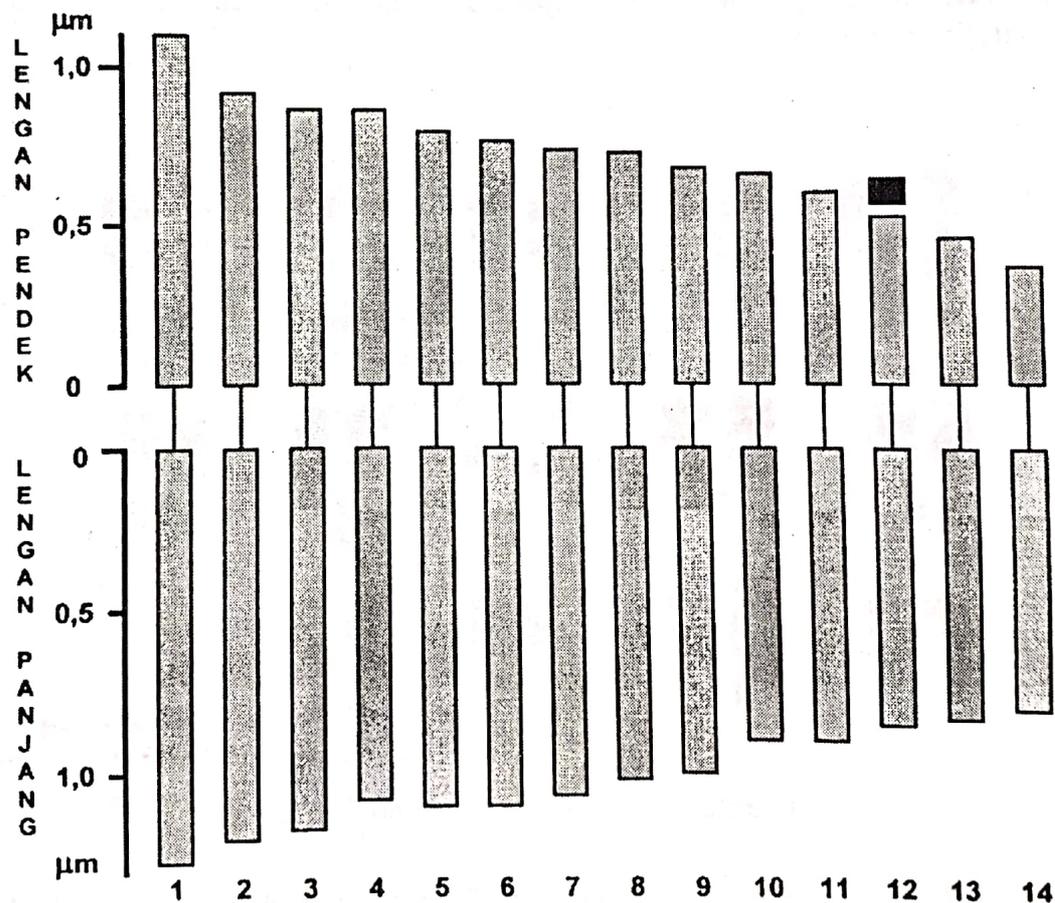
Gambar 2. Karyogram kromosom salak.

Berdasarkan rata-rata panjang kromosom, salak termasuk tanaman yang mempunyai kromosom berukuran kecil. Oleh karena itu disarankan agar identifikasi kromosom salak sebaiknya dilakukan pada sel-sel tahap prometafase karena pada fase tersebut ukuran kromosom jauh lebih panjang dan struktur kromosom tampak lebih jelas dibandingkan dengan sel-sel tahap metafase. Susunan kromosom salak, mulai dari ukuran terpanjang sampai yang terpendek dipaparkan pada Gambar 2 dan susunan kromosom dalam bentuk idiogram disajikan pada Gambar 3.

Bentuk kromosom salak ada dua macam, yaitu dua belas pasang kromosom (pasangan nomor 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12) berbentuk metasentrik dan dua pasang (pasangan nomor 13 dan 14) berbentuk submetasentrik. Bentuk kromosom ditentukan berdasarkan letak sentromer pada kromosom. Letak sentromer pada kromosom merupakan salah satu sifat morfologi kromosom yang penting dalam identifikasi kromosom. Sebagian besar sentromer kromosom salak terletak pada posisi median, kecuali pada kromosom nomor 13 dan 14, sentromer terletak pada posisi submedian.

Pasangan kromosom nomor 12 mempunyai satelit kromosom yang terletak pada lengan pendek. Ada atau tidaknya satelit kromosom atau lekukan sekunder pada kromosom sering digunakan sebagai salah satu kriteria dalam identifikasi kromosom.

Berdasarkan letak sentromer (bentuk kromosom) dan letak lekukan sekunder (satelit), maka rumus kariotipe kromosom salak adalah $2n = 11 m + 1 m (SAT) + 2 sm$, dengan m adalah kromosom metasentrik, SAT adalah satelit kromosom, dan sm adalah kromosom submetasentrik.



Gambar 3. Idiogram kromosom salak yang disusun berdasarkan rata-rata panjang dan bentuk kromosom.

Sifat morfologi kromosom juga sering dideskripsikan menurut derajat simetri kariotipe. Berdasarkan perhitungan dengan rumus Romero *cit.* Chen dan Roath (1995),

indeks asimetri intrakromosom (A1) kariotipe tanaman salak adalah $0,3 \pm 0,03$ dan indeks asimetri interkromosom (A2) adalah $0,2 \pm 0,02$. Nilai A1 yang kecil (mendekati nol) menunjukkan bahwa kromosom salak cenderung berbentuk metasentrik. Hal ini dapat dipahami karena sebagian besar (86%) kromosom tanaman salak berbentuk metasentrik.

Pada penelitian ini juga teridentifikasi beberapa pasangan kromosom yang mempunyai kemiripan bentuk dan ukuran, misalnya antara pasangan kromosom nomor 4 dengan nomor 5, antara pasangan nomor 6 dengan nomor 7, dan antara pasangan nomor 8 dengan pasangan nomor 9. Kemiripan beberapa pasangan kromosom tersebut menimbulkan kesulitan dalam penentuan pasangan kromosom homolog. Untuk mengatasi permasalahan ini perlu dilakukan identifikasi kromosom dengan teknik pemitaan kromosom (*chromosome banding*). Melalui pemitaan kromosom, identifikasi kromosom secara individual dapat dilakukan sehingga penentuan pasangan kromosom homolog dapat dilakukan secara lebih akurat.

Hasil penelitian ini berbeda dengan hasil penelitian Hadi *et al.* (2002) yang melaporkan bahwa pada tanaman salak terdapat tiga macam bentuk kromosom. Menurut penemuannya, tanaman salak betina mempunyai 11 pasang kromosom metasentrik, 2 pasang submetasentrik dan 1 pasang telosentrik. Selain itu, pada hasil penelitian Hadi *et al.* (2002) tidak teridentifikasi adanya kromosom yang mempunyai satelit kromosom.

Perbedaan hasil penelitian tersebut dapat disebabkan oleh perbedaan metode yang digunakan. Hasil identifikasi kromosom sangat ditentukan oleh kualitas sediaan mikroskopis untuk pemeriksaan kromosom. Prosedur penyiapan sediaan untuk pengamatan kromosom dalam penelitian ini berbeda dengan prosedur yang digunakan oleh Hadi *et al.* (2002), terutama cara praperlakuan, fiksasi, dan pewarnaan.

Pada penelitian ini, praperlakuan dilakukan dengan merendam cuplikan akar dalam air dingin (*cold water*) dengan suhu $5-100$ °C selama 24 jam, sedangkan Hadi *et al.* (2002) merendam cuplikan akar dalam larutan kolkisin 0,01%. Berdasarkan hasil penelitian pendahuluan diketahui bahwa praperlakuan dengan menggunakan air dingin (*cold water*) menghasilkan sediaan mikroskopis dengan kromosom yang sangat menyebar, sedangkan praperlakuan menggunakan larutan kolkisin menghasilkan sediaan dengan kromosom yang cenderung tidak menyebar.

Fiksasi dalam penelitian ini dilakukan dengan merendam cuplikan akar dalam larutan fiksatif (6 etanol absolut : 3 kloroform : 1 asam asetat glasial), sementara Hadi *et al.* (2002) melakukan fiksasi dengan merendam cuplikan akar dalam larutan Farmer (3 etanol absolut : 1 asam asetat glasial). Berdasarkan hasil penelitian pendahuluan diketahui bahwa fiksasi dengan larutan fiksatif 6 etanol absolut : 3 kloroform : 1 asam asetat glasial lebih baik dibandingkan fiksasi dengan larutan 3 etanol absolut : 1 asam asetat glasial karena menghasilkan sediaan yang lebih jernih.

Pewarnaan kromosom pada penelitian ini dilakukan dengan merendam cuplikan ujung akar salak dalam larutan *aceto-orcein* 2% selama 24 jam pada suhu kamar. Cara ini menghasilkan pewarnaan yang baik dan jelas untuk pengamatan bentuk dan ukuran kromosom. Pada penelitian Hadi *et al.* (2002), pewarnaan dilakukan dengan larutan *carbol fuchsin* selama kurang lebih 2×24 jam dan diberi *aceto-orcein* 2% menjelang pembedaan. Cara pewarnaan dengan larutan *aceto-orcein* 2% lebih mudah dan lebih murah dibandingkan menggunakan dua macam larutan *carbol fuchsin* dan *aceto-orcein*.

KESIMPULAN

Pengamatan morfologi kromosom salak, yakni ukuran dan bentuk kromosom, dengan metode *squash* dan pewarnaan *aceto-orcein* dapat dilakukan dengan hasil baik pada stadium prometafase. Panjang kromosom salak berkisar 1,15 mm – 2,38 mm. Berdasarkan hasil analisis sifat morfologi kromosom tanaman salak, maka rumus kariotipe salak adalah $2n = 28 = 11 m + 1 m \text{ (SAT)} + 2 sm$, yaitu terdiri dari sebelas pasang kromosom metacentrik, satu pasang kromosom metacentrik dengan satelit kromosom, dan dua pasang kromosom submetacentrik. Indeks asimetri kariotipe intrakromosom adalah $0,3 \pm 0,03$, dan indeks asimetri interkromosom adalah $0,2 \pm 0,02$. Beberapa pasangan kromosom mempunyai bentuk dan ukuran yang mirip sehingga sulit dibedakan. Identifikasi kromosom tanaman salak dengan teknik pemitaan kromosom (*chromosome banding*) perlu dilakukan untuk mendukung hasil yang telah dicapai dan memperoleh hasil yang lebih akurat.

DAFTAR PUSTAKA

- Chen, W. & W.W. Roath. 1995. Karyotype of *Cuphea lanceolata* Ait. and *Cuphea viscosissima* Jacq. *Crop Science* 35: 246–250.
- Ciupercescu, D.D., J.Veuskens, A. Mouras, D. Ye, M. Briquet & I. Negrutiu. 1990. Karyotyping *Melandrium album*, a dioecious plant with heteromorphic sex chromosomes. *Genome* 33: 556–562.
- Hadi, P. S., Aziz-Purwantoro & Djoko Prajitno. 2002. Identifikasi kromosom dalam penentuan jenis kelamin tanaman salak [*Salacca zalacca* (Gaertner) Voss]. *Agrosains* 15(1): 31–46.
- Peloquin, S.J. 1981. Chromosomal and cytoplasmic manipulation. Dalam: Frey, K.J. (Ed.). *Plant Breeding II*. The Iowa State University Press. Ames, Iowa. Hal. 117–150.
- Prajitno, D. 2000. Program pemuliaan konvensional tanaman salak di Fakultas Pertanian UGM. *Ilmu Pertanian* 7 (1): 40–44.
- Sukardjo. 2001. Salak sebagai komoditas unggulan di Kabupaten Sleman DIY. *Makalah Semiloka Salak*. Kelompok Studi Salak Universitas Gadjah Mada.
- Tri-Harsono. 1994. Studi taksonomi kultivar salak (*Salacca zalacca* var. *zalacca*). *Tesis S2*. Program Pasca Sarjana IPB, Bogor.