

Perbandingan Efektivitas Ekstrak Etanolik Umbi Kembang Sungsang (*Gloriosa superba*) dan Daun Tapak Dara (*Catharanthus roseus*) sebagai Substitusi Kolkisin

*Comparison of Effectiveness of Ethanolic Extracts of Flame Lily Tubers (*Gloriosa superba* L.) and Vinca Rosea Leaves (*Catharanthus roseus*) as the Substitutes for Colchicine*

Cicik Ainurrohmah*, Isnawati

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Negeri Surabaya

* e-mail: cicikainurrohmah98@gmail.com

Abstrak. Produktivitas bawang merah dapat ditingkatkan dengan cara poliploidi, menggunakan kolkisin. Namun kolkisin sekarang sulit ditemukan, sehingga perlu dicari anti-mitotic agent alternatif. Kembang sungsang dan tapak dara merupakan tanaman yang mengandung senyawa anti-mitotic agent, dan mempunyai potensi sebagai tanaman alternatif pengganti kolkisin, sehingga dapat digunakan dalam menciptakan poliploidi pada bawang merah. Penelitian ini bertujuan untuk menguji pengaruh jenis mutagen, konsentrasi ekstrak, dan interaksi jenis mutagen dengan konsentrasi ekstrak terhadap tingkat poliploidi bawang merah. Metode penelitian ini adalah eksperimental, dengan variabel manipulasi jenis mutagen (ekstrak umbi kembang sungsang dan ekstrak daun tapak dara) dan konsentrasi mutagen (0,1%, 0,2%, 0,3%), dan variabel responsnya adalah tingkat poliploidi bawang merah berdasarkan jumlah kromosom yang dihasilkan kemudian diuji statistik dengan ANAVA dua arah dan uji DMRT. Hasil penelitian menunjukkan jenis mutagen berpengaruh terhadap tingkat poliploidi bawang merah dan kolkisin adalah jenis mutagen yang paling efektif, Konsentrasi mutagen juga berpengaruh terhadap tingkat poliploidi bawang merah, 0,1% dan 0,3% merupakan konsentrasi paling efektif. Interaksi jenis mutagen dan konsentrasi mutagen juga berpengaruh terhadap tingkat poliploidi bawang merah, diketahui ekstrak etanolik umbi kembang sungsang 0,1% adalah interaksi yang paling efektif. Berdasarkan penelitian ini dilihat dari hasil interaksi jenis mutagen dan konsentrasi dapat disimpulkan bahwa jenis mutagen ekstrak etanolik kembang sungsang dengan konsentrasi 0,1% adalah interaksi yang paling efektif dalam menciptakan poliploidi bawang merah, karena dapat menghasilkan jumlah kromosom $40=5n$ yang dapat menciptakan poliploidi sekaligus meningkatkan produktivitas bawang merah.

Kata kunci: kembang sungsang; tapak dara; poliploidi

Abstract. Onion productivity can be increased by polyploidy, using colchicine. However, colchicine is now hard to find, so an alternative anti-mitotic agent is needed. Breeches and treads are plants that contain anti-mitotic agent compounds, and have the potential as an alternative plant to replace colchicine, so they can be used in creating polyploidy onions. This study aims to examine the effect of mutagen type, extract concentration, and interaction of mutagen type with extract concentration on the level of polyploidy onion. This research method is experimental, with variable manipulation of mutagen type (breech extracts and breeches extract) and mutagen concentration (0.1%, 0.2%, 0.3%), and the response variable is the level of polyploidy onion based on the number of chromosomes produced then statistically tested with two-way ANOVA and DMRT test. The results showed the type of mutagen affected the level of polyploidy onion and colchicine was the most effective type of mutagen, the concentration of mutagen also affected the level of polyploidy onion, 0.1% and 0.3% was the most effective concentration. The interaction of mutagen type and mutagen concentration also influences the level of polyploidy onion, it is known that ethanolic extract of breech tubers 0.1% is the most effective interaction. Based on this research, it can be seen from the results of the interaction of mutagen types and concentrations it can be concluded that the mutagen type of breech ethanolic extract with a concentration of 0.1% is the most effective interaction in creating onion polyploidy, because it can produce chromosome number $40 = 5n$ which can create polyploidy at the same time increase onion productivity.

Key words: flame lily; vinca roseus; polyploidy

PENDAHULUAN

Bawang merah (*Allium ascalonicum*) merupakan jenis rempah yang sering digunakan masyarakat sebagai bumbu masakan dan bahkan sebagai bahan obat sehingga untuk memenuhi kebutuhan masyarakat tersebut, potensi produktivitas bawang merah ini sangat diperlukan (Irfan, 2013). Upaya untuk meningkatkan kualitas pertanian terutama bawang merah dapat dilakukan dengan cara menciptakan tanaman varietas unggul poliploid dengan teknik pemuliaan mutasi (Mahyuni *et al.*, 2015). Bawang merah memiliki tingkat sterilitas bunga yang tinggi sehingga pemuliaan tanaman ini tidak dapat dilakukan dengan sistem persilangan (Putra dan Soegianto, 2019).

Senyawa *anti-mitotic agent* merupakan senyawa yang dapat menggandakan jumlah kromosom dan mengakibatkan ukuran sel meningkat sehingga kualitas tanaman juga meningkat (Mardianti, 2014). Poliploid dapat dilakukan dengan menggunakan kolkisin sebagai senyawa *anti mitotic agent*. Perubahan kromosom pada tanaman yang umumnya diploid menjadi haploid, triploid ataupun tetraploid, perubahan kromosom ini disebut poliploidi (Saraswati, 2017). Dengan adanya poliploidi tersebut diharapkan dapat menciptakan tanaman dengan kualitas yang lebih baik dibandingkan tanaman diploid.

Kolkisin berasal dari tanaman *Colchicium autumnale*, dapat ditemukan di semua bagian tanaman terutama biji dan umbinya (Novitasari dan Isnaini, 2019). Kolkisin memiliki rumus molekul $C_{22}H_{25}NO_6$ dan nama kimianya adalah N-[(7S)-5, 6, 7, 9-tetrahydro-1, 2, 3, 10-tetramethoxy-9-oxobenzo[a] heptalen-7-yl) acetamide] (Ade, 2010). Kolkisin merupakan senyawa kimia golongan alkaloid, yang dapat menyebabkan terjadinya mutasi dan menciptakan tanaman poliploid (Firmansyah *et al.*, 2019). Kolkisin berperan dalam melemahkan penyusunan mikrotubula sehingga mengakibatkan mitosis terhambat dan menyebabkan penggandaan jumlah kromosom sehingga menciptakan tanaman poliploidi (Pradana dan Hartatik, 2019). Selain itu kolkisin juga berpengaruh pada keanekaragaman fenotip dan genotip tanaman (Darmawan dan Damanhuri, 2019), karena kolkisin mempengaruhi fisiologis tanaman, yang menyebabkan tanaman berpenampilan lebih besar dan kuat (Sirojuddin dan Laili, 2017). Namun kolkisin ini harganya sangat mahal dan sulit ditemukan, sehingga diperlukan *anti mitotic agent* alternative lain sebagai pengganti kolkisin (Mardianti, 2014).

Beberapa tanaman diketahui mengandung *anti mitotic agent*, di antaranya kembang sunsang dan tapak dara (Hilmi dan Darmawati, 2013; Mardianti 2014). Kembang sunsang (*Gloriosa superba*) merupakan tanaman yang seluruh bagian tanaman ini mengandung kolkisin dengan kadar yang bervariasi (Hilmi dan Darmawati, 2013). Bagian tanaman yang sering digunakan untuk ekstrak adalah bagian umbinya (Mardianti, 2014). Selain kembang sunsang, tanaman tapak dara (*Catharanthus roseus*) juga berpotensi menjadi tanaman pengganti kolkisin, karena tapak dara dapat hidup sepanjang tahun dan tumbuh subur di daerah tropis seperti di Indonesia (Mardianti, 2014). Bagian tanaman yang sering digunakan untuk ekstrak adalah bagian daunnya, Berdasarkan penelitian Daryono *et al.* (2012) ekstrak etanolik daun tapak dara dapat melipatgandakan kromosom *Eucalyptus pellita*. Penelitian Mardiaty (2012) juga menunjukkan bahwa ekstrak etanolik umbi kembang sunsang dan ekstrak etanolik daun tapak dara berpengaruh dalam meningkatkan kualitas buah melon (Mardianti, 2014). Poliploid bawang merah sudah dilakukan dengan menggunakan ekstrak etanolik tapak dara menunjukkan hasil yang efektif dengan konsentrasi 0,1 % dengan lama perendaman 8 jam (Listiawan *et al.* 2009).

Mardianti (2014) sudah melakukan penelitian tentang perbandingan efektivitas ekstrak etanolik kembang sunsang dan daun tapak dara berdasarkan lama waktu perendamannya, namun penelitian mengenai perbandingan ekstrak kembang sunsang dan tapak dara berdasarkan perbedaan konsentrasi belum pernah dilakukan. Padahal kepekaan terhadap senyawa mutagen berbeda antartanaman, bahkan pada bagian tanaman yang berbeda, Dengan demikian lama perendaman dan konsentrasi mutagen itu sendiri akan memberikan pengaruh yang berbeda pada tanaman (Saraswati, 2017).

Kolkisin dengan konsentrasi yang tepat akan melemahkan penyusunan mikrotubula, hal ini menyebabkan tahap mitosis terhambat sehingga mengakibatkan Jumlah kromosom pada tanaman akan berlipat ganda dan menghasilkan tanaman poliploidi (Pradana dan Hartatik, 2019). Keterbatasan data ilmiah yang menunjukkan peranan ekstrak etanolik kembang sunsang pada poliploidi bawang merah, pengaruh perbedaan konsentrasi ekstrak, dan interaksi antara jenis mutagen dengan konsentrasi ekstrak terhadap tingkat poliploidi bawang merah belum diketahui, maka diperlukan penelitian ini dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh jenis mutagen,

konsentrasi ekstrak, dan interaksi jenis mutagen dengan konsentrasi ekstrak terhadap tingkat poliploidi bawang merah.

BAHAN DAN METODE

Alat-alat yang diperlukan yaitu pisau, oven, blender, saringan, timbangan, gelas beaker 500 ml, kain kasa, *hot plate*, spatula, nampan, *rockwool*, kamera, gelas arloji, cawan petri, gelas ukur 100 ml, gelas objek Bunsen, mikroskop, pipet tetes. Bahan-bahan yang diperlukan yaitu bibit bawang merah (*A. ascalonicum*) dengan umur 60-90 hari pasca panen, umbi kembang sunsang (*G. superba*) yang diperoleh dari Kebun Raya Purwodadi, daun tapak dara (*Catharanthus roseus*) yang diperoleh dari Nganjuk, etanol 90%, akuades, pewarna hematoksilin, kuteks (entelan), HCl 1 N, asam asetat 45% dan gliserin. Penelitian dilakukan pada bulan Desember 2019-Februari 2020. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi C9 Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Surabaya.

Prosedur penelitian ini ada beberapa tahap, yang pertama ekstraksi mutagen. Ekstraksi mutagen dari umbi kembang sunsang dengan metode maserasi (Pandey dan Bandik, 2012). Umbi kembang sunsang dengan diameter 1,0 sampai 1,5 cm, dikeringkan di dalam oven dengan temperature 75° C selama 6 jam dan selanjutnya dihaluskan dengan blender kemudian disaring dengan saringan. Setelah halus serbuk umbi kembang sunsang diekstrak dengan cara memasukkan 100 g serbuk halus umbi kembang sunsang dalam gelas beaker 500 ml dan kemudian ditambahkan campuran 70 ml etanol 90% dan 30 ml aquades. Campuran ini kemudian langsung dipanaskan dengan *hot plate* dengan suhu 70°C hingga terbentuk endapan berupa padatan berwarna kecoklatan.

Pembuatan konsentrasi ekstrak etanolik umbi kembang sunsang didasarkan pada hasil penelitian Pandey dan Bandik (2012), dalam 1,0 g ekstrak etanolik kembang sunsang terdapat 0,6% kolkisin murni, maka untuk membuat konsentrasi 0,1%, diperlukan 4,175 g ekstrak etanolik umbi kembang sunsang dicampur dengan 25 ml aquades dan diaduk dengan spatula hingga tercampur merata. Untuk konsentrasi 0,2% dan 0,3% berlaku kelipatannya.

Ekstraksi daun tapak dara dilakukan dengan metode Misra dan Gupta (2006). Daun yang digunakan adalah daun yang berwarna hijau tua dan terletak antara helaian daun ketiga dari pucuk dan daun ketiga dari pangkal. Daun dipisahkan dari rantingnya, dikeringkan di dalam oven selama 72 jam dengan suhu 70°C dan selanjutnya dihaluskan dengan blender kemudian serbuk disaring dengan saringan. Setelah halus serbuk daun tersebut direndam dalam campuran 70 ml etanol 90% dan 30 mL air selama 24 jam dan selanjutnya disaring dengan kain kasa. Larutan hasil saringan kemudian dipanaskan dengan *hot plate* dengan suhu 70°C sampai terbentuk endapan padat berwarna hijau.

Pembuatan konsentrasi ekstrak etanolik daun tapak dara didasarkan pada hasil penelitian Misra dan Gupta (2006), menjelaskan bahwa dalam 1,0 g serbuk daun kering tapak dara terdapat 0,04% alkaloid (vinkristin, vinblastin). Dengan demikian, untuk membuat konsentrasi 0,1% diperlukan 2,5 g serbuk daun tapak dara kering yang diekstrak.

Tahap kedua perendaman benih, umbi bawang merah diletakkan dalam kotak penanaman yang sudah berisi *rockwool* yang telah dibasahi, ditanam sampai tumbuh akar sekitar ± 3 hari. Umbi yang akarnya telah tumbuh direndam dalam ekstrak etanolik umbi kembang sunsang dan ekstrak etanolik daun tapak dara konsentrasi 0,1%, 0,2% dan 0,3% selama 6 jam sampai terbentuk pembesaran pada akar. Dalam penelitian ini dilakukan 4 kali pengulangan untuk setiap perlakuan, dan dalam setiap pengulangan menggunakan satu umbi bawang merah.

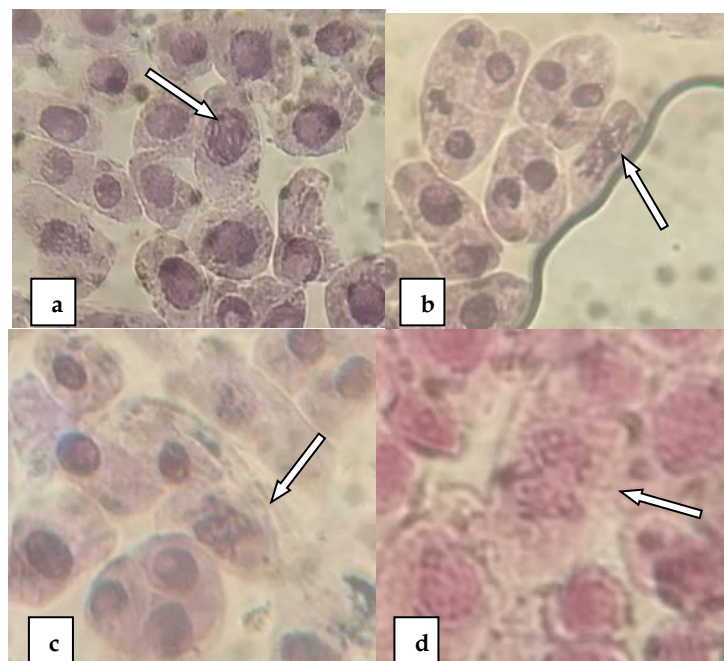
Tahap ketiga pengumpulan data, pengamatan kromosom dilakukan dengan teknik *squash*. Pengambilan ujung akar bawang merah dilakukan pukul 08.00- 09.00 WIB. Ujung akar bawang merah yang telah terpilih dicuci dengan akuades dan dipotong sepanjang 3 mm diletakkan di gelas arloji, setelah itu ditambahkan larutan asam asetat 45% diletakkan di lemari es dengan suhu 5°C selama 15 menit untuk memfiksasi sel akar, setelah itu dicuci dengan akuades. Kemudian dihidrolisis menggunakan asam klorida 1 N dikeringkan dengan oven suhu 60 °C selama 3 menit, setelah itu dicuci dengan akuades lagi. Selanjutnya dilakukan pewarnaan dengan larutan hematoksilin, ujung akar direndam dalam larutan hematoksilin selama 30 menit pada suhu kamar. Setelah itu ujung akar diambil dipotong ukuran 1 mm diletakkan di atas gelas benda, kemudian ditetesi gliserin lalu ditutup dengan gelas penutup, kemudian dipencet (*squash*) hingga merata. Preparat yang sudah jadi diamati di bawah mikroskop menggunakan perbesaran 40 X 10, hasilnya dipotret dengan menggunakan kamera untuk dokumentasi dan mempermudah dalam menghitung jumlah kromosom dalam satu lapang pandang sebagai dasar penentuan tingkat poliploidi bawang merah.

Data dari hasil pengamatan kromosom yang merupakan data kuantitatif berupa jumlah kromosom dianalisis secara statistik menggunakan analisis varian dua arah (ANAVA), apabila perlakuan mutagen menunjukkan beda nyata, maka selanjutnya dilakukan uji jarak berganda atau *Duncan range test* (DMRT)

HASIL

Berdasarkan sampel umbi kembang sungsang yang didapatkan sekitar 1,1 kg berat basah, diperoleh 200 g berat kering dalam bentuk serbuk. Dari 200 g serbuk didapatkan ekstrak etanolik kembang sungsang sebanyak 30 g, kemudian diencerkan dibuat konsentrasi 0,1%, 0,2%, 0,3%. Sampel daun tapak dara yang didapatkan sekitar 700 g berat basah, setelah dikeringkan diperoleh 152 g berat kering dalam bentuk serbuk. Kemudian diekstrak dan dihasilkan konsentrasi 0,1%, 0,2%, 0,3%.

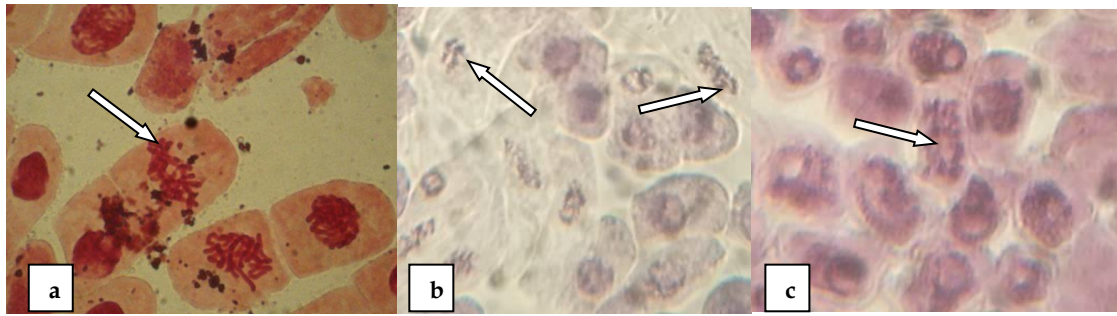
Berdasarkan hasil pembuatan preparat kromosom akar bawang merah dari perlakuan dengan perendaman ekstrak etanolik umbi kembang sungsang dan ekstrak etanolik daun tapak dara selama 6 jam, dan dilakukan pemotongan akar pada pukul 08.00- 09.00, menunjukkan hasil semua fase pembelahan mitosis dapat teramati (Gambar 1).



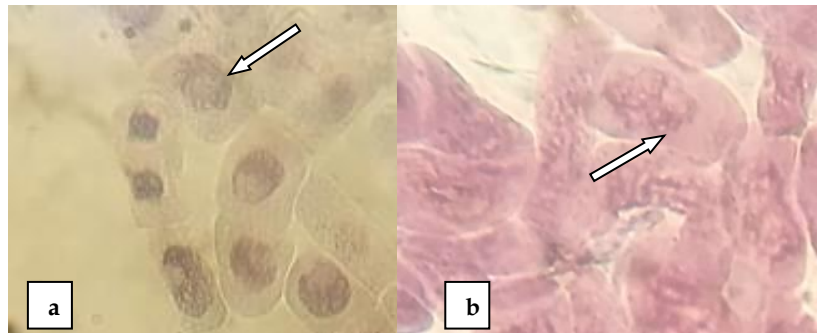
Gambar 1 Fase pembelahan sel ujung akar bawang merah dengan perbesaran 40x10. Profase (a), metafase (b), anafase (c), dan telofase (d). Tanda panah menunjukkan sel dengan kromosom pada fase mitosis



Gambar 2. Sel akar bawang merah dengan, (a) kolkisin 0,1% (Ritonga dan Wulansari, 2009), (b) ekstrak etanolik umbi kembang sungsang 0,1%, (c) ekstrak etanolik daun tapak dara 0,1%.



Gambar 3. Hasil pengamatan mikroskopis kromosom akar bawang merah dengan, (a) kolkisin 0,2% (Ritonga dan Wulansari, 2009), (b) ekstrak etanolik umbi kembang sungsang 0,2%, (c) ekstrak etanolik daun tapak dara 0,2%.



Gambar 4. Sel akar bawang merah dengan, (a) ekstrak etanolik umbi kembang sungsang 0,3%, (b) ekstrak etanolik daun tapak dara 0,3%.

Hasil perlakuan kolkisin, ekstrak umbi kembang sungsang dan ekstrak daun tapak dara pada konsentrasi 0,1% terjadi penambahan jumlah kromosom menjadi triploid (3n), tetraploid (4n) ditunjukkan pada Gambar 2 (a) dan pada ekstrak umbi kembang sungsang penambahan kromosom mencapai pentaploid (5n) ditunjukkan pada Gambar 2 (b). Sedangkan pada hasil perlakuan kolkisin, ekstrak umbi kembang sungsang dan ekstrak daun tapak dara konsentrasi 0,2% dan 0,3% sel-sel akar bawang merah terjadi penambahan jumlah kromosom menjadi triploid (3n), tetraploid (4n) hal ini ditunjukkan pada Gambar 3 dan 4, dan jumlah kromosom heksaploid (6n) pada ekstrak umbi kembang sungsang konsentrasi 0,3% ditunjukkan pada Gambar 4 (b). Namun pada konsentrasi 0,2% dan 0,3% juga terjadi pengurangan jumlah kromosom menjadi haploid (1n), hal ini dapat dilihat pada Gambar 3 (b).

Tabel 1. Jumlah kromosom yang teramati pada preparat kontrol serta perlakuan ekstrak etanolik umbi kembang sungsang dan ekstrak etanolik daun tapak dara konsentrasi 0,1%, 0,2%, 0,3%.

Perlakuan	Konsentrasi	Jumlah Kromosom			
		1	2	3	4
Kolkisin	0,1%	24	32	24	32
	0,2%	16	24	32	24
	0,3%	24	32	32	32
Kembang Sungsang	0,1%	16	16	16	16
		24	24	24	24
		32	32	32	32
	0,2%	8	8	8	8
		16	16	16	16
		24	24	24	24
0,3%	16	16	16	8	
	24	24	24	16	
	32		32	24	
				32	
				48	
Tapak Dara	0,1%	16	16	16	16
		24	24	24	24
	0,2%	32	32	32	32
		16	16	16	8

	24	24	24	16
			32	24
0,3%	8	24	16	32
	16		24	16

Tabel 2. Logaritma jumlah kromosom pada kontrol serta perlakuan ekstrak etanolik umbi kembang sungsang dan ekstrak etanolik daun tapak dara konsentrasi 0,1%, 0,2%, 0,3%.

Perlakuan	Logaritma Jumlah kromosom			
	Kolkisin	Kembang sungsang	Tapak dara	Rata-rata
0,1%	1,38	1,38	1,30	1,35
	1,50	1,38	1,38	1,42
	1,38	1,38	1,30	1,35
	1,50	1,44	1,38	1,70
0,2%	1,20	1,20	1,30	1,23
	1,38	1,07	1,30	1,25
	1,50	1,07	1,38	1,31
	1,38	1,20	1,20	1,26
0,3%	1,38	1,38	1,38	1,38
	1,50	1,30	1,38	1,39
	1,38	1,38	1,30	1,35
	1,50	1,41	1,20	1,37
Rata-rata	1,41	1,29	1,31	

Keterangan: Nilai logaritma jumlah kromosom merupakan hasil Log dari jumlah kromosom pada Tabel 1, nilai logaritma kromosom ini adalah data yang digunakan dalam uji ANAVA.

Tabel 3. Hasil pengamatan pengaruh jenis mutagen terhadap tingkat poliploidi bawang merah

Jenis Mutagen	Jumlah Kromosom
Kolkisin	1,41 ± 0,09 ^b
Kembang Sungsang	1,29 ± 0,31 ^a
Tapak Dara	1,31 ± 0,06 ^a

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan nyata pada uji DMRT taraf 5%.

Tabel 4. Hasil pengamatan pengaruh konsentrasi mutagen terhadap tingkat poliploidi bawang merah

Konsentrasi	Jumlah Kromosom
0,1%	1,39 ± 0,62 ^b
0,2%	1,26 ± 0,13 ^a
0,3%	1,37 ± 0,08 ^b

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan nyata pada uji DMRT taraf 5%.

Tabel 5. Hasil pengamatan pengaruh interaksi jenis mutagen dan konsentrasi mutagen terhadap tingkat poliploidi bawang merah

Jenis Mutagen	Jumlah Kromosom		
	0,1%	0,2%	0,3%
Kolkisin	1,44 ^a	1,36 ^a	1,44 ^a
Kembang Sungsang	1,39 ^b	1,35 ^a	1,36 ^b
Tapak Dara	1,34 ^a	1,29 ^a	1,34 ^a

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan nyata pada uji DMRT taraf 5%

Hasil pembuatan preparat kromosom akar bawang merah dengan perlakuan perendaman ekstrak etanolik umbi kembang sungsang dan ekstrak etanolik daun tapak dan kolkisin murni, didapatkan hasil perhitungan jumlah kromosom (Tabel 1), dan untuk menguji pengaruh antar perlakuan dilakukan uji ANAVA dua arah dengan data logaritma jumlah kromosom (Tabel 2). Berdasarkan hasil uji pengaruh jenis mutagen terhadap tingkat poliploidi bawang merah menunjukkan bahwa jenis mutagen berpengaruh pada poliploidi bawang merah. Hal ini ditunjukkan pada hasil uji ANAVA dua arah yang menunjukkan nilai sig. $0,001 < 0,05$ yang artinya ada beda antar

perlakuan jenis mutagen. Pada hasil uji pengaruh konsentrasi terhadap poliploidisasi bawang merah menunjukkan bahwa perbedaan konsentrasi berpengaruh pada tingkat poliploidisasi bawang merah. Hal ini ditunjukkan pada hasil uji ANAVA dua arah nilai Sig. 0,0004 < 0,05 yang artinya ada beda antar perlakuan. Pada hasil uji pengaruh interaksi antara jenis mutagen dan konsentrasi mutagen juga menunjukkan bahwa interaksi antara dua perlakuan tersebut berpengaruh pada poliploidisasi bawang merah, karena pada hasil uji ANAVA dua arah menunjukkan nilai sig. 0,028 > 0,05 yang artinya ada beda antar perlakuan.

Perbedaan jenis mutagen berpengaruh pada tingkat poliploidisasi bawang merah, pada analisis statistik uji DMRT menunjukkan hasil bahwa jenis mutagen kolkisin berbeda nyata dengan jenis mutagen ekstrak etanolik umbi kembang sungeung dan ekstrak etanolik daun tapak dara (Tabel 3). Kolkisin merupakan jenis mutagen yang paling efektif digunakan untuk menciptakan poliploidisasi pada bawang merah.

Perbedaan konsentrasi berpengaruh pada tingkat poliploidisasi bawang merah. Analisis statistik uji DMRT menunjukkan hasil berbeda nyata pada konsentrasi 0,1% dan 0,2%, untuk konsentrasi 0,3% tidak berbeda nyata (Tabel 4). Berdasarkan penelitian tersebut dapat diketahui bahwa konsentrasi 0,1% dan 0,3% adalah yang paling efektif dalam menciptakan poliploidisasi pada bawang merah, dibandingkan dengan konsentrasi 0,2%.

Interaksi antara jenis mutagen dan konsentrasi mutagen berpengaruh pada tingkat poliploidisasi bawang merah. Analisis statistik uji DMRT menunjukkan hasil bahwa jenis mutagen ekstrak etanolik umbi kembang sungeung konsentrasi 0,1% dan 0,3% tidak berbeda nyata, namun keduanya berbeda nyata dengan kombinasi jenis mutagen dan konsentrasi mutagen lainnya dengan nilai 1,39b dan 1,36b (Tabel 5). Berdasarkan hasil uji tersebut dapat diketahui bahwa jenis mutagen dari ekstrak etanolik umbi kembang sungeung dengan konsentrasi 0,1% dan 0,3% adalah yang paling optimal dalam menciptakan poliploidisasi pada bawang merah.

PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil pembuatan preparat kromosom akar bawang merah dengan perlakuan perendaman ekstrak etanolik umbi kembang sungeung dan ekstrak etanolik daun tapak dara pada konsentrasi 0,1%, 0,2%, 0,3%, pemotongan akar dilakukan pukul 08.00- 09.00, hasilnya semua fase pembelahan mitosis dapat teramati, dilihat pada Gambar 1. Hal ini menunjukkan bahwa sel-sel akar bawang merah yang diamati aktif melakukan pembelahan pada pagi hari. Hal ini sesuai dengan penelitian Abdullah *et al.* (2017), setiap tumbuhan mempunyai waktu optimum pembelahan mitosis, dan pada tanaman bawang merah waktu optimum pembelahan mitosis adalah pada pukul 09.00 WIB.

Bawang merah (*Allium ascalonicum* L.) memiliki jumlah kromosom normal sebanyak 16 unit, maka apabila jumlah kromosom bawang merah lebih dari 16 menunjukkan sel poliploid (Khikmah, 2018). Mekanisme kolkisin dalam menghasilkan tanaman poliploidisasi adalah dengan cara membentuk ikatan dengan tubulin, akibatnya polimerisasi tubulin menjadi mikrotubulin akan terhambat, sehingga menghambat pembentukan benang spindel dan menyebabkan kromatid tidak berpisah ke kutub berlawanan serta kromosom tidak mengalami proses pemisahan pada proses pembelahan, sehingga menyebabkan set kromosom menjadi berlipat ganda tanpa terjadi penggandaan dinding sel dan terbentuklah tanaman poliploid (Dewi dan Pharmawati, 2018). Konsentrasi kritis juga sangat menentukan terjadi atau tidaknya perubahan jumlah kromosom, karena hanya pada konsentrasi kritis tertentu penggandaan kromosom dapat terjadi (Ritonga dan wulansari, 2009).

Peningkatan jumlah kromosom akan mempengaruhi ukuran sel dan inti sel, hal ini merupakan salah satu indikasi terjadinya poliploidisasi (Setyowati *et al.*, 2013). Bertambahnya jumlah kromosom dan bertambahnya rata-rata ukuran luas sel menyebabkan ukuran kromosom mengecil, hal ini terjadi agar semua kromosom dapat dikemas dalam satu sel tersebut, jadi semakin kecil ukuran kromosom, maka semakin besar ukuran luas sel, hal ini menandakan semakin tinggi juga tingkat poliploidisinya (Suminah dan Setyawan., 2002).

Kolkisin telah banyak digunakan sebagai mutagen yang berfungsi menggandakan kromosom (Setyowati *et al.*, 2013). Kolkisin biasanya ditemukan pada tanaman *Colchicum autumnale* (Novitasari dan Isnaini, 2019). Namun kembang sungeung (*Gloriosa superba* L.) juga mengandung senyawa alkaloid yang toksik yaitu kolkisin dan gloriosin (Novitasari dan Isnaini, 2019). Tapak dara (*Catharantus roseus* L.) mengandung senyawa alkaloid yaitu vinkristin, yang dapat digunakan sebagai bahan alternatif pengganti kolkisin karena senyawa ini dapat menyebabkan penggandaan kromosom tanaman (Daryono *et al.*, 2012). Tapak dara (*Catharantus roseus*) berpotensi menjadi tanaman pengganti kolkisin, karena tanaman ini dapat hidup sepanjang tahun dan tumbuh subur di

daerah tropis seperti di Indonesia (Kusnuriyanti *et al.*, 2017). Berdasarkan hasil uji statistik varian dua arah (ANAVA) menunjukkan bahwa perbedaan jenis mutagen berpengaruh pada tingkat poliploidisasi bawang merah dengan hasil taraf signifikansi $0,001 < 0,05$. Hasil uji DMRT menunjukkan bahwa jenis mutagen kolkisin berbeda nyata dengan jenis mutagen ekstrak etanolik umbi kembang sungsang dan ekstrak etanolik daun tapak dara, dengan nilai rata-rata jumlah kromosom $1,41 \pm 0,09$. Hal ini sesuai penelitian Pharmawati dan Wistiana (2015), yang menunjukkan bahwa secara umum perlakuan dengan menggunakan kolkisin lebih efektif dibanding dengan ekstrak etanolik umbi kembang sungsang dan ekstrak etanolik daun tapak dara dalam menciptakan tanaman poliploidisasi, hal tersebut dikarenakan kandungan kolkisin pada ekstrak etanolik umbi kembang sungsang atau vinkristin dan vinblastin pada ekstrak etanolik daun tapak dara tidak sepenuhnya murni, berbeda dengan kolkisin murni (*pure analytic*) yang sudah purifikasi. Namun menurut penelitian yang dilakukan Gupta (1999) membandingkan kandungan kolkisin, dimetil-3-kolkisin, dan kolkikosida pada *C. autumnale* dan *G. superba*, menunjukkan hasil bahwa pada *C. autumnale* didapatkan 0,62% kolkisin, 0,9% dimetil-3-kolkisin, dan 0,39% kolkikosida, sedangkan pada *G. superba* didapatkan 0,9% kolkisin, 0,19% dimetil-3-kolkisin, dan 0,82% kolkikosida. Hal ini didukung juga oleh hasil penelitian terdahulu dari Nairan dan Raina dalam Novitasari dan Isnaini (2019), yang menunjukkan bahwa ekstrak kolkisin dari *G. superba* pada konsentrasi 100 ppm dengan perlakuan 2-4 jam perendaman menunjukkan hasil potensi c-mitosis lebih tinggi 1,8 dan 3,13 dibanding c-mitosis dari ekstrak *C. autumnale* yaitu 1,37 dan 2,8. Sedangkan ekstrak etanolik umbi kembang sungsang dan ekstrak etanolik daun tapak dara menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata, artinya ekstrak etanolik umbi kembang sungsang dan ekstrak etanolik daun tapak dara memberikan pengaruh yang sama dalam menciptakan poliploidisasi bawang merah.

Kromosom akar bawang merah hasil perlakuan kolkisin, ekstrak etanolik umbi kembang sungsang dan ekstrak etanolik daun tapak dara konsentrasi 0,1%, sel mengalami penggandaan kromosom, hal ini dapat dilihat dari ukuran sel yang cenderung lebih besar, yang ditunjukkan pada Gambar 2. Membesarnya ukuran sel ini terjadi karena adanya peningkatan jumlah kromosom yang menekan dinding sel ke arah luar, hal ini merupakan efek yang ditimbulkan dari pemberian kolkisin itu sendiri (Daryono, 1998). Hasil pengamatan pada kolkisin dan ekstrak etanolik tapak dara konsentrasi 0,1% hanya mengalami penambahan jumlah kromosom menjadi triploid (3n) dan tetraploid (4n), sedangkan pada ekstrak etanolik kembang sungsang konsentrasi 0,1% mengalami penambahan jumlah kromosom menjadi triploid (3n), tetraploid (4n), dan pentaploid (5n). Pada konsentrasi 0,1% ini ekstrak etanolik umbi kembang sungsang lebih optimal dalam menggandakan jumlah kromosom ujung akar bawang merah. Hal ini sesuai dengan pernyataan dari Bellet and Gaignult dalam Yadav (2013) yang menyatakan bahwa kolkisin di *Colchicium autumnale* dilaporkan lebih rendah daripada *Gloriosa superba* L.

Pada kolkisin konsentrasi 0,2% sel-sel akar bawang merah mengalami penambahan jumlah kromosom menjadi triploid (3n) dan tetraploid (4n), namun dibandingkan dengan kolkisin konsentrasi 0,1% penambahan jumlah kromosom pada perlakuan kolkisin 0,2% hasilnya lebih dominan triploid (3n). Pada perlakuan ekstrak umbi kembang sungsang dan ekstrak etanolik daun tapak dara konsentrasi 0,2% mengalami penambahan jumlah kromosom menjadi triploid (3n) pada perlakuan ekstrak umbi kembang sungsang, dan triploid (3n), tetraploid (4n) pada ekstrak etanolik daun tapak dara. Hal ini sesuai dengan hasil pengamatan Ritonga dan Wulansari (2009), pada kromosom bawang merah perlakuan dengan konsentrasi kolkisin 0,1% dan 0,2% sudah dapat menggandakan jumlah kromosom dan menciptakan berbagai tingkat poliploidisasi pada tanaman.

Pada kolkisin konsentrasi 0,3% sel-sel akar bawang merah mengalami penambahan jumlah kromosom menjadi triploid (3n) dan tetraploid (4n), namun Wiyadi (2014) menyatakan bahwa, konsentrasi kolkisin 0,3% adalah konsentrasi yang lebih efektif dalam menggandakan kromosom akar bawang merah, dibandingkan konsentrasi 0,1% dan 0,2%. Pada perlakuan ekstrak kembang sungsang konsentrasi 0,3% sel-sel akar bawang merah mengalami penambahan jumlah kromosom menjadi triploid (3n), tetraploid (4n), heksaploid (6n). Pada perlakuan ekstrak etanolik tapak dara konsentrasi 0,3% sel-sel akar bawang merah mengalami penambahan jumlah kromosom menjadi triploid (3n).

Pada perlakuan ekstrak etanolik umbi kembang sungsang konsentrasi 0,2%; 0,3% dan ekstrak etanolik tapak dara konsentrasi 0,2%; 0,3% pada sel-sel akar bawang merah terjadi pengurangan jumlah kromosom menjadi haploid (n). Menurut Putra dan Soegiarto (2019), pengurangan jumlah kromosom ini dapat terjadi diduga karena telah terjadi delesi. Delesi adalah pengurangan jumlah kromosom karena hilangnya segmen kromosom (Darmawan dan Damanhuri, 2019).

Berdasarkan hasil pengamatan dari berbagai perlakuan terhadap akar bawang merah masih terdapat sel dengan jumlah kromosom diploid ($2n=16$). Hal ini dikemukakan juga oleh Khikmah (2018) bahwa tidak semua sel yang mendapat perlakuan perendaman kolkisin yang sama memiliki jumlah kromosom yang seragam. Hal ini terjadi karena induksi mutasi kolkisin terjadi secara acak, sehingga efek yang ditimbulkan tidak seragam pada tiap sel individu (Suminah dan Setyawan, 2002).

Pada hasil pengamatan dan perhitungan secara statistik menggunakan uji ANAVA dua arah didapatkan hasil bahwa konsentrasi mutagen dan interaksi antara jenis mutagen dan konsentrasi mutagen berpengaruh terhadap poliploidisasi bawang merah, dengan nilai signifikansi $0,0004 < 0,05$ dan $0,028 < 0,05$. Berdasarkan hasil uji lanjut DMRT konsentrasi mutagen 0,1% dan 0,3% menunjukkan hasil tidak berbeda nyata dengan nilai rata-rata jumlah kromosom $1,39 \pm 0,62$ dan $1,37 \pm 0,08$, yang artinya konsentrasi 0,1% atau 0,3% memberikan pengaruh yang sama pada poliploidisasi bawang merah. Didukung dengan hasil uji statistik DMRT interaksi antara jenis mutagen dan konsentrasi mutagen menunjukkan hasil jenis mutagen ekstrak umbi kembang sunsang konsentrasi 0,1% dan 0,3% adalah interaksi yang paling optimal dalam menciptakan poliploidisasi pada bawang merah. Selain itu berdasarkan jumlah kromosom, jenis mutagen ekstrak etanolik umbi kembang sunsang konsentrasi 0,1% dan 0,3% adalah interaksi yang baik dalam menggandakan kromosom. Pada konsentrasi 0,1% didapatkan kromosom berjumlah pentaploid ($5n$) dan konsentrasi 0,3% dengan jumlah kromosom septaploid ($7n$). Sesuai dengan hasil penelitian Simanjuntak *et al.*, (2018) bawang merah dengan jumlah kromosom $40=5n$ (pentaploid) adalah hasil poliploidisasi yang baik karena menunjukkan perubahan morfologi seperti meningkatkan rata-rata panjang tanaman, jumlah daun, diameter umbi, bobot basah umbi, dan bobot kering umbi. Sedangkan pada penelitian Putra dan Soegianto (2019), perlakuan kolkisin 200 ppm dengan perendaman 10 jam terjadi penggandaan jumlah kromosom menjadi triploid ($3n$), hal ini berpengaruh nyata terhadap jumlah daun, akan tetapi tidak berpengaruh nyata terhadap berat basah tanaman, jumlah siung, dan diameter umbi tanaman. Sehingga dapat diketahui bahwa ekstrak etanolik umbi kembang sunsang dengan konsentrasi 0,1% adalah interaksi yang paling efektif dalam menciptakan poliploidisasi bawang merah, karena pada kombinasi tersebut dihasilkan jumlah kromosom $40=5n$ (pentaploid).

SIMPULAN

Kolkisin adalah jenis mutagen yang paling efektif dalam menciptakan poliploidisasi bawang merah. Konsentrasi yang paling efektif dalam menciptakan poliploidisasi bawang merah adalah konsentrasi 0,1% dan 0,3%, karena konsentrasi 0,1% atau 0,3% memberikan pengaruh yang sama pada poliploidisasi bawang merah. Pada Interaksi jenis mutagen dan konsentrasi ekstrak, ekstrak etanolik umbi kembang sunsang dengan konsentrasi 0,1% adalah interaksi yang paling efektif dalam menciptakan poliploidisasi bawang merah, karena pada interaksi tersebut dihasilkan jumlah kromosom $40 = 5n$ (pentaploid) yang dapat menciptakan poliploidisasi pada bawang merah dan sekaligus menunjukkan perubahan morfologi seperti meningkatkan rata-rata panjang tanaman, jumlah daun, diameter umbi, bobot basah umbi, dan bobot kering umbi..

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah FN, Jaya AS, dan Widayat. 2017. Penentuan Waktu Perendaman Sel (Fase Mitosis) Akar Bawang Merah (*Allium ascalonicum* L.) Menggunakan Safranin untuk Mendukung Praktikum Biologi. *Jurnal Bioleuser*, 1 (3): 86- 91.
- Ade R, Mahendra KR, 2010. Review: Colchicine Current Advances and Future Prospect. *Bioscience*, 2 (2) : 90-96.
- Darmawan RT, dan Damanhuri, 2019. Keragaman Genetik Padi Hitam (*Oryza sativa* L.) Populasi M2 Hasil Mutasi Kolkisin. *Jurnal Produksi Tanaman*, 7(2): 291-297.
- Daryono BS, 1998. "Pengaruh Kolkisin terhadap Pembentukan Sel-Sel Melon Tetraploid". *Buletin Agro Industri*, 5: 2 - 11.
- Daryono BS, Koeswardani, dan Sunarti S, 2012. Karakter Kromosom Ekaliptus (*Eucalytus pellita* F. Muell.) Hasil Induksi Ekstrak Etanolik Daun Tapak Dara (*Catharanthus roseus* (L.) G. Don.). *Seminar Nasional Agroforestri III*.
- Dewi IARP, dan Pharmawati M, 2018. Penggandaan Kromosom Marigold (*Tagetes erecta* L.) dengan Perlakuan Kolkisin. *A Scientific Journal*, 35 (3): 153 - 157.
- Firmansyah BF, Saptadi D, dan Ardiarini NR, 2019. Evaluasi Keragaman (*Vigna subterranean* L.) Verdcort) Hasil Induksi Mutasi Kolkisin. *Jurnal Produksi Tanaman*, 7 (1): 53- 59.
- Gupta BK, 1999. Production of Cholchicine from *Gloriosa superb* Tubers in Cultivation and Utilization of Medical Plants. *CSIR Journal*: 270-278.

- Hilmi AS, dan Darmawati A, 2013. Validasi Metode Kromatografi Lapis Tipis-Densitometri untuk Penetapan Kadar Kolkisin dalam Infus Daun Kembang Sungsang (*Gloriosa superba* Linn.). *Berkala Ilmiah Farmasi*, 2 (2) : 5-12.
- Irfan M, 2013. Respon Bawang Merah (*Allium ascalonicum* L.) terhadap Zat Pengatur Tumbuh dan Unsur Hara. *Jurnal Agroteknologi*, 3 (2) : 35- 40.
- Khikmah FF, 2018. Pengembangan Modul Pengayaan Poliploidi Tanaman Bawang Merah (*Allium ascalonicum* L.) untuk Kelas XII SMA. *Jurnal Prodi Pendidikan Biologi*, 7 (1): 11- 20.
- Kusnuriyanti E, Fatikasari S, Fitriyanti I, dan Shofi M, 2017. Karakter Fenotip Tanaman Kedelai (*Glycine max* (L.) Merr) Hasil Mutasi Genetik dengan Ekstrak Etanolik Daun Tapak Dara (*Catharanthus roseus* (L.) G. Don.). *Jurnal Wiyata*, 4 (2) : 121-127.
- Listiawan DA, Indraningsih E, Septantri AN, Wibowo AN, Darajat UWJ, dan Daryono BS, 2009. Potensi Ekstrak Etanolik Daun Tapak Dara (*Catharanthus roseus* L.) G. Don, sebagai Alternatif Pengganti Kolkisin dalam Poliploidisasi Tanaman. *Litbang News*. Edisi Januari- Maret 2009.
- Mahyuni R, Girsang, SB, Hafaniah DS, 2015 Pengaruh Pemberian Kolkisin terhadap Morfologi dan Jumlah Kromosom Tanaman Binahong. *Jurnal Agroekoteknologi*, 4(1) : 1815- 1821
- Mardianti R, 2014. Ekstrak Etanolik Umbi Kembang Sungsang dan Daun Tapak Dara sebagai Substitusi Kolkisin dalam Meningkatkan Pertumbuhan dan Kualitas Buah Melon. *Skripsi*. Tidak Dipublikasikan. Bengkulu: Universitas Bengkulu.
- Misra N, dan Gupta AK, 2006. Effect of Salinity and Different Nitrogen Sources on the Activity of Antioxidant Enzymes and Indole Alkaloid Content in *Catharanthus roseus* Seedling. *Journal of Plant Physiology*, 163: 11-18
- Novitasari Y, dan Isnaini Y, 2019. *Mengenal Kembang Sungsang (Gloriosa superba L.): Tanaman Penghasil kolkisin Alami yang Tumbuh di Kebun Raya Bogor*. <https://www.researchgate.net/publication>. Diunduh tanggal 16 Juli 2019.
- Pandey DK and Banik RM, 2012. Optimization of Extraction Conditions for Colchicine from *Gloriosa superba tubers* Using Response Surface Methodology. *Journal of Agricultural Technology*, 8 (4): 1301-1215.
- Pharmawati M, dan Wistiana NLAJ, 2015. Induksi Mutasi Kromosom dengan Kolkisin Pada Bawang Putih (*Allium sativum* L.) Kultivar Kesuna Bali. *Jurnal Biologos*, 5 (1): 18 - 25.
- Pradana DA, dan Hartatik S, 2019. Pengaruh Kolkisin terhadap Karakter Morfologi Tanaman Terung (*Solanum melongena* L.). *Berkala Ilmiah Pertanian*, 2 (4): 155- 158.
- Putra BK, dan Soegianto A, 2019. Induksi Poliploidi pada Bawang Merah (*Allium ascalonicum* L.) dengan Pemberian Kolkisin. *Jurnal Produksi Tanaman*, 7 (6): 1053-1058
- Ritonga, A. W., dan Wulansari, A. 2009. *Pengaruh Kolkisin terhadap Kromosom Ujung Akar Bawang Merah*. Program Studi Pemuliaan dan Bioteknologi Tanaman, Departemen AGH, FAPERTA, IPB. <https://www.academia.edu>. Diunduh tanggal 19 Februari 2020.
- Saraswati DR, 2017. Kajian Pemberian Kolkisin dengan Metode Tetes terhadap Profil Poliploidi Tanaman Zaitun (*Olea europea*). *e-Jurnal Ilmiah Biosaintropis (Bioscience-Tropic)*, 2 (2) : 24- 29.
- Setyowati M, Endang S, Aziz P, 2013. "Induksi Poliploidi dengan Kolkisin pada Kultur Meristem Batang Bawang Wakegi". *Jurnal Ilmu Pertanian*, 16 (1): 58 - 76.
- Simajuntak SR, Diana SH, Rosmayanti, 2018. Perubahan Keragaman Morfologi Bawang Merah (*Allium ascalonicum* L.) Akibat Pemberian Kolkisin dan Iradiasi Sinar Gamma. *Jurnal Agroteknologi FP USU*, 6 (4): 715- 721
- Sirojuddin TR, dan Laili S, 2017. "Pengaruh Pemberian Berbagai Konsentrasi Kolkisin dan Lama Perendaman terhadap Respon Fenotipik Zaitun (*Olea europea*)". *e-Jurnal Ilmiah Biosaintropis*, 2 (2): 36 - 41.
- Suminah S, dan Setyawan AD, 2002. Induksi Poliploidi Bawang Merah (*Allium ascalonicum* L.) dengan Pemberian Kolkisin. *Biodiversitas*, 3 (1): 174-180.
- Wiyadi, ESP, 2014. Uji Efektifitas Berbagai Konsentrasi Kolkisin terhadap Peningkatan Jumlah Kromosom pada Tanaman Bawang Merah (*Allium cepa* L.) sebagai Pengembangan Bahan Ajar Video Biologi SMA. *Skripsi*. Tidak Dipublikasikan. Malang: Universitas Muhammadiyah Malang.
- Yadav K, Ashok A, Nareder S, 2013. Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) Induced Acclimatization, Growth Enhancement and Colchicine Content of Micropropagated *Gloriosa superba* L. Plantlets. *Industrial Crops and Products*, 45 : 88- 93.

Published: 31 Mei 2020

Authors:

Cicik Ainurrohman, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Surabaya, Jalan Ketintang Gedung C3 Lt. 2 Surabaya 60231, Indonesia, e-mail: cicikainurrohman98@gmail.com
 Isnawati, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Surabaya, Jalan Ketintang Gedung C3 Lt. 2 Surabaya 60231, Indonesia, e-mail: isnawati@unesa.ac.id

How to cite this article:

Ainurrohman C, Isnawati, 2020. Perbandingan Efektivitas Ekstrak Etanolik Umbi Kembang Sungsang (*Gloriosa superba*) dan Daun Tapak Dara (*Catharanthus roseus*) sebagai Substitusi Kolkisin. *LenteraBio*; 9(2): 158-167