

Kajian Sitomorfologi Daun Kembang Kertas (*Zinnia elegans*) yang Diinduksi Kolkisina

Cytomorphological Investigation in Colchicine-Induced of Dahlia Flowered (Zinnia elegans) Leaves

M. Badrut Tamam^{1,*}, Niken S.N. Handayani², Aziz Purwantoro³

^{1,2}Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada, Jln. Teknika Selatan Sekip Utara, Yogyakarta

³Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada, Jln. Flora, Bulaksumur, Yogyakarta

ABSTRAK

Sel epidermis daun kembang kertas (*Zinnia elegans*) memiliki bentuk polihedral. Formasi pembentukan pavement cell dikendalikan oleh mikrotubula dan filamen aktin. Tujuan penelitian ini adalah untuk menjelaskan pengaruh induksi kolkisina terhadap sitomorfologi daun kembang kertas. Konsentrasi perlakuan kolkisina yang digunakan dalam penelitian ini yakni 0,01% dengan waktu lama perendaman yang berbeda. Biji kembang kertas diperlakukan dengan periode perendaman yang terdiri dari 0 jam (kontrol), 12 jam, 24 jam, 36 jam, dan 48 jam. Karakter morfologi dan anatomi yang diteliti adalah lebar dan panjang daun, bentuk pavement cell, serta lebar dan panjang stomata. Analisis sitologis dilakukan dengan menggunakan flowcytometry. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian kolkisina meningkatkan varian lebar dan panjang daun dan stomata jika dibandingkan dengan kontrol. Analisis sitologis dengan menggunakan flowcytometry menunjukkan tidak adanya poliploidi namun puncak perhitungan sel mengalami penurunan. Perendaman dengan menggunakan kolkisina 0,01% mempengaruhi karakter sitomorfologi daun kembang kertas.

Kata kunci: kolkisina, sitomorfologi, *Zinnia elegans*

ABSTRACT

Epidermal cells of dahlia flowered (Zinnia elegans) leaves are polyhedral shape. The formation of pavement cell has been considered to be controlled by microtubule and/or actin filament organization. The aim of this research was to study the effect of colchicine induction in cytomorphological of dahlia flowered leaves. The concentration of colchicine used for treatment was 0.01% with different soaking time. Zinnia elegans seeds were soaked in colchicine for different soaking time period, which were 0 hour (control), 12 hours, 24 hours, 36 hours, and 48 hours. Morphological and anatomical characters investigated were width and length leaves, shape of pavement cell, stomata width and length. Cytology analysis was done by using flowcytometry. The result of this research showed that colchicine application increased the variance of leaves width and length and stomata width and length compared to control. Cytological investigation using flowcytometry showed that polyploidy was absent but the peak of cell counting was decrease. The soaking with colchicine 0.01% affected cytomorphological characters of dahlia flowered leaves.

Key words: colchicine, cytomorphological, *Zinnia elegans*.

PENDAHULUAN

Tumbuhan selalu menghasilkan organ baru sepanjang hidupnya. Daun merupakan salah satu organ yang sering dibentuk dengan tujuan untuk fotosintesis. Proses morfogenesis daun berasal dari

meristem apikal. Pada bagian apikal tumbuhan memiliki tiga lapisan (*germ layer*) yang terdiri dari lapisan pertama (L-I) yang membentuk epidermis; lapisan kedua (L-II) yang membentuk daun dan organ reproduktif; dan lapisan ketiga (L-III) yang

* Alamat Korespondensi:

surel: mh.badruttamam@gmail.com

membentuk jaringan pengangkut (Satina & Blakeslee, 1941).

Pada saat proses morfogenesis daun, orientasi perkembangan epidermis dan mesofil melibatkan mikrotubula. Keberadaan mikrotubula dalam sel daun terkait dengan pola dan bentuk suatu sel. Secara sitologis, mikrotubula membentuk elemen di dalam maupun di antara sel. Mikrotubula di epidermis mempengaruhi bentuk polihedral atau lekukan-lekukan yang menghasilkan suatu struktur yang disebut *pavement cell* dengan kontur bergelombang. Pengorganisasian mikrotubula tersebut dimulai dari sel protoderm yang mengalami diferensiasi sampai membentuk organ daun dengan berbagai bentuk (Szymanski & Cosgrove, 2009).

Penelitian pada tanaman mutan menunjukkan bahwa dengan tidak adanya gen yang mengontrol mikrotubula dapat menyebabkan cacat pada sel sehingga formasi suatu jaringan menjadi tidak beraturan (Frank *et al.*, 2003; Qiu *et al.*, 2002). Beberapa bahan kimia juga mampu menyebabkan depolimerisasi mikrotubula seperti kolkisina dan oryzalin yang dapat menyebabkan kontur *pavement cell* menjadi rusak (Panteris & Galatis, 2005).

Penelitian ini digunakan tanaman kembang kertas (*Zinnia elegans*) sebagai objek penelitian dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh kolkisina terhadap sitomorfologi daun yang meliputi kuantitas sel daun, kontur *pavement cell*, panjang dan lebar daun serta panjang dan lebar stomata.

METODE PENELITIAN

Biji kembang kertas berasal dari Kabupaten Sleman, Yogyakarta direndam dengan larutan kolkisina 0,01% yang terdiri atas 5 perlakuan yakni kontrol, 12 jam, 24 jam, 36 jam, dan 48 jam masing-masing perlakuan sebanyak 100 benih. Benih hasil perendaman dicuci dan dilakukan pembibitan dengan media tanah yang sudah diberi campuran kompos dengan perbandingan 1:1.

Pengamatan morfologis daun yakni mengukur panjang dan lebar daun dengan menggunakan penggaris dengan cara mengukur panjang dan lebar daun ke-3 dari tepinya. Pengamatan anatomi dilakukan dengan metode cetakan, yakni menggunakan pemulas kuku bening. Sampel epidermis atas dan bawah

daun pada saat stomata membuka pada siang hari. Sediaan diamati dengan menggunakan mikroskop elektrik dengan perbesaran 100× dan dipotret dengan menggunakan kamera digital. Gambar kemudian diukur panjang dan lebar daun dengan menggunakan program komputer *Adobe Photoshop* dan distandarisasi dengan menggunakan mikrometer. Data yang dihimpun dianalisis dengan menggunakan program komputer *The SAS System for Windows 9.0* pada tingkat kepercayaan 95% dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Bila uji F menunjukkan beda nyata, maka analisis dilanjutkan dengan uji DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*) pada taraf 5%.

Analisis sitologis daun dilakukan teknik *flowcytometry* dengan menggunakan daun ke-1 dan ke-2. Sampel daun dibersihkan dengan aquades dan dipotong dengan ukuran kurang lebih 0,5 cm². Potongan daun diletakkan di cawan petri dan diberi larutan buffer sebanyak 500 µl dan selanjutnya dicacah dengan silet sampai halus. Hasil cacahan sampel kemudian disaring dengan Filter *Partec 50 µm CellTrics* dan dimasukkan ke dalam tabung. Hasil filtrat diberi 2 ml pewarna *CyStain PI* kemudian diinkubasi selama 30-60 menit. Tahap berikutnya, sampel dianalisis dengan *Flowcytometer Partec CyFlow®*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakter morfologi daun yang diamati adalah panjang dan lebar daun yang menggambarkan kemampuan fotosintesis suatu tanaman. Dalam hal ini, pemberian kolkisina memberikan pengaruh peningkatan pada ukuran daun pada semua perlakuan perendaman meskipun pada perendaman 12 jam tidak berbeda nyata setelah uji Duncan (Tabel 1). Variabel pengukuran ini memberikan penjelasan bahwa ada perubahan ukuran daun perlakuan dengan lama perendaman dengan kolkisina 0,01%. Dalam penelitian ini, panjang daun mencapai penambahan hingga 10% sementara lebar daun mencapai penambahan ukuran hingga 9,8% yang terjadi pada lama perendaman 36 jam. Hasil yang sama juga terjadi pada *Lagerstroemia indica* L. yang diberi perlakuan kolkisina (Ye *et al.*, 2010).

Pengamatan yang telah dilakukan terhadap anatomi daun menunjukkan adanya pengaruh akibat kolkisina seperti yang terjadi pada stomata.

Tabel 1. Hasil perhitungan karakter morfologis daun kembang kertas akibat pengaruh kolkisina.

Variabel	Perlakuan				
	Kontrol	12 Jam	24 Jam	36 Jam	48 Jam
PD(cm)	7,6696 ^c	7,9835b ^c	8,1266 ^{ab}	8,4504 ^a	8,2754 ^{ab}
LD(cm)	3,21272 ^c	3,33850b ^c	3,46671 ^{ab}	3,52857 ^a	3,51459 ^a

Keterangan: (PL=Panjang daun LD= lebar daun). Angka yang diikuti dengan huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata pada uji jarak berganda Duncan taraf 5%.

Berdasarkan pengamatan terhadap stomata daun, ada perbedaan ukuran antara kontrol dengan perlakuan (Gambar 1). Pengukuran terhadap stomata dilakukan dengan cara mengukur panjang dan lebar sel pengiring pada struktur stomata. Hasil analisis perhitungan menunjukkan bahwa ada peningkatan ukuran baik pada panjang maupun lebar stomata meskipun secara analisis ada beberapa perlakuan yang menunjukkan hasil tidak berbeda nyata secara statistik dengan uji Duncan taraf 5% (Tabel 2).

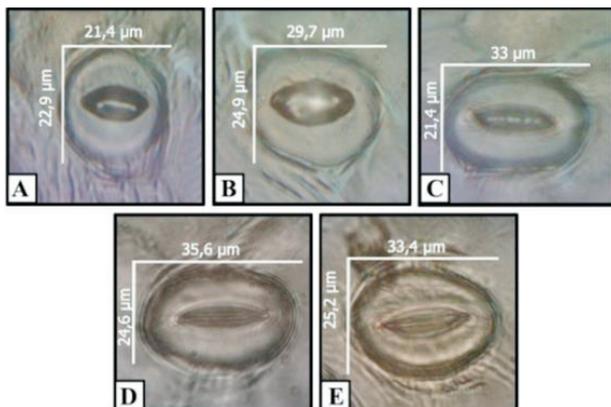
Peningkatan ukuran stomata pada umumnya memiliki korelasi positif dengan tingkat keberhasilan induksi kolkisina. Hal tersebut dikarenakan sel pengiring pada stomata mengalami peningkatan ukuran sel akibat induksi kolkisina. Dalam pengukuran ini, variabel panjang stomata lebih tepat digunakan daripada lebar stomata. Hal ini dikarenakan lebar stomata dapat dipengaruhi oleh lingkungan seperti membuka dan menutupnya stomata. Terlebih lagi ada bukti bahwa kolkisina tidak mempengaruhi proses membuka dan menutupnya stomata (Assmann & Baskin, 2008).

Berdasarkan data panjang stomata, hanya perlakuan perendaman 24 jam yang hasilnya tidak berpengaruh nyata. Persentase peningkatan rerata panjang stomata akibat pemberian kolkisina hanya

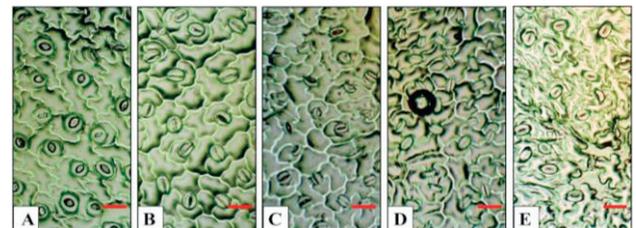
13,87%. Perubahan ukuran pada stomata secara fisiologis yakni dapat memberikan pengaruh terhadap proses pertukaran gas untuk proses fotosintesis.

Beberapa hasil penelitian juga menunjukkan bahwa kolkisina bisa memengaruhi struktur anatomis daun seperti sel epidermis daun yang disebut *pavement cell*. Secara normal, *pavement cell* akan membentuk pola zig-zag seperti bentuk *puzzle*. Namun ada bukti bahwa efek pemberian kolkisina bisa mempengaruhi pola morfogenesis pada epidermis seperti yang terjadi pada daun kembang kertas sehingga yang memiliki pola zig-zag kurang nampak jelas akibat pemberian kolkisina (Gambar 2). Penelitian serupa juga terjadi pada tanaman daun kacang panjang (*Vigna sinensis*) (Panteris & Galatis, 1993a) dan daun *Adiantum capillus-veneris* (Panteris & Galatis, 1993b) yang mengalami pola kerusakan pada *pavement cell*-nya ketika diberi perlakuan kolkisina.

Perubahan yang terjadi pada struktur *pavement cell* tersebut dikarenakan adanya depolimerisasi pada kortikal mikrotubula yang mengakibatkan proses morfogenesis terganggu. Kolkisina merupakan senyawa alkaloid yang mampu menguraikan struktur mikrotubula yang merupakan komponen penting dalam menyokong suatu sel. Kortikal mikrotubula



Gambar 1. Hasil pengamatan stomata daun kembang kertas akibat pengaruh kolkisina. (A) Kontrol; (B) perendaman 12 jam; (C) perendaman 24 jam; (D) perendaman 36 jam; (E) perendaman 48 jam.



Gambar 2. Pengaruh kolkisina terhadap morfogenesis epidermis daun bawah (*pavement cell*). Efek kolkisina menunjukkan pola zig-zag antar sel berkurang. (A) Kontrol; (B) perendaman 12 jam; (C) perendaman 24 jam; (D) perendaman 36 jam; (E) perendaman 48 jam. Bar, 50 μm.

Tabel 2. Hasil perhitungan panjang dan lebar stomata akibat pengaruh kolkisina.

Perlakuan	Panjang Stomata (μm)			Lebar Stomata (μm)		
	Rerata	Std	Kisaran	Rerata	Std	Kisaran
Kontrol	29,17778 ^c	3,62951	24,37 - 35,07	20,99222 ^c	1,64491	18,30 - 24,13
12 jam	31,79778 ^{ab}	1,35504	29,67 - 33,70	24,36333 ^{ab}	3,76057	18,63 - 29,97
24 jam	30,24000 ^{bc}	1,67366	28,30 - 33,63	22,51000 ^{bc}	1,35764	20,17 - 24,77
36 jam	33,22667 ^a	1,55849	31,30 - 35,80	23,14000 ^{bc}	0,90021	21,53 - 24,27
48 jam	32,78222 ^a	1,19480	30,77 - 33,83	26,23444 ^a	2,56831	23,37 - 29,67

Keterangan: Angka yang diikuti dengan huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata pada uji jarak berganda Duncan taraf 5%.

merupakan sitoskeleton yang secara sinergi bersama mikrofibril selulosa membentuk pola zig-zag untuk mempertahankan integritas epidermis daun.

Hasil analisis *flowcytometry* menunjukkan bahwa kolkisina tidak terbukti menginduksi poliploidisasi pada tanaman kembang kertas. Analisa *flowcytometry* daun dari tanaman kontrol maupun perlakuan berasal dari sel pucuk daun disajikan dalam histogram. Grafik tersebut menggambarkan bentuk puncak DNA G1 dengan menggunakan *channel* 200 yang ditetapkan sebagai standar 2C untuk sel diploid (Gambar 3). Dari gambar tersebut, baik kontrol maupun perlakuan berada pada *channel* 200 yang menunjukkan tanaman berupa diploid. Dalam grafik tersebut dapat dilihat bahwa puncak pada tanaman kontrol dan perlakuan memiliki tinggi yang berbeda.

Puncak tanaman menunjukkan kuantitas sel yang terhitung pada saat dilakukan analisis *flowcytometry*. Pada tanaman yang diberi perlakuan kolkisina

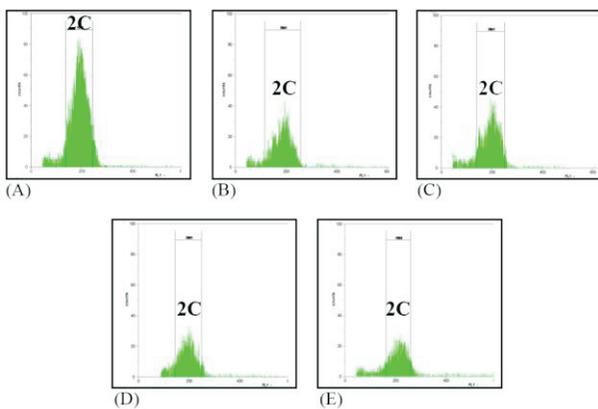
menunjukkan bahwa sel yang terhitung lebih rendah dibanding kontrol. Hal tersebut mengindikasikan bahwa ada kemungkinan efek kolkisina memberikan pengaruh terhadap apoptosis pada sel.

SIMPULAN

Induksi kolkisina memberikan pengaruh peningkatan rerata pada karakter daun dan stomata serta memberikan pengaruh terhadap kerusakan *pavement cell* dan penurunan kuantitas sel daun.

DAFTAR PUSTAKA

- Assmann SM & Baskin TI, 1998. The function of guard cells does not require an intact array of cortical microtubules. *Journal of Experimental Botany*, 49(319): 163-170.
- Frank MJ, Cartwright HN, Smith LG, 2003. Three Brickgenes have distinct functions in a common and cell morphogenesis pathway promoting polarized cell division in the maize leaf epidermis. *Development*, 130: 753-762.
- Panteris PA & Galatis B. 1993a. Microtubules and morphogenesis in ordinary epidermal cells of *Vigna sinensis* leaves. *Protoplasma*, 174: 91-100.
- Panteris PA & Galatis, B. 1993b. Microtubule organization and cell morphogenesis in two semi-lobed cell types of *Adiantum capillus-veneris* L. leaflets. *New Phytol*, 125: 509-520.
- Panteris & Galatis B, 2005. The Morphogenesis of lobed plant cells in the mesophyll and epidermis: organization and distinct roles of cortical microtubules and actin filaments. *New Phytologist*, 167(3): 721-731.
- Satina S & Blakeslee AF, 1941. Periclinal chimeras in *Datura stramonium* in relation to development of leaf and flower. *American Journal of Botany*, 28: 862-871.
- Szymanski DB & Cosgrove DJ, 2009. Dynamic Coordination of Cytoskeletal and Cell Wall Systems during Plant Cell Morphogenesis. *Current Biology*, 19: 800-811.
- Qiu JL, Jilk R, Marks MD, Szymanski DB, 2002. The *Arabidopsis* SPIKE 1 gene is required for normal cell shape control and tissue development. *Plant Cell*, 14: 101-118.
- Ye, Y. M., J. Tong, X.P. Shi, W. Yuan, G.R. Li. 2010. Morphological and cytological studies of diploid and colchicine-induced tetraploid lines of crape myrtle (*Lagerstroemia indica* L.). *Scientia Horticulturae*, 124: 95-101.



Gambar 3. Hasil uji sitologis dengan menggunakan *flowcytometry* untuk mengetahui pengaruh kolkisina terhadap kuantitas sel. (A) Kontrol; (B) perendaman 12 jam; (C) perendaman 24 jam; (D) perendaman 36 jam; (E) perendaman 48 jam. 2C = diploid.