

Derajat Ploidi Jahe Merah (*Zingiber officinale* Roxb. var. *rubrum* Rosc.) Hasil Induksi Dengan Kolkisin

MEILIANA FRISKA¹ DAN BUDI SETIADI DARYONO²

¹Program studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian Universitas Graha Nusantara
Tor Simarsayang, Padangsidempuan, Sumatera Utara 22717
email: melianafriksa90@gmail.com

²Laboratorium Genetika dan Pemuliaan, Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada
Jl. Teknika Selatan, Sekip Utara, Yogyakarta 55281
email: bs_daryono@mail.ugm.ac.id

ABSTRACT

Red ginger (*Zingiber officinale* Roxb. var. *rubrum* Rosc.) is one of the herb plants that often being used as a spice, traditional medicines, sweets, drinks, and material export commodities. The ginger's rhizome is the most common because it is good for health freshness, and spice for food. The spicy from the ginger comes from ketone compounds 'gingerol'. This research aims to produce polyploidy crops in red ginger by observing the changes of phenotype characters on the leaves, stems and rhizome resulted from colchicine induction. This research was based on experimental method with Randomized design with two factors, which were colchicine concentration (0,05%, 0,1% and 0,2%) and incubation time (6, 12 and 24 hours). Ploidy level was observed using flow cytometry technique. The data were analyzed using Analysis of Variance (ANOVA) and statistical data processing was done using F test at $\alpha = 5\%$. If the result shows any significant differences then was followed with Duncan Multiple Range Test (DMRT). The results showed that the change in the ploidy degree of red ginger was seen in K1W2 (0,05 % concentration of incubation time 12 hours) with increasing in ploidy from the diploid ($2n$) to mixoploid ($2n= 2x+4x$).

Keywords: colchicine, flow cytometry, polyploidy, *Zingiber officinale* Roxb. var. *rubrum* Rosc.

INTISARI

Jahe merah (*Zingiber officinale* Roxb. var. *rubrum* Rosc.) merupakan salah satu tanaman jenis temu-temuan yang banyak digunakan sebagai bumbu masakan, bahan obat tradisional, manisan, minuman penyegar, dan sebagai bahan komoditas ekspor non migas. Rimpang pada jahe memiliki manfaat untuk kesehatan kesegaran, dan campuran untuk membuat masakan. Rasa pedas yang ditimbulkan pada jahe disebabkan adanya senyawa keton 'gingerol'. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan tanaman poliploid pada jahe merah dengan mengamati perubahan karakter fenotip pada daun, batang dan rimpang hasil induksi kolkisin. Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dengan Rancangan Acak Kelompok (RAK) pola faktorial dengan dua faktor yaitu konsentrasi kolkisin (0,05%, 0,1% and 0,2%) dan waktu perendaman (6, 12 dan 24 jam). Derajat ploidi diamati menggunakan teknik *flow cytometry* untuk mengamati perubahan kromosom dan derajat ploidi. Hasil pengamatan dianalisis dengan *Analysis of Variance* (ANOVA) dan pengolahan data secara statistik dilakukan dengan menggunakan uji F pada taraf $\alpha = 5\%$. Jika menunjukkan perbedaan nyata dilanjutkan dengan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT). Hasil penelitian menunjukkan bahwa derajat ploidi jahe merah hasil induksi kolkisin terlihat pada perlakuan K1W2 (konsentrasi 0,05% lama perendaman 12 jam) dengan peningkatan ploidi dari diploid ($2n$) menjadi mixoploid ($2n=2x+4x$).

Kata kunci: *flow cytometry*, kolkisin, poliploidi, *Zingiber officinale* Roxb. var. *rubrum* Rosc.

PENDAHULUAN

Jahe (*Zingiber officinale* Rosc.) adalah salah satu tanaman temu-temuan suku Zingiberaceae yang banyak digunakan sebagai bumbu, bahan obat tradisional, manisan, minuman penyegar, dan bahan komoditas ekspor non migas. Pasokan jahe dari Indonesia ke negara pengimpor jahe dalam beberapa tahun terakhir ini cukup meningkat. Akan tetapi, peningkatan permintaan akan jahe belum dapat diimbangi dengan peningkatan produksi jahe (Rostiana dkk, 2005).

Jahe memiliki jumlah kromosom $2n=2x=22$, namun beberapa kultivar jahe diketahui sebagai poliploid. Peter *et al.* (2002) mengobservasi 9 *Zingiber* spp. dan menemukan bahwa *Zingiber officinale* bersifat aneuploid ($2n=24$) dan poliploid ($2n=66$). Hasil penelitian Yulianto dan Parjanto (2010) menemukan jumlah kromosom jahe merah yaitu $2n=24$.

Pemuliaan tanaman adalah suatu perpaduan seni dan ilmu pengetahuan yang mempelajari bagaimana memperbaiki fenotip tanaman dalam populasi sehingga lebih bermanfaat bagi manusia (Sudarka dkk, 2009). Kegiatan pemuliaan tanaman jahe merupakan rangkaian kegiatan penelitian suatu varietas jahe untuk menghasilkan varietas baru dan mempertahankan kemurnian benih varietas yang dihasilkan.

Poliploid adalah keadaan bahwa individu memiliki lebih dari dua genom, lebih banyak dijumpai pada tumbuhan. Kolkisin merupakan salah satu bahan kimia apabila diberikan pada tanaman dapat menyebabkan tanaman poliploid (Ommezine *et al.*, 2012). Kolkisin bersifat sebagai racun yang terutama pada tumbuhan memperlihatkan pengaruhnya pada nukleus yang sedang membelah. Larutan kolkisin dapat mencegah terbentuknya mikrotubulus sehingga pemindahan kromosom pada tahap anafase dari mitosis tidak berlangsung dan menyebabkan penggandaan kromosom (Naghatenna and Peiris, 2008). Kolkisin bekerja efektif pada konsentrasi 0,05% sampai 0,1% selama 1 hari, 3 hari, dan 7 hari dan menghasilkan

tetraploid pada tanaman *Calanthe* (Chung *et al.*, 2014).

Flow cytometry merupakan mikroskop fluoresensi yang menganalisis Bergeraknya partikel dalam suspensi menggunakan sumber cahaya berupa (UV atau laser). Program *flow cytometry* mengkonversi sinyal menjadi bentuk grafik melalui intensitas fluoresensi dipancarkan terhadap hitungan sel pada waktu tertentu. *Flow cytometry* terdiri dari fluidik, optik dan elektronik, karena ukuran sel dalam suspensi yang mengalir dalam satu file melalui volume diterangi maka dapat menghamburkan cahaya dan memancarkan fluoresensi yang dikumpulkan kemudian disaring dan diubah menjadi nilai digital untuk penyimpanan pada komputer (Ochatt, 2008). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui derajat ploidi jahe merah hasil induksi dengan kolkisin.

METODE

Induksi Kolkisin. Induksi kolkisin dilakukan dengan cara rimpang jahe merah diinduksi dengan masing-masing konsentrasi 0,05%, 0,1%, dan 0,2% dan lama perendaman 6 jam, 12 jam, dan 24 jam setelah selesai diinduksi kemudian jahe ditanam pada media taman yang telah disediakan. Waktu induksi dilakukan pada pagi hari karena pembelahan mitosis pada jahe optimum terjadi pada jam 08.00-10.00 (Etikawati dan Setyawan, 2000). Perubahan karakter fenotip hasil induksi kolkisin dilihat dari berat rimpang jahe merah setelah jahe berumur 6 bulan setelah tanam.

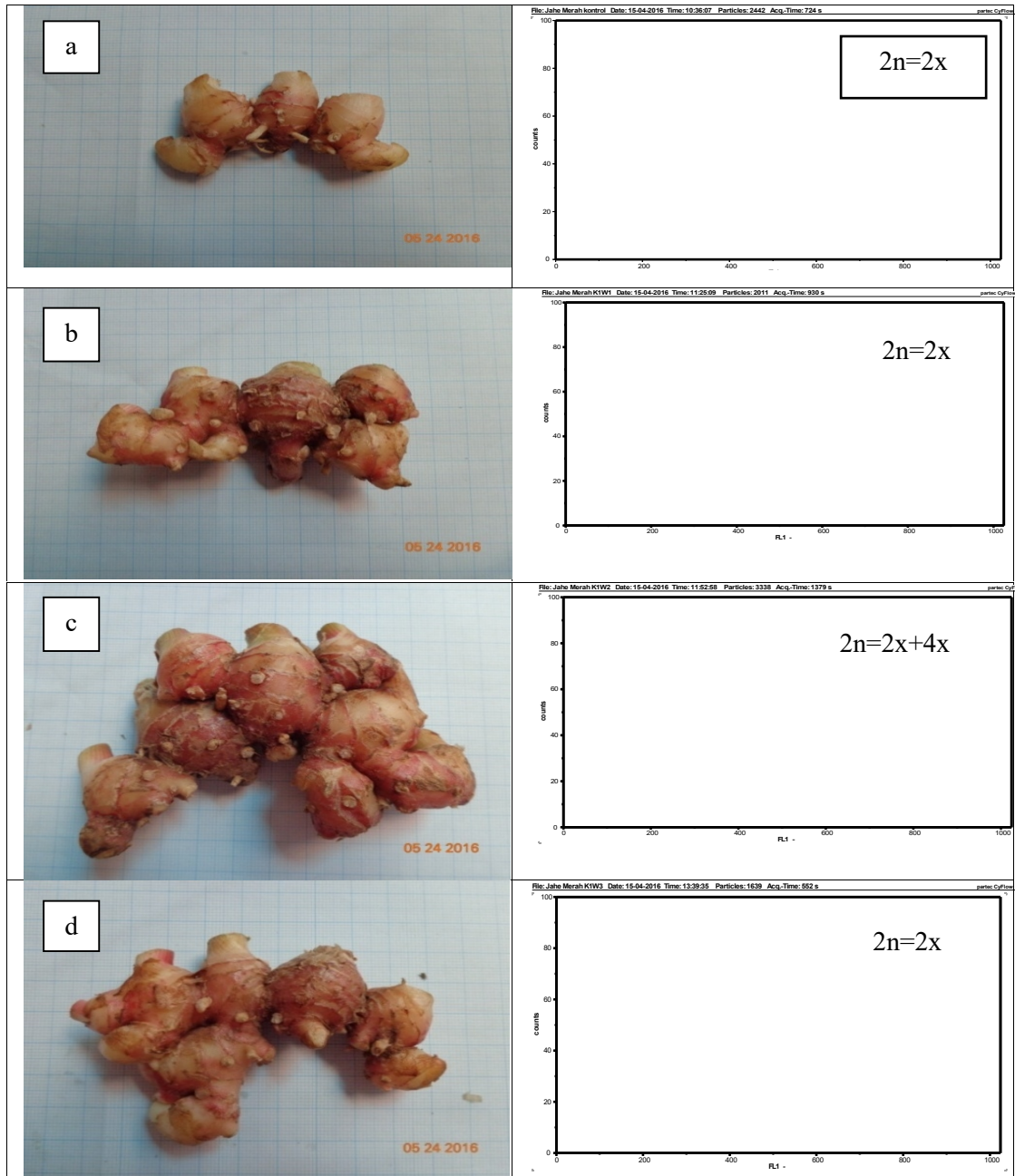
Pengukuran Derajat Ploidi. Derajat ploidi diamati menggunakan teknik *flow cytometry* dengan alat *Partec CyFlow®* (Partec, 2010) untuk melihat perubahan kromosom. Langkah kerja yang dilakukan adalah daun yang berumur 5 bulan hasil dari induksi kolkisin dipotong dengan ukuran $\frac{1}{2} \times \frac{1}{2}$ cm, diletakkan dalam cawan petri kecil dan diberi 250 μM *propidium iodide*, kemudian dicacah hingga halus, disaring dan dimasukkan dalam tube, ditambahkan 2 ml *cystain Pi* kemudian tube dimasukkan ke dalam alat *flow cytometer* selama 5 menit. Hasilnya akan ditampilkan dalam layar

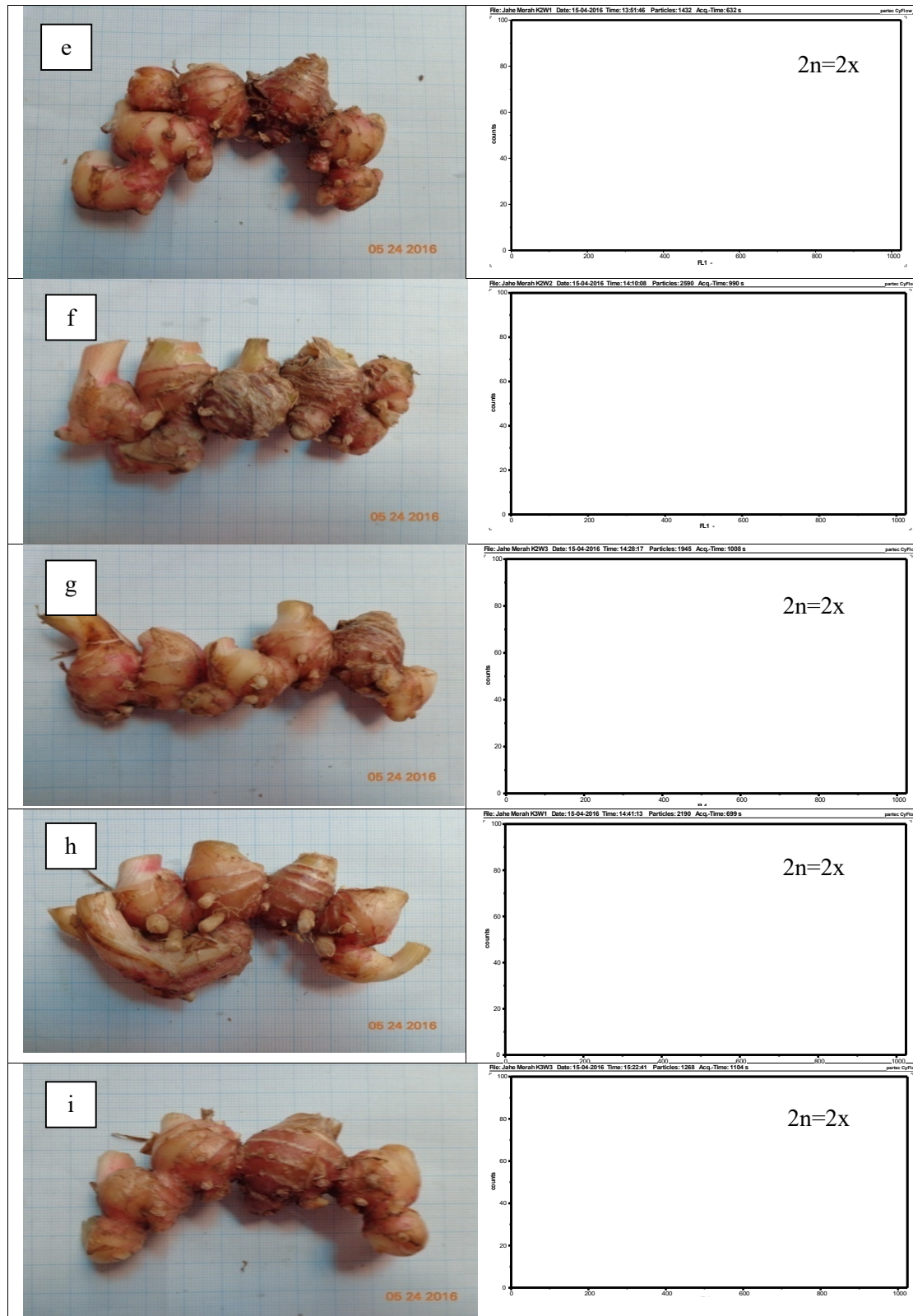
komputer melalui *software flomax* (Hayati dkk., 2009).

Analisis Data. Data yang terkumpul dianalisis dengan *Analysis of Variance* (ANOVA) dan pengolahan data secara statistik dilakukan dengan menggunakan uji F pada taraf $\alpha=5\%$. Jika hasil menunjukkan perbedaan nyata dilanjutkan dengan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT).

HASIL

Pengaruh Kolkisin Terhadap Ploidi Jahe Merah. Dari hasil analisis *flow cytometry* menunjukkan bahwa pada perlakuan K1W1, K1W3, K2W1, K2W2, K2W3, K3W1, dan K3W3 menunjukkan hasil yang sama dengan kontrol yaitu diploid ($2n$) sedangkan K1W2 mengalami peningkatan dari diploid menjadi mixoploid ($2n=2x+4x$).





Gambar 1. Morfologi rimpang jahe merah dan tingkat ploidynya sesuai histogram hasil analisis *flow cytometry*. a) Kontrol diploid ($2n=2x$); b) K1W1 diploid ($2n=2x$); c) K1W2 mixoploid ($2n=2x+4x$); d) K1W3 diploid ($2n=2x$); e) K2W1 diploid ($2n=2x$); f) K2W2 diploid ($2n=2x$); g) K2W3 diploid ($2n=2x$); h) K3W1 diploid ($2n=2x$); i) K3W3 diploid ($2n=2x$).

PEMBAHASAN

Histogram pada Gambar 1. menunjukkan bahwa puncak DNA pada perlakuan KIW1, K1W3, K2W1, K2W2, K2W3, K3W1 dan K3W3 terletak pada mean-x 200 dan pada perlakuan K1W2 memiliki dua puncak DNA yang terletak pada mean-x 200 dan mean-x 400.

Dari hasil perlakuan kolkisin pada tanaman jahe merah ternyata tingkat keberhasilan tetraploid belum tercapai. Penyebab belum tercapainya tanaman tetraploid ini diduga dipengaruhi banyak hal, salah satunya adalah resistensi tanaman terhadap larutan kimia kolkisin. Resistensi mikrotubula pada sel tanaman lebih tinggi dari pada sel hewan. Burun and Emiroglu (2008) menyatakan bahwa perlakuan kolkisin dapat menyebabkan toksisitas pada sel-sel tanaman yang berujung pada kerusakan dan kematian sel, tetapi pada konsentrasi yang tepat kolkisin dapat menginduksi poliploid. Diketahui fungsi dari mikrotubula adalah untuk proses pembelahan sel. Ketika kolkisin menghambat proses pembentukan mikrotubula pada saat pembelahan sel di tahap anafase maka terjadi peristiwa penggandaan kromosom (Calligaris *et al.*, 2010). Dalam hal ini juga telah dibuktikan bahwa kolkisin dapat menyebabkan apoptosis pada sel sehingga menurunkan jumlah sel pada tanaman. Apoptosis tersebut disebabkan karena kegagalan penyusunan protein dalam sel dan menurunnya proses endositosis dan eksositosis akibat pengaruh kolkisin (Finkelstein *et al.*, 2010). Dengan demikian perlu diperhatikan faktor-faktor lingkungan yang dapat mempengaruhi keberhasilan induksi kolkisin pada tanaman.

Faktor lingkungan yang berpengaruh terhadap karakter fenotip suatu tanaman adalah ketersediaan air, hara, suhu, intensitas cahaya dan kelembaban tanah. Faktor lingkungan tersebut akan menyebabkan pertumbuhan pada tanaman akan hidup atau mati tergantung dari jenis ketahanannya. Hal ini terlihat pada perlakuan K3W2, dari awal penanaman rimpang jahe pada perlakuan tersebut tidak menunjukkan adanya pertumbuhan tunas. Setelah jahe siap panen

umur 6 bulan ternyata rimpang pada perlakuan K3W2 tidak mengalami pertumbuhan, hal ini diduga adanya pengaruh faktor internal dan eksternal di lahan *green house* dan disebabkan juga efek kolkisin terhadap suatu tanaman berbeda-beda.

Limera *et al.* (2016), menyatakan bahwa konsentrasi kolkisin memerlukan durasi waktu yang tepat, jika konsentrasi kolkisin dan lama perendaman tinggi akan mengakibatkan kematian pada tumbuhan. Pada perlakuan K3W2 pemberian pupuk dan penyiraman tidak memiliki perbedaan antara perlakuan lainnya, akan tetapi pada perlakuan K3W2 rimpang jahe tidak tumbuh hal ini diduga karena adanya gangguan metabolisme. Hal ini sesuai dengan pendapat Prihatman (2000), bahwa gangguan metabolisme juga menyebabkan pertumbuhan tanaman terganggu bahkan dapat mengakibatkan kematian.

Perlakuan K1W2 lebih efektif untuk menghasilkan tanaman poliploid, walaupun hasil *flow cytometry* menunjukkan tanaman jahe tersebut masih mixoploid ($2n=2x+4x$) tetapi karakter-karakter fenotip yang diamati menunjukkan perbedaan ukuran yang lebih besar dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Salah satu ciri tanaman mixoploid adalah memiliki pertumbuhan yang lambat (Limera *et al.*, 2016), tetapi setelah tanaman berumur dua bulan, tanaman tersebut memiliki pertumbuhan yang lebih cepat dan lebih besar dibandingkan dengan kontrol. Pertumbuhan yang lambat juga diduga karena adanya tahap pembelahan sel yang berbeda pada semua tumbuhan. Yadav *et al.* (2013), menyatakan bahwa setiap tanaman dengan perlakuan kolkisin menghasilkan tahapan pembelahan mitosis yang berbeda.

KESIMPULAN

Derajat ploidi jahe merah pada perlakuan konsentrasi perlakuan 0,05% lama perendaman 12 jam (K1W2) menghasilkan tanaman mixoploid ($2n=2x+4x$) sedangkan 0,05% lama perendaman 6 jam (K1W1), 0,05% lama perendaman 24 jam (K1W3), 0,1% lama perendaman 6 jam (K2W1), 0,1% lama perendaman 12 jam (K2W2), 0,1% lama

perendaman 24 jam (K2W3), 0,2% lama perendaman 6 jam (K3W1), dan 0,1% lama perendaman 24 jam (K3W3) menghasilkan tanaman diploid (2n).

UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi (DIKTI) yang telah memberikan beasiswa 3T, Pusat Inovasi Agro Teknologi (PIAT) UGM yang telah memberikan izin pemakaian *green house* sampai penelitian selesai serta Bapak Romli dan Bapak Saija yang telah banyak membantu dalam menyelesaikan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Burun B and Emiroglu U. 2008. A comparative study on colchicine application methods in obtaining doubled haploids of tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) *Turk. J. Biol.* vol 32(2): 105-111.
- Calligaris D, Verdier-Pinard P, Devred F, Villard C, Braguer D and Daniel L. 2010. Microtubule targeting agents: from biophysics to proteomics. *Cell. Mol. Life Sci.* vol 67(7): 1089-1104. doi: 0.1007/s00018-009-0245-6.
- Chung MY, Kim C.Y., Min, J.S., Lee, Do-Jin., Naing, A.H., Chung, J.D., and Kim, C.K. 2014. In vitro induction of tetraploids in an interspecific hybrid of *Calanthe* (*Calanthe discolor* x *Calanthe sieboldii*) through colchicine and oryzalin treatments. *Korean Society for Plant Biotechnology.* vol 8 (3):251-257. doi: <https://doi.org/10.1007/s11816-014-0317-4>.
- Etikawati N dan Setyawan AD. 2000. Studi Sitotaksonomi pada Genus Zingiber. Surakarta. *Biodiversitas.* vol 1(1): 8-13. doi: 10.13057/biodiv/d010102.
- Finkelstein Y, Aks SE, Hutson JR, Juurlink DN, Nguyen P, Dubnov-Raz G, Pollak U, Koren G, Bentur Y. 2010. Colchicine poisoning: the dark side of an ancient drug. *Clin Toxicol (Phila).* vol 48(5): 407. doi: 10.3109/15563650.2010.495348.
- Hayati WM, Rini P, dan Widjaksono. 2009. Induksi Poliploidi Kentang Hitam (*Solenostemon rotundifolius* (Poir) J. K. Morton) Aksesori Sangian Secara *In Vitro*. Laporan Teknik, Pusat Penelitian Biologi-LIPI.
- Limera C, Wang K, Xu L, Wang Y, Zhu X, Feng H, Sha Y, Gong Y, Liu L. 2016. Induction of autotetraploidy using colchicine and its identification in radish (*Raphanus sativus* L.). *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology.* vol 91(1): 63-70. doi: <http://dx.doi.org/10.1080/14620316.2015.1110993>.
- Nagahatenna DSK and Peiris SE. 2008. Modification of Plant Architecture of *Hemidesmus indicus* (L.) R. Br. (*Iramusu*) by In vitro Colchicine Treatment. *Tropikal Agricultural Research.* vol 20: 234-242.
- Ochatt JS. 2008. Flow Cytometry in Plant Breeding. *International Society Advancement of Cytometry.* vol 73(7): 581-598. doi: 10.1002/cyto.a.20562.
- Peter KV, Ravindran PN, Babu NK, Sasikumar B, Minoo D, Geetha SP, Rajalakshmi K. 2002. Establishing in vitro Conservatory of Spices Germplasm. ICAR Project Report. Indian Institute of Spices Research. Calicut. p 131.
- Rostiana O, Abdullah A, Taryono, Haddad EA. 2005. Jenis-jenis Tanaman Jahe. Edisi khusus Penelitian Tanaman Rempah dan Obat. vol VII (1): 7-10.
- Sudarka W, Sarwadana SM, Wijana IG, Pradnyawati NM. 2009. Pemuliaan Tanaman. Program Studi Agronomi. Denpasar: Universitas Udayana.
- Yadav AK, Singh S, Yadav SC, Dhyani D, Bhardwaj G, Sharma A, Singh B. 2013. Induction and morpho-chemical characterization of *Stevia rebaudiana* colchicoids. *Indian Journal of Agricultural Sciences.* vol 83 (2): 156-165.
- Yulianto FK dan Parjanto. 2010. Analisis kromosom jahe (*Zingiber officinale* var. *officinale*). *Agrosains.* vol 12(2): 60-6.