

PEMBENTUKAN VARIETAS SIRSAK UNGGUL MELALUI PEMULIAAN POLIPLIIDI: Induksi Poliplioidi Tanaman Sirsak dengan Kolkisin

Parjanto

Fakultas Pertanian UNS, Jl. Ir. Sutami, No : 36A Ska, 0271637457

Abstrak. Pembentukan Varietas Sirsak Unggul Melalui Pemuliaan Poliplioidi: Induksi Poliplioidi Tanaman Sirsak Dengan Kolkisin. Penelitian ini bertujuan membentuk sirsak unggul melalui serangkaian penelitian pemuliaan poliplioidi secara bertahap; tahap pertama bertujuan mempelajari pengaruh perlakuan kolkisin terhadap fenotipe dan jumlah kromosom bibit sirsak sekaligus membentuk tanaman sirsak poliplioid. Penelitian dilakukan melalui percobaan berulangan untuk menguji pengaruh perlakuan kolkisin (0,10%, 0,15%, dan kontrol/tanpa kolkisin) terhadap fenotipe bibit dan jumlah kromosom sirsak. Variabel-variabel yang diamati adalah tinggi tanaman jumlah daun, dan kromosom. Hasil penelitian menunjukkan bahwa: (1) perlakuan kolkisin 0,1 % dan 0,15 % tidak berpengaruh terhadap tinggi tanaman dan jumlah daun pada pertumbuhan awal (vegetatif), belum teridentifikasi tanaman poliplioid berdasar pengamatan fenotipe; (2) tanaman srikaya diploid mempunyai susunan kromosom (rumus kariotipe) $2n = 14 = 12m + 2sm$ atau $n = 7 = 6m + 1m$ (terdiri atas 6 pasang kromosom metasentris, 1 pasang kromosom submetasentris).

Kata kunci: poliplioidi, kromosom, kolkisin, sirsak, *annona muricata*

PENDAHULUAN

Sirsak (*Annona muricata* L.) merupakan komoditas buah tropika yang potensial tetapi belum mendapat perhatian secara memadai. Permintaan pasar akan buah sirsak sebagai bahan baku industri pengolahan buah hingga sekarang masih belum terpenuhi dikarenakan tingkat produksi yang masih rendah (Sunaryono, 2008). Minat mengkonsumsi buah sirsak semakin meningkat karena tanaman dan buah sirsak juga dikenal sebagai tanaman berkasiat obat. Pengembangan budidaya sirsak dapat mendukung usaha pemenuhan gizi masyarakat dan meningkatkan pendapatan petani.

Usaha pembentukan varietas sirsak (*Annona muricata* L.) unggul melalui pemuliaan berkontribusi penting dalam pengembangan komoditas buah ini. Tersedianya varietas sirsak unggul yang berdaya hasil tinggi dan menghasilkan buah berkualitas sesuai selera konsumen sangat dibutuhkan dalam pengusahaan

tanaman ini. Sifat-sifat unggul yang dikehendaki pada tanaman sirsak antara lain adalah menghasilkan buah berukuran besar dan berbentuk semetris, mempunyai rasa manis, dan berbiji sedikit atau tanpa biji (Ray, 2002). Terbentuknya varietas sirsak dengan sifat-sifat unggul ini merupakan tujuan pokok dalam pemuliaan sirsak.

Pemuliaan sirsak dengan metode poliplioidi (penggandaan jumlah kromosom) merupakan pendekatan yang sesuai untuk mencapai tujuan pemuliaan tersebut di atas. Kromosom mengandung gen-gen pengatur sifat tanaman, maka penggandaan jumlah kromosom dapat merubah sifat tanaman. Poliplioidi (penggandaan jumlah kromosom) dapat menimbulkan keragaman genetik dan dapat membentuk sifat-sifat baru (Woodhouse dkk., 2009).

Tanaman sirsak mempunyai jumlah kromosom $2n = 2x = 14$ (bersifat diploid). Melalui induksi poliplioidi dapat

dibentuk tanaman sirsak poliploid (jumlah kromosom lebih dari $2x$). Tanaman poliploid pada umumnya bersifat lebih vigor dan dapat menghasilkan buah berukuran lebih besar dan rasa lebih manis. Tanaman triploid ($2n = 3x$) dapat menghasilkan buah berbiji sedikit (tanpa biji). Metode pemuliaan poliploidi telah berhasil digunakan dalam pembentukan buah semangka triploid tanpa biji. (Chahal and Gosal, 2002).

Berdasar latar belakang sebagaimana diuraikan di atas, perlu dilakukan usaha pembentukan varietas sirsak unggul melalui pemuliaan dengan metode poliploidi. Pada tahap pertama akan dilakukan pembentukan tanaman sirsak poliploid melalui induksi poliploidi dengan kolkisin.

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Rumah Kaca dan Laboratorium Pemuliaan Tanaman Fakultas Pertanian UNS Surakarta, mulai bulan Juli sampai Nopember 2011.

Bahan dan Alat Penelitian

Bahan tanam yang digunakan adalah benih/biji sirsak lokal asal Sukolilo-Pati. Media tanam yang digunakan berupa campuran tanah dan pupuk kandang dalam polibag. Larutan kolkisin digunakan untuk perlakuan/induksi poliploidi. Bahan-bahan untuk pengamatan kromosom antara lain: orcein, asam asetat, etanol, HCl, minyak emersi, foto-film.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: mistar, jangka sorong, mikroskop-foto, pipet, botol flakon, pinset.

Tatalaksana Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian percobaan faktor

tunggal, yaitu menguji pengaruh konsentrasi kolkisin terhadap fenotipe (keragaan) dan genotipe (jumlah kromosom bibit sirsak). Macam konsentrasi perlakuan kolkisin yang diuji adalah:

P1: Kontrol (Tanpa perlakuan kolkisin)

P2: Perlakuan kolkisin 0,10

P3: Perlakuan kolkisin 0,15 dan

Perlakuan kolkisin dilakukan terhadap benih yang telah berkecambah (telah membuka koteledonnya dan membentuk daun pertama/dua) dengan meneteskan kolkisin pada titik tumbuh mengikuti metode Yudiwanti dkk (2006). Penetasan kolkisin dilakukan selama 2 hari berturut-turut, dua kali dalam sehari, dengan konsentrasi larutan kolkisin sesuai macam perlakuan (P1-P3). Percobaan disusun dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL).

Peubah yang diamati adalah fenotipe pertumbuhan awal dan genotipe (jumlah dan susunan kromosom). Pengamatan fenotipe meliputi tinggi tanaman pada umur 2, 4, dan 8 minggu setelah tanam (MST), jumlah daun pada umur 4 dan 8 minggu setelah tanam (MST). Pengamatan kromosom dilakukan dengan menghitung jumlah kromosom, mengidentifikasi sifat-sifat morfologi kromosom, dan mengidentifikasi susunan kromosom (kariotipe). Pembuatan preparat untuk pengamatan kromosom dilakukan menggunakan metode pencet (*squase*) mengikuti Parjanto dkk. (2003).

Pembuatan sediaan kromosom dengan metode *squash* (pemencetan). Ujung akar/daun yang meristematis diambil kira-kira 5 mm, direndam dalam air suling selama 24 jam pada suhu $5-8^{\circ}\text{C}$, kemudian difiksasi dengan larutan asam asetat 45% selama 2-4 jam pada suhu kamar. Cuplikan ujung akar yang telah difiksasi selanjutnya 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 pewarnaan, bagian meristematis ujung akar (kurang-lebih 0,5 mm) diambil dan diletakkan pada gelas preparat. Selanjutnya bahan pada gelas preparat tersebut ditetesi asam asetat 45%, ditutup dengan gelas penutup, kemudian 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), 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

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tinggi Tanaman

Perlakuan kolkisin tidak berpengaruh terhadap tinggi tanaman sirsak pada pertumbuhan awal (fase bibit). Rerata tinggi tanaman sirsak umur 2, 4, dan 8 minggu setelah tanam (mst) pada berbagai perlakuan kolkisin dan kontrol (tanpa perlakuan kolkisin)

dipaparkan pada Tabel 1. Berdasar analisis ragam (Lampiran 2) terlihat bahwa perlakuan kolkisin tidak berpengaruh nyata terhadap tinggi tanaman, baik pada umur 2, 4, maupun 8 minggu. Hasil uji DMRT (Tabel 1) juga menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan rerata tinggi antara tanaman yang diperlakukan kolkisin dengan tanaman kontrol

Tabel 1. Rerata tinggi tanaman umur 2, 4, dan 8 minggu setelah tanam (MST) pada berbagai perlakuan konsentrasi kolkisin

Perlakuan	Umur Tanaman (MST)		
	2	4	8
Tanpa Kolkisin (Kontrol)	10.46a	11.38a	14.11a
Kolkisin 0.1%	10.73a	11.69a	14.19a
Kolkisin 0.15%	10.73a	11.58a	14.26a

Keterangan: Angka yang diikuti dengan huruf yang sama menunjukkan tidak beda nyata pada uji jarak berganda Duncan (DMRT) 5%

Berdasar pengamatan tinggi tanaman tidak didapat tanda-tanda munculnya tanaman yang

berbeda/berubah sifat akibat perlakuan kolkisin dibanding tanaman kontrol. Dengan demikian tidak teridentifikasi

munculnya tanaman poliploid berdasarkan pengamatan tinggi tanaman.

Jumlah Daun

Pemberian kolkisin tidak berpengaruh terhadap jumlah daun tanaman sirsak pada pertumbuhan awal (fase bibit). Rerata jumlah daun pada masing-masing perlakuan dipaparkan pada Tabel 2. Berdasar analisis ragam

(Lampiran 3) terlihat bahwa perlakuan kolkisin tidak berpengaruh terhadap jumlah daun per tanaman. Hasil uji DMRT (Tabel 2) juga menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan rerata jumlah daun antara tanaman yang diperlakukan kolkisin dengan tanaman kontrol

Tabel 2. Rerata jumlah daun per tanaman umur 4 dan 8 minggu setelah tanam (MST) pada berbagai perlakuan konsentrasi kolkisin

Perlakuan	Umur Tanaman (MST)	
	4	8
Tanpa Kolkisin (Kontrol)	4.00a	6.15a
Kolkisin 0.1%	4.00a	5.92a
Kolkisin 0.15%	4.08a	6.23a

Keterangan: Angka yang diikuti dengan huruf yang sama menunjukkan tidak beda nyata pada uji jarak berganda Duncan (DMRT) 5%

Berdasar pengamatan jumlah daun tidak didapat tanda-tanda munculnya tanaman yang berbeda/berubah sifat akibat perlakuan kolkisin dibanding tanaman kontrol. Dengan demikian tidak teridentifikasi munculnya tanaman poliploid berdasarkan pengamatan jumlah daun.

Kromosom Tanaman Sirsak

Pengamatan kromosom pada tanaman kontrol (sirsak diploid) telah berhasil dengan baik dan akan dilaporkan sebagai informasi mengenai susunan kromosom (karyotipe) tanaman sirsak.

Pengamatan kromosom pada tanaman yang diperlakukan kolkisin telah dilakukan, tetapi sampai laporan ini disusun belum diperoleh hasil pengamatan secara baik. Pengamatan kromosom pada tanaman yang diperlakukan kolkisin masih berlangsung untuk mendapatkan hasil yang baik.

Kromosom tanaman sirsak diploid

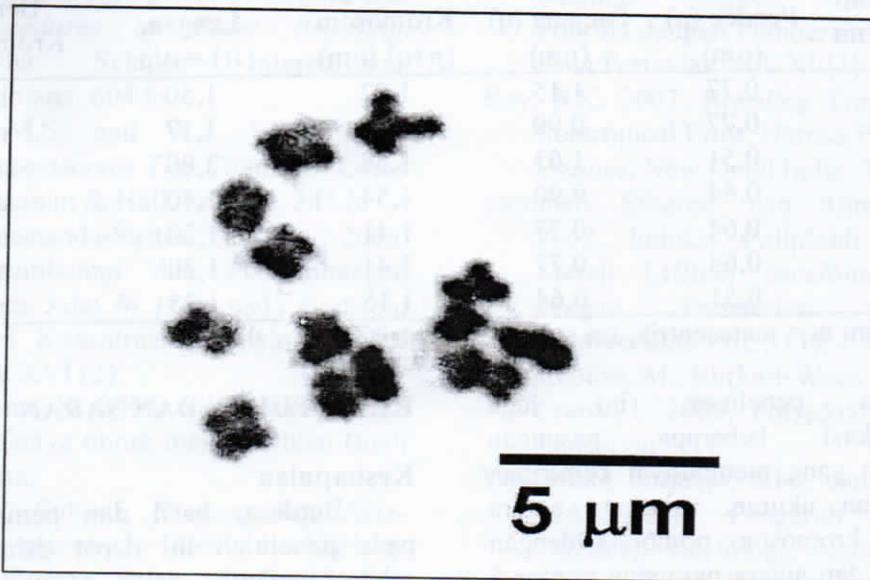
Pengamatan kromosom sirsak telah berhasil dilakukan dengan dengan

metode *squash* dan pewarnaan *aceto-orcein*. Identifikasi sifat-sifat morfologi (jumlah, ukuran, dan bentuk kromosom) dapat dilakukan pada metafase (Gambar 1). Hasil pengamatan kromosom sel somatis menunjukkan bahwa tanaman sirsak memiliki jumlah kromosom $2n = 14$ (Gambar 1 dan Gambar 2). Jumlah tersebut mempertegas informasi sebelumnya mengenai jumlah kromosom sirsak yakni $2n = 14$ (Ray, 2002).

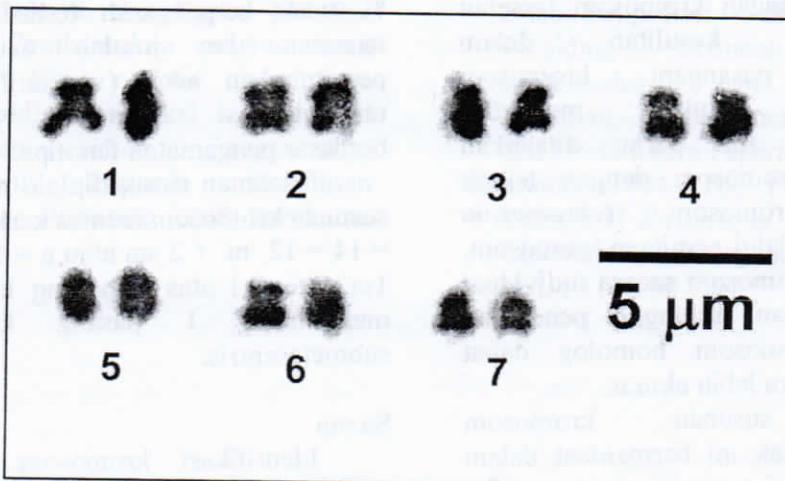
Hasil pengamatan ukuran dan bentuk kromosom sirsak dipaparkan pada Tabel 3. Panjang kromosom sirsak berkisar antara (1,15) μm sampai dengan (1,92) μm . Lengan pendek kromosom berkisar antara (0,51) μm sampai dengan (0,77) μm , sedangkan lengan panjang berkisar antara (0,64) μm sampai dengan (1,15) μm .

Berdasarkan rata-rata panjang kromosom, salak termasuk tanaman yang mempunyai kromosom berukuran kecil. Oleh karena itu, identifikasi kromosom salak sebaiknya dilakukan pada sel-sel prometafase, karena pada fase tersebut ukuran kromosom jauh

lebih panjang dan struktur kromosom sel-sel metafase.
tampak lebih jelas dibandingkan dengan



Gambar 1. Kromosom metafase sel omatik tanaman sirsak diploid (*A. muricata*, $2n = 14$)



Gambar 2. Karyogram (susunan kromosom berdasar urutan ukuran panjang dan bentuk kromosom, berdasar foto kromosom pada gambar 1) tanaman sirsak diploid (*A. muricata*, $2n = 14$)

Bentuk masing-masing kromosom ditentukan berdasarkan nisbah lengan kromosom (nisbah lengan panjang dan lengan pendek) mengikuti cara Olinici *cit.* Ciupercescu *et al.* (1990). Berdasarkan jumlah dan bentuk bentuk

kromosom tersebut di atas, maka rumus karyotipe sirsak adalah $2n = 14 = 12 m + 2 sm$ atau $n = 7 = 6 m + 1 sm$, yakni terdiri atas 6 pasang kromosom metasentris, 1 pasang kromosom submetasentris.

Tabel 3. Panjang lengan pendek (p) dan lengan panjang (q) serta bentuk kromosom tanaman sirsak (*A. muricata*, $2n = 14$)

Pasangan Kromosom	Lengan Pendek (p) (μm)	Lengan Panjang (q) (μm)	Panjang Kromosom (p+q) (μm)	Rasio Panjang Lengan, (r) = q/p	Bentuk Kromosom
1	0,77	1,15	1,92	1,50	m
2	0,77	0,90	1,67	1,17	m
3	0,51	1,03	1,54	2,00	sm
4	0,64	0,90	1,54	1,40	m
5	0,64	0,77	1,41	1,20	m
6	0,64	0,77	1,41	1,20	m
7	0,51	0,64	1,15	1,25	m

Keterangan: m = metasentrik, sm = submetasentrik

Pada penelitian ini juga teridentifikasi beberapa pasangan kromosom yang mempunyai kemiripan bentuk dan ukuran, misalnya antara pasangan kromosom nomor 3 dengan nomor 4 dan antara pasangan nomor 5 dengan pasangan nomor 6. Kemiripan beberapa pasangan kromosom tersebut menimbulkan kesulitan dalam penentuan pasangan kromosom homolog. Untuk mengatasi permasalahan ini perlu dilakukan identifikasi kromosom dengan teknik pemitaan kromosom (*chromosom banding*). Melalui pemitaan kromosom, identifikasi kromosom secara individual dapat dilakukan, sehingga penentuan pasangan kromosom homolog dapat dilakukan secara lebih akurat.

Informasi susunan kromosom (kariotipe) sirsak ini bermanfaat dalam studi lebih lanjut tentang sitogenetika dan pemuliaan sirsak.

Kromosom Tanaman hasil Perlakuan Kolkisin

Pengamatan kromosom pada tanaman yang diperlakukan kolkisin telah dilakukan, tetapi sampai laporan ini disusun belum diperoleh hasil pengamatan secara baik. Dengan demikian perbandingan jumlah kromosom tanaman yang diberi kolkisin dengan tanaman kontrol juga belum dilakukan.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasar hasil dan pembahasan pada penelitian ini dapat disimpulkan sebagai berikut:

Perlakuan kolkisin 0,1 % dan 0,15 % tidak berpengaruh terhadap tinggi tanaman dan jumlah daun pada pertumbuhan awal (vegetatif), belum teridentifikasi tanaman poliploid berdasar pengamatan fenotipe.

Tanaman sirsak diploid mempunyai susunan kromosom (rumus kariotipe) $2n = 14 = 12 m + 2 sm$ atau $n = 7 = 6 m + 1m$ (terdiri atas 6 pasang kromosom metasentris, 1 pasang kromosom submetasentris).

Saran

Identifikasi kromosom tanaman sirsak dengan teknik pemitaan kromosom (*chromosome banding*) perlu dilakukan untuk memperoleh hasil yang lebih akurat mengingat beberapa pasangan kromosom mempunyai bentuk dan ukuran yang mirip sehingga sulit dibedakan.

DAFTAR PUSTAKA

- Chahal and Gosal. 2002. *Principles and Procedures of Plant Breeding*. Alpha Science International, Ludhiana. 604 h.
- Clark, M.S. and W.J. Wall. 1996. *Chromosomes The Complex Code*. Chapman & Hall, London. 345 h.
- Dodo-Rusnanda-Sastra. 2005. Pertumbuhan dan Perkembangan Tunas Jahe *In Vitro* pada Berbagai level Kosentrasi Kolkisin. *Habitat* Vol. XVI (2)
- Sunaryono, H. 2008. Sirsak dan Sirsak, Budidaya untuk menghasilkan Buah Prima.
- Parjanto, Sukarti, Wayan, dan Aziz-Purwantoro, 2003. Koriotip Kromosom Salak. *Zuriaat* Vol.14 (2): 21-28.
- Parjanto, Sukaya, dan Djoko Mursito. 2010. Pembentukan varietas sirsak tanpa biji melalui pemuliaan poliploidi: induksi poliploidi tanaman sirsak menggunakan kolkisin. Laporan Penelitian Fakultas Pertanian UNS Surakarta. 24 h.
- Rahayu-Sulistiyangingsing, Suyanto Z.A., dan Noer A.E. 2004. Peningkatan Kualitas Anggerk Dendrobium Hibrida dengan Pemberian Kolkisin. *Ilmu Pertanian* Vol. XI (1): 13-21.
- Ray, P.K. 2002. *Breeding Tropical and Subtropical Fruit*. Narosa Publishing House, New Delhi India. 338 h.
- Suminah, Sutarno, dan Ahmad D.S. 2002. Induksi Poliploidi Bawang Merah (*Allium ascalonicum* L.) dengan Pemberian Kolkisin. *Biodiversitas* Vol. 3 (1): 174-180.
- Woodhouse, M., Burkart-Waco, D. & Comai, L. 2009. Polyploidy. *Nature Education* 2(1).
- Yudiwanti, Sutjahjo, S.H., dan Rahayu, A.A. 2006. Pengaruh Kolkisin Terhadap Morfologi, Anatomi, dan Sitologi Zuriat Kacang Tanah Hasil Persilangan Interspesifik. Dalam Sriani-Sujiprihati dkk. (Eds.): *Prosiding Seminar Nasional Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman*, Departemen Agronomi dan Hortikultura Faperta IPB.
- Zulkarnain. 2004. The Production of Tetraploid *Swainsona formosa* by Colchicine Mutagenesis. *Zuriat* Vol. 15 (1): 60 - 64