

**ANALISIS POLA PITA-C KROMOSOM TANAMAN SALAK
JANTAN DAN BETINA (*Salacca zalacca* var. *zalacca*)**

**ANALYSIS OF C-BANDING CHROMOSOMES OF MALE AND
FEMALE SALAK (*Salacca zalacca* var. *zalacca*)**

Parjanto

Staf Pengajar Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret Surakarta

email: parjanto_uns@yahoo.co.id

ABSTRACT

The objectives of this research were to study the C-banding pattern of male and female salak chromosome and to obtain the sex marker of salak based on C-banding pattern variation. C-banding pattern of male and female of salak were observed using *geimsa C-banding technique*. Variation of chromosomes C-banding pattern were analyzed according to number and position of C-band of chromosomes. The results of the research showed that C-band of salak chromosome can be revealed using *geimsa C-banding technique*. The C-band revealed on the telomer and the centromer region. Pro-metaphase and metaphase chromosomes could be used to observe the C-band. There were no differences in C-band pattern of chromosome of male and female salak, so the sex of salak can not be identified based on the observation of C-band of chromosome.

Key words: chromosome, C-banding, sex marker, salak

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini adalah mempelajari pola pita-C kromosom salak jantan dan betina, selanjutnya mengidentifikasi penanda kelamin tanaman salak berdasar perbedaan pola pita-C kromosom. Tanaman salak jantan dan betina varietas pondoh asal cangkok anakan digunakan untuk mempelajari perbedaan pola pita-C. Pengamatan pita-C kromosom dilakukan dengan teknik pemitaan *geimsa (geimsa C-banding technique)*. Analisis perbedaan pola pita-C kromosom salak jantan dan betina dilakukan berdasar jumlah dan posisi pita-C dengan membandingkan karyogram dan idiogram pita-C. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pita-C kromosom salak dapat dihasilkan menggunakan metode pemitaan-C *geimsa (Geimsa C-banding technique)*, sebagian pita-C berada pada ujung kromosom atau terletak pada daerah telomer dan sebagian yang lain terletak di daerah sentromer. Pita-C dapat dihasilkan pada kromosom metafase awal (*pro metaphase*) maupun kromosom metafase (*late metaphase*). Tidak terdapat perbedaan pola pita-C antara kromosom tanaman salak jantan dan betina, sehingga jenis kelamin tanaman salak tidak didapatkan ditentukan berdasar pola pita-C kromosom.

Kata kunci: kromosom, pita-C, penanda kelamin, salak.



PENDAHULUAN

Penanda kelamin (*sex marker*) untuk membedakan tanaman salak (*Salacca zalacca* var. *zalacca* Gart. Voss) jantan dan betina pada stadia bibit (vegetatif) sangat diperlukan untuk mendukung studi genetika dan program pemuliaan tanaman tersebut. Tanaman salak pada umumnya bersifat berumah dua dan jenis kelamin tanaman salak hasil perbanyakan seksual baru dapat diketahui setelah tanaman berbunga pada umur 3-4 tahun (Mogea, 1974; Tri Harsono, 1994).

Salah satu pendekatan untuk mengatasi masalah penentuan kelamin tanaman salak fase bibit, terutama tanaman salak hasil perkembangbiakan secara seksual, adalah pengamatan secara sitogenetik melalui analisis variasi kromosom. Dikemukakan oleh Dellaporte dan Calderon-Urrea (1993) bahwa jenis kelamin pada beberapa jenis tanaman terkait dengan kromosom seperti halnya pada hewan. Analisis perbedaan kromosom tanaman salak jantan dan betina berpotensi untuk menghasilkan penanda kelamin secara sitologis. Analisis variasi kromosom salak jantan dan betina berdasar pengamatan jumlah, ukuran, dan bentuk kromosom, menunjukkan tidak teridentifikasi perbedaan sifat-sifat kromosom yang dapat digunakan sebagai penanda kelamin (Parjanto dkk., 2006).

Selain berdasarkan pengamatan sifat morfologi kromosom (jumlah, ukuran, dan bentuk), analisis variasi kromosom juga dapat dilakukan berdasarkan pengamatan pola pita kromosom, salah satunya dengan teknik pemitaan-C (*C-banding technique*). Teknik ini dapat mengidentifikasi variasi pola sebaran daerah heterokromatin kromosom. Daerah heterokromatin konstitutif dapat ditentukan dengan teknik pemitaan-C, yakni tampak sebagai bahan (pita) berwarna gelap. Sebaran pita-C ini dapat bersifat spesifik antar spesies bahkan antar individu (Clark and Wall, 1996). Variasi pita-C dapat digunakan sebagai penanda genetik dalam bidang sitogenetika (Linde-Laursen, 1978).

Penelitian ini bertujuan mempelajari pola pita-C kromosom tanaman salak dan mendapatkan penanda kelamin untuk membedakan tanaman salak jantan dan betina berdasar perbedaan pola pita-C kromosom.

BAHAN DAN METODE PENELITIAN

Bahan tanaman

Tanaman salak jantan dan tanaman salak betina (masing-masing merupakan hasil cangkok-anakan) digunakan untuk pengamatan pola pita-C kromosom. Ujung akar yang aktif tumbuh (meristimatis) digunakan sebagai bahan pembuatan *preparat* untuk pengamatan pita-C kromosom.

Pembuatan preparat pita-C

Pemitaan-C dilakukan dengan *Geimsa C-banding Technique* mengikuti Robin dan Yakovlev dalam Jahier *et. al.* (1996) dengan dimodifikasi seperlunya. Prosedur pembuatan preparat pita-C sebagai berikut: (1) Pengambilan cuplikan ujung akar dilakukan pada pukul 08.00-10.00; (2) Pra-perlakuan dilakukan dengan merendam potongan ujung akar dalam air suling pada suhu 5-8°C selama 24 jam; (3) Fiksasi dilakukan dengan larutan Carnoy (6 etanol + 3 kloroform +1 asam asetat glasial, v/v) selama 24 jam pada suhu kamar; (4) Pemencetan (*squashing*)



dilakukan dengan terlebih dahulu mengilangkan tudung, kemudian bagian meristematis diletakan pada gelas preparat, ditetesi asam asetat 45%, ditutup dengan gelas penutup, kemudian dipencet (*squash*); (5) Pembukaan gelas penutup preparat dengan cara direndam alkohol 95% selama 24 jam, kemudian gelas penutup dibuka dengan pinset.. Gelas preparat tempat kromosom menempel (selanjutnya disebut preparat) dikering-anginkan selama 24 jam; (6) Denaturasi dilakukan dengan larutan Ba(OH)₂ 4% selama 5 menit pada suhu 55 °C; (7) Renaturasi dengan larutan 2XSSC selama 10 menit pada suhu 55 °C; (8) Pewarnaan dengan larutan Geimsa 2% (pH 6,8) selama 10 menit pada suhu kamar, selanjutnya dicuci dengan aquades dan dikering-anginkan.

Pengamatan pita-C

Pengamatan pita-C dilakukan dengan mikroskop cahaya. Sel-sel yang mengandung kromosom dengan pita-C dan menunjukkan penyebaran kromosom dengan baik dipotret dengan mikroskop-foto. Gambar kromosom hasil pemotretan diperbesar dan diperjelas dengan program komputer *Adobe photo*. Selanjutnya, gambar kromosom tersebut digunakan untuk pengamatan jumlah dan lokasi pita-C masing-masing kromosom. Pengamatan pita-C kromosom pada masing-masing jenis kelamin (jantan dan betina) dilakukan terhadap 10 sel somatik.

Analisis variasi pola pita-C

Analisis variasi pola pita-C tanaman salak jantan dan betina dilakukan berdasarkan jumlah dan lokasi pita-C dengan membandingkan karyogram dan idiogram pita-C kedua jenis kelamin tanaman salak. Karyogram disusun dengan cara menyusun kromosom secara berurutan berdasar ukuran panjang dan pola pita kromosom. Kromosom dipasang-pasangkan dengan kromosom homolognya. Pasangan kromosom homolog ditentukan berdasarkan kemiripan ukuran panjang kromosom, dan kemiripan pola pita-C. Idiogram disusun berdasar karyogram pola pita-C dan idiogram kromosom salak berdasar pengecatan aceto-orcein hasil penelitian Pajanto dkk. (2006).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pita-C salak betina

Hasil pemetaan-C kromosom salak betina dipaparkan pada Gambar 1. Terlihat pada Gambar 1 bahwa sebagian besar kromosom mempunyai pita-C dan hanya beberapa kromosom tidak mempunyai pita-C. Berdasar posisi pita-C pada kromosom, terlihat sebagian pita-C berada pada ujung kromosom atau terletak pada daerah telomer (*terminal bands*) dan sebagian yang terletak di daerah sentromer.

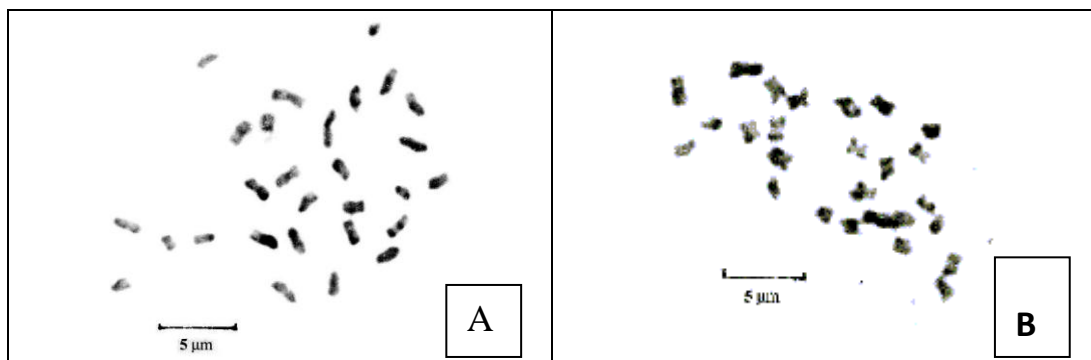
Pita-C dapat dihasilkan pada kromosom metafase awal (*pro metaphase*) maupun kromosom metafase (*late metaphase*). Berdasar hasil pemetaan pada Gambar 1, pengamatan pita-C pada kromosom metafase awal (*pro metaphase*) lebih menguntungkan dibanding kromosom metafase (*late metaphase*) karena ukuran kromosom metafase awal lebih panjang dibanding kromosom metafase. Dikemukakan oleh Parjanto dkk. (2006), kromosom salak mempunyai ukuran relatif pendek sehingga pengamatan kromosom salak akan lebih mudah dilakukan pada kromosom profase.



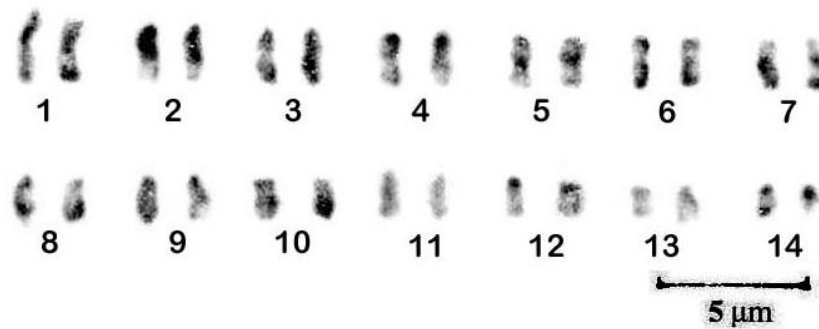
Pola pita-C masing-masing kromosom dapat diidentifikasi melalui karyogram dan idiogram pita-C. Berdasar hasil pengamatan pita-C pada penelitian ini dan hasil penelitian-penelitian sebelumnya mengenai kariotipe salak (Parjanto dkk., 2006), dapat disusun karyogram dan idiogram pita-C kromosom salak sebagaimana dipaparkan pada Gambar 2 dan 3.

Berdasar karyogram dan idiogram tersebut dapat diidentifikasi karakteristik pola pita-C pada 14 pasang kromosom salak betina sebagai berikut.

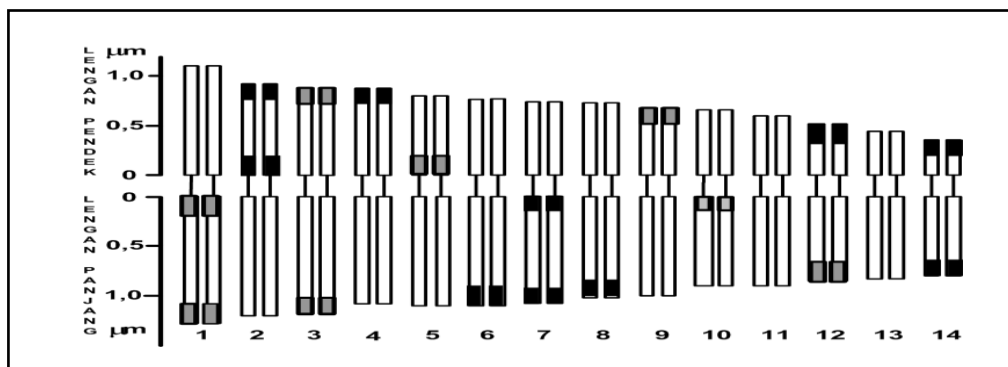
1. Pasangan kromosom nomor 1 mempunyai dua pita tipis atau lemah (*weak bands*), satu pita terletak pada ujung kromosom dan satu pita terletak pada daerah sentromer.
2. Pasangan kromosom nomor 2 mempunyai dua pita tebal (kuat), satu pita terletak pada ujung kromosom dan satu pita terletak pada daerah sentromer.
3. Pasangan kromosom nomor 3 mempunyai dua pita tipis, keduanya terletak pada ujung-ujung kromosom.
4. Pasangan kromosom nomor 4 mempunyai satu pita tebal (kuat) terletak pada ujung kromosom.
5. Pasangan kromosom nomor 5 mempunyai satu pita tipis (lemah) terletak pada daerah sentromer.
6. Pasangan kromosom nomor 6 mempunyai satu pita tebal (kuat) terletak pada ujung kromosom.
7. Pasangan kromosom nomor 7 mempunyai dua pita tebal (kuat), satu pita terletak pada ujung kromosom dan satu pita terletak pada daerah sentromer.



Gambar 1. Pita-C kromosom prometafase (A) dan metafase (B) sel somatik salak betina ($2n = 28$).



Gambar 2. Karyogram pita-C kromosom prometafase sel somatik salak betina ($2n = 28$).



Gambar 3. Idiogram pola pita-C kromosom sel somatis salak betina ($2n=28$). Bagian yang diarsir hitam gelap menunjukkan pita-C kuat. Bagian yang diarsir tipis menunjukkan lokasi pita-C lemah (tipis).

- 1). Pasangan kromosom nomor 8 mempunyai satu pita tebal (kuat) terletak pada ujung kromosom.
- 2). Pasangan kromosom nomor 9 mempunyai satu pita tipis (lemah) terletak pada ujung kromosom.
- 3). Pasangan kromosom nomor 10 mempunyai satu pita tipis (lemah) terletak pada daerah sentromer.
- 4). Pasangan kromosom nomor 11 tidak mempunyai pita.
- 5). Pasangan kromosom nomor 12 mempunyai dua pita, satu pita tebal (kuat) terletak pada satu ujung kromosom dan satu pita tipis (lemah) terletak pada pada ujung yang lain.
- 6). Pasangan kromosom nomor 13 tidak mempunyai pita.
- 7). Pasangan kromosom nomor 14 mempunyai dua pita tebal (kuat), satu pita terletak pada satu ujung kromosom dan satu pita terletak pada pada ujung yang lain.

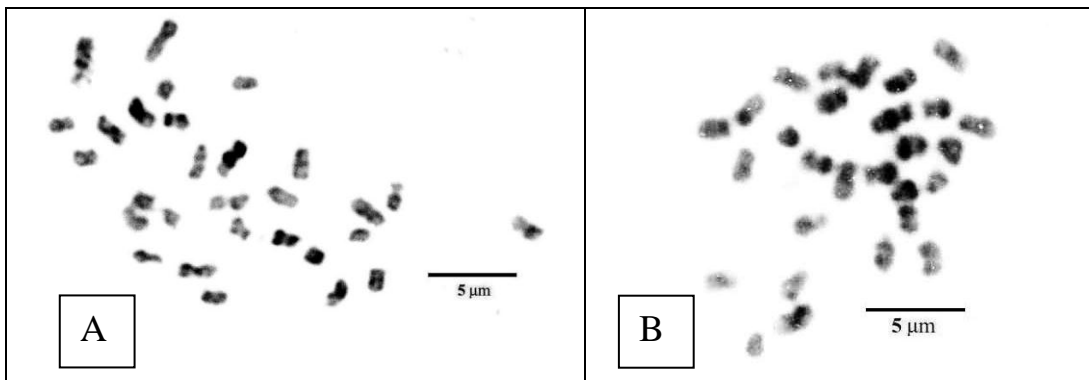


Pita-C kromosom salak jantan

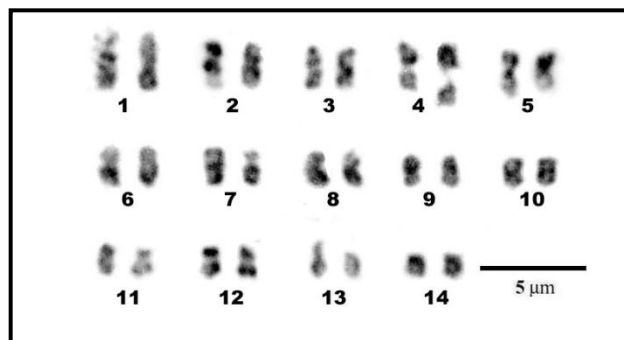
Hasil pemetaan-C kromosom salak jantan dipaparkan pada Gambar 4. Terlihat pada Gambar 4 bahwa sebagian besar kromosom mempunyai pita-C dan hanya beberapa kromosom tidak mempunyai pita-C. Berdasar posisi pita-C pada kromosom, terlihat sebagian pita-C berada pada ujung kromosom atau terletak pada daerah telomer (*terminal bands*) dan sebagian yang terletak di daerah sentromer.

Sama halnya dengan pada kromosom salak betina, pita-C kromosom salak jantan juga dapat dihasilkan pada kromosom metafase awal (*pro metaphase*) maupun kromosom metafase (*late metaphase*). Hasil pemetaan-C pada kromosom salak jantan (Gambar 4) juga menunjukkan bahwa pengamatan (identifikasi) pita-C pada kromosom metafase awal (*pro metaphase*) lebih menguntungkan dibanding kromosom metafase (*late metaphase*).

Pola pita-C masing-masing kromosom dapat diidentifikasi melalui karyogram dan idiogram pita-C. Karyogram dan idiogram pita-C kromosom salak jantan dipaparkan pada Gambar 5 dan 6. Idiogram pita-C tersebut disusun berdasar hasil pengamatan pita-C pada penelitian ini dan hasil penelitian-penelitian sebelum mengenai kariotipe salak (Parjanto dkk., 2006).

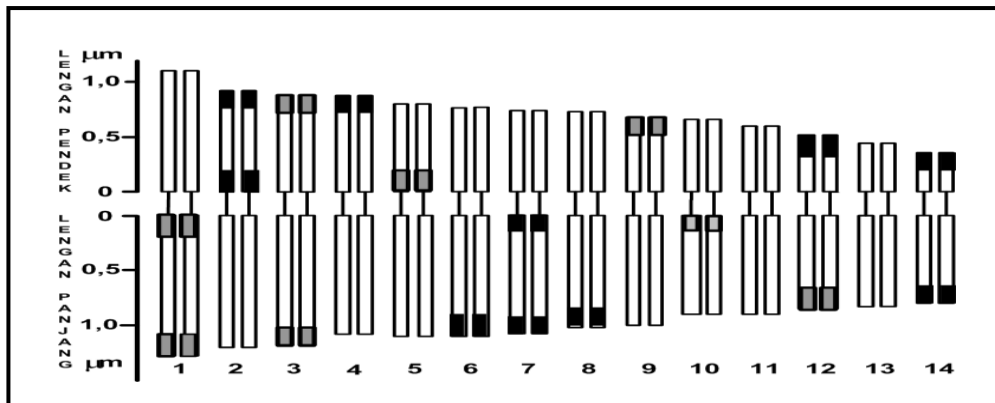


Gambar 4. Kromosom pro-metafase (A) dan metafase (B) sel somatik tanaman salak (*Salacca zalacca*, $2n = 28$) JANTAN dengan pengecatan pemetaan-C (*geimsa C-banding*).



Gambar 5. Karyogram berdasar pita-C (*geimsa C-banding*). Karyogram disusun berdasarkan foto kromosom pada Gambar 4A.





Gambar 6. Idiogram pola pita-C salak betian disusun berdasarkan karyogram pita-C (Gambar 5).

Berdasar karyogram dan idiogram tersebut dapat diidentifikasi karakteristik pola pita-C pada 14 pasang kromosom salak jantan sebagai berikut.

- (1) Pasangan kromosom nomor 1 mempunyai dua pita tipis atau lemah (*weak bands*), satu pita terletak pada ujung kromosom dan satu pita terletak pada daerah sentromer.
- (2) Pasangan kromosom nomor 2 mempunyai dua pita tebal (kuat), satu pita terletak pada ujung kromosom dan satu pita terletak pada daerah sentromer.
- (3) Pasangan kromosom nomor 3 mempunyai dua pita tipis, keduanya terletak pada ujung-ujung kromosom.
- (4) Pasangan kromosom nomor 4 mempunyai satu pita tebal (kuat) terletak pada ujung kromosom.
- (5) Pasangan kromosom nomor 5 mempunyai satu pita tipis (lemah) terletak pada daerah sentromer.
- (6) Pasangan kromosom nomor 6 mempunyai satu pita tebal (kuat) terletak pada ujung kromosom.
- (7) Pasangan kromosom nomor 7 mempunyai dua pita tebal (kuat), satu pita terletak pada ujung kromosom dan satu pita terletak pada daerah sentromer.
- (8) Pasangan kromosom nomor 8 mempunyai satu pita tebal (kuat) terletak pada ujung kromosom.
- (9) Pasangan kromosom nomor 9 mempunyai satu pita tipis (lemah) terletak pada ujung kromosom.
- (10) Pasangan kromosom nomor 10 mempunyai satu pita tipis (lemah) terletak pada daerah sentromer.
- (11) Pasangan kromosom nomor 11 tidak mempunyai pita.



- (12) Pasangan kromosom nomor 12 mempunyai dua pita, satu pita tebal (kuat) terletak pada satu ujung kromosom dan satu pita tipis (lemah) terletak pada pada ujung yang lain.
- (13) Pasangan kromosom nomor 13 tidak mempunyai pita.
- (14) Pasangan kromosom nomor 14 mempunyai dua pita tebal (kuat), satu pita terletak pada satu ujung kromosom dan satu pita terletak pada pada ujung yang lain.

Perbandingan pola pita-C salak betina dan jantan

Hasil analisis secara deskriptif dengan membandingkan karyogram/idiogram pita-C kromosom salak betina dan jantan menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan pola pita-C kromosom salak jantan dan betina. Terlihat pada idogram pita-C kromosom salak jantan (Gambar 3) dan idogram pita-C kromosom salak betina (Gambar 6) bahwa pola pita-C pada kedua jenis kelamin sama, baik jumlah pita maupun lokasi pita.

Berdasar hasil analisis tersebut, dapat disimpulkan bahwa tidak diperoleh penanda kelamin tanaman salak yang berupa pola pita-C spesifik terkait dengan jenis kelamin. Dengan demikian jenis kelamin tanaman salak tidak dapat ditentukan berdasar pengamatan pita-C kromosom.

KESIMPULAN

Berdasar hasil penelitian ini dapat disimpulkan sebagai berikut.

1. Pita-C kromosom salak dapat dihasilkan menggunakan metode pemitaaan-C geimsa (*Geimsa C-banding technique*), sebagian pita-C berada pada ujung kromosom atau terletak pada daerah telomer (*terminal bands*) dan sebagian terletak di daerah sentromer. Pita-C dapat dihasilkan pada kromosom metafase awal (*pro metaphase*) maupun kromosom metafase (*late metaphase*).
2. Tidak terdapat perbedaan pola pita-C antara kromosom tanaman salak jantan dan betina, sehingga jenis kelamin tanaman salak tidak dapat ditentukan berdasar pola pita-C kromosom.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan terima kasih kepada Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional yang telah berkenan membiayai penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Clark, M.S. dan W.J. Wall. 1996. *Chromosomes The Complex Code*. Chapman & Hall, London. 345 h.
- Dellaporta, S.L. and A. Calderon-Urrea. 1993. Sex Ditermination in Flowering Plant. *The Plant Cell* 5: 1241-1251.



- Jahier, J., A.M. Chevre, F. Eber, R. Delourme, dan A.M. Tanguy. 1996. *Technques of Plant Cytogenetics*. Science Publishers, USA. 179 p.
- Linde-Laursen, IB. 1978. Giemsa C-banding of barley chromosomes, Banding pattern polymorphism. *Hereditas* 88:55-64.
- Mogea, J. P. 1973. *Beberapa Aspek Fenologi Salacca Edulis Reinwardt*. Tesis Sarjana. Departemen Biologi ITB, Bandung. 67 h.
- Parjanto, Aziz-Purwantoro, W.T. Artama, dan Sukarti-Moeljopawiro. 2006. Analisis Kromosom untuk Penentuan Kelamin Tanaman Salak (*Salacca zalacca* Gart. Voss). *Agrivita* Vol. 28 (1): 35-44.
- Tri Harsono. 1994. *Studi Taksonomi kultivar salak (Salacca zalacca* Var. *zalacca*). Tesis S2. Program Pasca Sarjana IPB, Bogor. 56 h.

