

**PENGARUH KOLKISIN TERHADAP PERTUMBUHAN, UKURAN SEL
METAFASE DAN KANDUNGAN PROTEIN BIJI TANAMAN KACANG
HIJAU (*Vigna radiata* (L) Wilczek)**

**THE INFLUENCE OF KOLKISIN TO GROW, METAFASE CELL SIZE,
AND PROTEIN CONTEN OF GREEN BEANS PLANT
(*Vigna radiata* (L) Wilczek)**

Sri Haryanti, Rini Budi Hastuti, Nintya Setiari, dan Agung Banowo

Jurusan Biologi FMIPA
Universitas Diponegoro Semarang
Jl. Prof. Soedarto SH, Kampus Tembalang, Semarang

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang pengaruh kolkisin terhadap pertumbuhan, ukuran sel dan kandungan protein biji kacang hijau. Penelitian ini dengan faktor tunggal yaitu konsentrasi kolkisin yaitu 0% (K0), 0,05% (K1), 0,10% (K2), 0,15% (K3), dan 0,20% (K4), masing –masing dengan 5 ulangan. Penelitian ini dilaksanakan dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL), dan jika ada beda nyata dilanjutkan uji Duncan pada taraf signifikansi 5%. Parameter yang diamati meliputi jumlah daun, berat basah, dan berat kering tanaman, ukuran sel saat metafase, dan kandungan protein biji. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kolkisin menghambat pertumbuhan, meningkatkan ukuran sel saat metafase dan kandungan protein biji.

Kata Kunci: Kolkisin, pertumbuhan, dan ukuran sel metafase.

ABSTRACT

The aims of this experiment was to know of colchicine on growth, metaphase cell size and improvement seeds protein. The experiment includes one factor is colchicines concentration 0% (K0), 0,05% (K1), 0,10% (K2), 0,15% (K3), and 0,20% (K4) with 5 replicates. The research use Complete Randomized Design, when there is a real difference Duncan test will be used upon significant degree of 5%. The observed parameters are sum of leafe, wet weight and dry weight plant, metaphase cell size and content protein seeds. The result of research indicated that colchicines growth hampered, increased of metaphase cell size and improvement protein seeds.

Keywords: colchicines, growth, and metaphase cell size.

PENDAHULUAN

Menurut Rukmana (1997) saat ini pengembangan kacang hijau menempati urutan ketiga setelah kedelai dan kacang tanah. Permintaan kacang hijau dari tahun ketahun semakin meningkat melebihi jumlah produksi nasional. Untuk memenuhi kebutuhan tersebut pemerintah mengimpor kacang hijau hingga sebesar 20 ribu ton per tahun, untuk itu produksi kacang hijau harus ditingkatkan. Usaha peningkatan produksi ini hanya dapat tercapai apabila pertumbuhan tanaman dapat ditingkatkan menjadi lebih baik.

Salah satu cara untuk mencapai tujuan tersebut adalah memperlakukan benih kacang hijau dengan kolkisin. Kolkisin ($C_{22}H_{25}O_6N$) merupakan alkaloid yang mempengaruhi penyusunan mikrotubula, sehingga salah satu efeknya adalah menyebabkan penggandaan jumlah kromosom tanaman (terbentuk tanaman poliploid). Tanaman poliploid memiliki pola pertumbuhan, ciri morfologi, anatomi, genetik, fisiologi, dan produktivitas yang berbeda dibandingkan dengan tanaman diploidnya. Umumnya kenampakan tanaman dan produktivitasnya lebih baik, sehingga secara ekonomis lebih menguntungkan (Burns, 1972). Namun dapat terjadi secara alami karena pemisahan kromosom yang tidak teratur selama mitosis sel-sel reproduksi yang tidak teratur pada metosis sehingga kromosom gagal memisah sempurna pada saat anaphase menghasilkan gamet dengan pengurangan atau penambahan set kromosom, dan yang sengaja dibuat dengan zat penghambat mitosis misalnya dengan perlakuan asenaften, kloralhidrat, sulfanilamide, kolkisin, dll. Berdasarkan asal kromosom yang mengalami penggandaan, poliploid dibedakan

menjadi autoploid apabila genom yang mengganda berasal dari genom yang sama (genom itu sendiri yang mengalami penggandaan, misalnya $n_1 + n_1$) dan allopolyploid, yaitu apabila penggandaan kromosom berasal dari genom-genom yang berbeda ($n_1 + n_2$) berkumpul melalui hibridisasi (Suryo, 1995).

Pada tumbuhan, poliploid dapat bertahan hidup dan berkembang karena tidak adanya kromosom sek. (Fransworth, 1988). Burns (1972) mengungkapkan adanya ciri morfologi yang berbeda pada tanaman poliploid dibandingkan tanaman diploidnya. Pada tanaman poliploid, jumlah kromosom yang lebih banyak menyebabkan ukuran sel dan inti sel bertambah besar. Sel yang berukuran lebih besar menghasilkan bagian tanaman seperti daun, bunga, buah maupun tanaman secara keseluruhan yang lebih besar. Selain menyebabkan perubahan morfologi, menurut Dnyansagar (1992) peningkatan jumlah kromosom juga menyebabkan perubahan fisiologi pertumbuhan yang lambat, umur berbunga yang lebih panjang, peningkatan kandungan sel (vitamin, protein, minyak atsiri, dan sebagainya), tekanan osmotik sel meningkat, serta munculnya sterilitas yang tinggi akibat ketidakteraturan mitosis.

Kolkisin ($C_{22}H_{25}O_6N$) merupakan alkaloid yang diekstrak dari biji dan umbi tanaman *Colchicum aurumnale* Linn (Suryo, 1995, Crowder, 1990). Menurut Eigsti dan Dustin (1957) kolkisin juga ditemukan pada tanaman *Merendra sp*, *Gloriosa superba*, *Veratrum album*, *Tulipa sylvestris*, dan lain-lain dengan bentuk dan kadar serta keaktifan yang berbeda-beda.

Menurut Suryo (1995), Sheeler dan Bianchi (1957) larutan kolkisin pada konsentrasi kritis tertentu akan menghalangi

penyusunan mikrotubula dari benang-benang spindle yang mengakibatkan ketidakteraturan pada mitosis. Apabila benang-benang spindle tidak terbentuk pada pembelahan mitosis sel diploid, kromosom yang telah mengganda selama interfase gagal memisah pada anaphase. Sebuah membrane inti kemudian terbentuk mengelilingi dua sel kromosom diploid yang seharusnya menghasilkan dua sel anak, menghasilkan sel dengan empat sel kromosom (tetraploid) (Gardner et al, 1991). Pembelahan sel secara mitosis yang mengalami modifikasi ini disebut C-mitosis, dan hasilnya adalah sel-sel yang mengandung genom dua kali lipat dari jumlah genom semula. Jika pengaruh kolkisin pada konsentrasi kritis ini dibiarkan berlanjut, maka kromosom akan mengganda seperti deret ukur $4n$, $8n$, $16n$, $32n$ dst.

Suryo (1995) mengemukakan bahwa larutan kolkisin efektif pada konsentrasi 0,001-1,00% dengan lama perlakuan 3-24 jam, tetapi pada benih yang berkulit keras seperti benih kacang-kacangan, jagung, dan sebagainya konsentrasi 0,2% lebih dianjurkan. Eigsti dan Dustin (1957) menunjukkan bahwa konsentrasi 0,2% yang lebih umum dipakai untuk semua tanaman dengan lama perlakuan antara 24-96 jam. Konsentrasi kolkisin 0,01% dengan lama perendaman 6 jam pada akar dilaporkan efektif menggandakan kromosom bawang putih (Suryatinah, 1998). Pada jagung manis konsentrasi 0,25% dengan lama perlakuan selama 6 jam mampu menginduksi tanaman menjadi tetraploid (Lusia, 1990). Selanjutnya larutan kolkisin dengan konsentrasi 0,02% dan lama perlakuan 2 jam, atau konsentrasi 0,04% dengan lama perlakuan 1 jam mampu menginduksi tanaman *Stevia rebaudiana* Bertonii M. menjadi poliploid.

METODE PENELITIAN

Sebagai larutan standar dibuat larutan kolkisin 1,0% (1g dalam 100 ml aquades), dari larutan standar tersebut dibuat larutan 0,05%; 0,10%; 0,15%; 0,20% masing-masing sebanyak 30 ml, dan larutan 0% (aquades) sebagai kontrol. Benih kacang hijau yang telah disiapkan direndam dalam air selama 1,5 jam. Setelah ditiriskan kemudian direndam dalam larutan kolkisin selama 10 jam. Kemudian setelah itu dicuci dengan aquades untuk menghilangkan sisa kolkisin. Kecambah yang telah diperlakukan dengan kolkisin ditanam masing-masing 4 kecambah untuk setiap polibag, setelah umur 10 hari diseleksi dan disisakan satu tanaman yang seragam. Media tanam berupa campuran tanah, pasir dan kompos = 1 : 1 : 1. Pemupukan berupa campuran Urea, TSP dan KCl dengan perbandingan berat 1 : 2 : 1 diberikan ketika tanaman berumur 30 hari setelah tanam sebanyak 30 g setiap tanaman.

Parameter yang diamati yaitu antara lain jumlah daun, berat basah dan berat kering tanaman (umur 70 hari), ukuran sel ujung akar saat metafase (umur 15 hari) dan kandungan protein biji/100 biji (umur 70 hari) ditentukan dengan metode Lowrey (Copeland, 1994).

Pengamatan ukuran sel ujung akar pada metaphase dengan cara : mengambil dari bagian ujung akar yang aktif tumbuh pada tanaman berumur 15 hari sepanjang 1-1,5 mm dari ujung akar ; preparat dibuat dengan metode squash (pencet) dengan media gliserin. Akar diperlakukan dengan 8-hidroksiquinolin 0,002 M pada suhu 4°C selama 24 jam, kemudian difiksasi dengan asam asetat 45% pada suhu 27°C selama 15 menit dan dilunakkan dengan HCl 1 N pada suhu 30°C selama 2 menit. Pewarnaan kromosom menggunakan acetoorcein 2%

selama 2 jam. Diamati ukuran sel dan kenampakan kromosom pada saat metaphase dengan mikrometer dan mikroskop.

Penelitian dilakukan dengan Rancangan Acak Lengkap faktor tunggal yaitu konsentrasi larutan kolkisin yaitu 0%, 0,05%, 0,10%, 0,15%, dan 0,20%. Setiap perlakuan dengan 5 ulangan. Data yang diperoleh dianalisa dengan Anova (Analysis of Varians) pada taraf uji 5% dan apabila terdapat perbedaan rata-rata antar perlakuan dilanjutkan dengan uji Duncan pada taraf uji 5% .

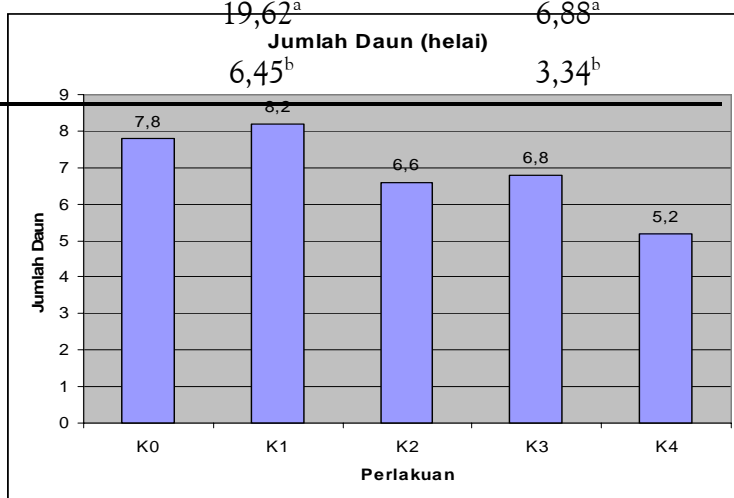
HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 1 menunjukkan pengaruh kolkisin pada benih kacang hijau terhadap parameter pertumbuhan tanaman. Kecuali pada perlakuan K4 kolkisin tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap penurunan jumlah daun dibandingkan kontrol. Rata-rata jumlah daun antara perlakuan K0, K1, K2 dan K3 berbeda tidak nyata pada uji Duncan dengan taraf uji 5%, sedangkan jumlah daun K4 berbeda tidak nyata dengan perlakuan K2 dan K3.

Tabel 1. Rata-rata Jumlah Daun, Umur Berbunga, Berat Basah dan Berat Kering Tanaman yang Diperlakukan dengan Kolkisin

Perlakuan	Jumlah daun (helai)	Berat basah (gram)	Berat kering (gram)
K0	7,80 ^a	22,53 ^a	7,25 ^a
K1	8,20 ^a	21,49 ^a	7,31 ^a
K2	6,60 ^{ab}	19,33 ^a	6,76 ^a
K3	6,80 ^{ab}	19,62 ^a	6,88 ^a
K4	5,20 ^b	6,45 ^b	3,34 ^b

Keterangan: Rata-rata pada kolom yang sama yang diikuti huruf yang sama menunjukkan nilai yang berbeda tidak nyata pada uji Duncan dengan taraf uji 5%.



Gambar 1. Histogram Jumlah Daun Setelah Perlakuan Kolkisin

Data jumlah daun yang menunjukkan perlakuan kolkisin tidak menurunkan jumlah daun secara nyata, kecuali pada konsentrasi kolkisin tertinggi (gambar 1). Pembelahan sel yang lambat juga menyebabkan pembentukan dan perkembangan primordia daun yang lambat, meskipun berbeda tidak nyata. Daun merupakan organ fotosintesis utama, sehingga menentukan jumlah asimilat yang dihasilkan yang diperlukan selama pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Kloroplast pada tanaman berkembang dari struktur mikro yang terdeferensiasi yang disebut proplastid. Menurut Adams et al. (1970) proplas-

tid ikut membelah selama mitosis. Pada saat benih diperlakukan dengan kolkisin, mitosis pada sel-sel embrio diikuti dengan pembelahan proplastid, meskipun kromosom yang telah mengganda mungkin gagal berpisah pada anaphase akibat rusaknya formasi mikrotubula penyusun benang-benang spindle oleh kolkisin, sehingga menghasilkan tanaman yang mempunyai kadar klorofil yang lebih tinggi. Menurut Loveless (1991) jumlah klorofil yang banyak sebagai pigmen utama dalam proses fotosintesis meningkatkan efisiensi fotosintesis, sehingga bahan kering yang dapat ditimbun tanaman lebih banyak.

Gambar 2. Histogram Berat Basah dan Berat Kering Tanaman Setelah Perlakuan Kolkisin

Perlakuan K4 menghasilkan berat basah dan berat kering yang rendah, sebagai efek jumlah daun yang berkurang dan pertumbuhan yang buruk akibat konsentrasi kolkisin yang tinggi. Menurut Sitompul dan Guritno (1995) penghambatan pada awal fase pertumbuhan menyebabkan penurunan produksi biomassa yang nyata. Tanaman ini memiliki jumlah daun yang sedikit, berukuran kecil, sehingga produk fotosintesis yang dihasilkan sebagai komponen biomassa tanaman sedikit. Sedangkan tanaman yang memiliki daun yang lebih luas (K0, K1, K2 dan K3) akan tumbuh lebih cepat karena mampu menghasilkan bahan kering yang lebih banyak. Produk fotosintesis yang lebih banyak menyebabkan tanaman mampu membentuk seluruh bagian tanaman dibandingkan tanaman dengan perlakuan K4. Perbedaan yang cukup besar pada awal pertumbuhan selanjutnya menyebabkan perbedaan pertumbuhan pada tanaman tersebut.

Berat basah dan berat kering perlakuan K0, K1, K2 dan K3 berbeda tidak nyata. Berat basah dan berat kering terendah diperoleh pada perlakuan K4. Pada K4 secara morfologi tanaman ini paling kecil karena kandungan air serta komponen-komponen sel tanaman yang dihasilkan paling sedikit. Produksi bahan kering tanaman merupakan resultan tiga proses yaitu penumpukan asimilat melalui melalui fotosintesis, penurunan asimilat akibat respirasi dan akumulasi ke bagian sink. Laju pembentukan daun baru dan lamanya berbagai fase perkembangan tanaman merupakan indikator penting untuk menentukan produktivitas

Rata-rata ukuran sel metafase pada akar tanaman perlakuan (K1) $14,50 \mu\text{m} \times 18,83 \mu\text{m}$ relatif sama dengan kontrol (K0) $13,83 \mu\text{m} \times 19,38 \mu\text{m}$, sedangkan (K2) $17,70 \mu\text{m} \times 23,75 \mu\text{m}$ meningkat dibanding

K0 maupun K1. Rata-rata ukuran sel (K3) $17,03 \mu\text{m} \times 22,33 \mu\text{m}$, meningkat dibandingkan kontrol dan relatif sama dengan perlakuan K2. Demikian juga ukuran sel akar perlakuan (K4) $18,97 \mu\text{m} \times 24,85 \mu\text{m}$ relatif sama dengan perlakuan K2 dan K3 yang meningkat dibandingkan kontrol. Ukuran sel dan inti terlihat semakin besar dan kromosom mengganda dengan jelas.

Pengamatan sel akar menunjukkan bahwa ukuran sel dari tanaman dengan perlakuan K2, K3 dan K4 lebih besar dibandingkan ukuran sel tanaman kontrol maupun K1. Sel-sel berukuran lebih besar menurut Crowder (1990) menyebabkan pembelahan sel lebih lambat, sehingga pertumbuhan tanaman lebih lambat pula. Bentuk sel juga menunjukkan perubahan dari sel yang bentuknya memanjang (persegi panjang) (K0, K1 dan K2) menjadi bentuk yang menyerupai bujur sangkar (K3 dan K4). Diduga bentuk sel-sel yang lebih pendek ini menyebabkan pemanjangan akar terhambat.

Kolkisin mempengaruhi pertumbuhan tanaman kacang hijau dengan mempengaruhi penyusunan mikrotubula dalam sel. Menurut Sheeler dan Bianchi (1987) setiap dimmer penyusun mikrotubula (gabungan a dan b tubulin) mempunyai tempat pengikat spesifik bagi kolkisin. Dimmer yang telah berikatan dengan kolkisin akan mencegah tersusunnya dimmer tersebut menjadi mikrotubula. Apabila dimmer yang terhalangi penyusunannya adalah mikrotubula penyusun benang spindle pada mitosis, akan menyebabkan pembelahan sel terhambat dan kromosom yang telah mengganda selama interfase gagal memisahkan diri, sehingga membentuk sel yang poliploid.

Selain menyusun benang-benang spindle, mikrotubula bersama mikrofilamen dan filamen intermediet juga menyusun

rangka sel yang berperan dalam proses transportasi intraseluler molekul kecil seperti air dan ion anorganik pada sitoplasma (Kimball, 1995). Oleh karena itu, selain menghalangi penyusunan dimmer mikrotubula penyusun benang-benang spindle pada pembelahan sel, kolkisin dapat menghalangi perakitan mikrotubula penyusun rangka sel dan mengacaukan tata letak beberapa protein pada membran sel khususnya glikoprotein yang diatur oleh mikrotubula dan mikrofilamen yang berpe-

ran sebagai protein reseptor dan pengikat molekul lain pada permukaan sel (Wolfe, 1982). Rusaknya formasi mikrotubula dalam sel menyebabkan gangguan transportasi sel, sehingga molekul-molekul dalam sitoplasma tidak terdistribusi dengan baik. Oleh karena itu pertumbuhan tanaman menjadi lambat setelah benih diperlakukan kolkisin pada konsentrasi tinggi.

Lebih lanjut Dnyansagar (1992) mengungkapkan bahwa peningkatan kandungan bahan organik seperti vitamin,

Tabel 2. Rata-rata kandungan protein biji (g/100 biji)

Keterangan: Rata-rata kolom yang sama yang diikuti huruf yang sama menunjukkan nilai yang berbeda tidak nyata pada uji Duncan dengan taraf uji 5 %.

Gambar 3. Histogram Kandungan Protein Biji Setelah Perlakuan Kolkisin

protein, sukrosa, minyak atsiri dan sebagainya pada organ penyimpan merupakan karakter khas dari tanaman poliploidi. Genom yang rangkap sebagai sumber kode genetik dalam sintesis protein memungkinkan untuk meningkatkan kandungan protein biji. Keadaan ini memacu energi lebih efektif untuk pengisian polong dan sel-sel endosperm biji. Hal ini diduga mampu meningkatkan kandungan protein utamanya perlakuan K2, K3 dan K4.

Griffiths *et al* (1996) menambahkan adanya efek sehubungan dengan peningkatan jumlah gen dalam tanaman, yaitu jumlah produk gen (RNA dan protein) sebanding dengan jumlah gen pada sel. Pada perlakuan K2, K3 dan K4 peningkatan kandungan protein mungkin berhubungan dengan peningkatan jumlah gen dalam tanaman, mengingat pengaruh

kolkisin pada sel adalah mencegah penyusunan mikrotubula sehingga dapat menyebabkan tanaman mempunyai genom mengganda. Akibatnya ukuran sel-sel metafase pendek tetapi besar, morfologi tanaman mengalami perubahan fisiologi menjadi makin kecil, namun jumlah biji dalam setiap polongnya berkurang dengan kandungan protein makin meningkat.

SIMPULAN

1. Perlakuan kolkisin mempengaruhi pertumbuhan dan ukuran sel metafase akar tanaman kacang hijau.
2. Konsentrasi kolkisin 0,20% adalah konsentrasi tertinggi yang mengakibatkan penurunan pertumbuhan, namun meningkatkan kandungan protein biji kacang hijau.

DAFTAR PUSTAKA

- Adam, P., J.W Baker and G.E. Allen., 1970. *The study of Botany*. Addition Wesley Publishing Company. Massachussets
- Allard, R.W., 1992. *Pemuliaan Tanaman*. Jilid 2. Penerjemah Manna. Penerbit PT Rineka Cipta, Jakarta.
- Burns, G.W., 1972. *The Science Of Genetics, an Introduction to Heredity*. Edisi ke-2, Penerbit The Macamillan Company, New York.
- Crowder, L.V., 1990. *Genetika Tumbuhan, penerjemah Lilik Kusdiarti*, Penerbit Gajah Mada University Press, Yogyakarta.
- Dnyansagar, V.R., 1992. *Cytology and Genetics*, Tata McGraw-Hill Publishing Company Ltd, New Delhi.
- Eigsti, O.J., and P. Dustin., 1957. *Colchicine ain Agriculture Medicine, Biology and Chemistry*, Penerbit Iowa State College Press, Iowa.
- Fransworth, M.W., 1988. *Genetics*. Edisi ke-2, Harper & Row, Publishers, Inc. New York.
- Gardner, E.J., M.J. Simmons and D.P. Snustad., 1991. *Principles of Genetics*. Edisi ke-2, Penerbit John Wiley and Sons Inc. New York.

- Griffiths, J.F., J.H. Miller, D.T. Suzuki, R.C. Lewontin and W.M. Gelbart., 1996. *An Introduction to Genetics Analys.* Edisi ke-6, Penerbit W.H. Freeman and Company, New York.
- Harborne, J.B., 1996. *Metode Fitokimia, Penuntun Modern Cara Menganalisis Tumbuhan*, penerjemah Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro, Penerbit ITB, Bandung.
- Kimball, J.W., 1995. *Biologi*. Jilid 2, edisi ke-5, Penerjemah Siti Soetarmi Tjitrosomo dan Nawangsari Sugiri, Penerbit Erlangga, Jakarta.
- Loveless, A.R., 1991. *Prinsip-prinsip Biologi Tumbuhan untuk Daerah Tropik*, Jilid 1 , Penerbit PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Lusia, S.O.R., 1990. "Pengaruh Konsentrasi Colchicine dan Waktu Perendaman pada Benih Jagung Manis (*Zea mays* fa. *Saccharata*, Sturt) Terhadap Upaya Peningkatan koalitas Hasil". *Skripsi*. Fakultas Biologi Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.
- Mader, S.S., 1996. *Biology*, edisi ke-5 W.M.C. Brown Publisher, Dubuque.
- Rukmana, R., 1997. *Kacang Hijau, Budidaya dan Pasca Panen*. Kanisius, Yogyakarta
- Salisbury, F.B, and C.W. Ross., 1995. *Fisiologi Tumbuhan*. Jilid 3. ITB Bandung
- Sheeler, P and D.G. Bianchi., 1987. *Cell and Molecular Biology*. John Wiley and Sons, Inc Canada
- Sitompul, S.M, dan B. Guritno., 1995. *Analisis Pertumbuhan Tanaman*. Gadjah Mada University Press Yogyakarta
- Suryatimah, S., 1998. "Pengaruh Pemberian Kolkisin Terhadap Jumlah Kromosom , Distribusi serta Usuran Stomata dan Kadar Minyak Atsiri pada Bawang Putih (*Allium sativum*)". *Skripsi*. Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta
- Suryo., 1995. *Sitogenetika*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta
- Wolfe, S.L., 1983. *Introduction to Cell Biology*. Wadsworth Publishing Company, California.