

Profil Anatomi Daun Planlet Pisang Kepok Hasil Induksi Mutagen Alami Secara In Vitro**Anatomical Profile of the Kepok Banana Planlet Leaf Natural Mutagen Induced In Vitro****Eti Ernawati*, Lili Chrisnawati**

Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung

Jl. Prof. Soemantri Brojonegoro No. 1 Bandar Lampung 35145

*Email : eti.ernawiat@fmipa.unila.ac.id

Diterima 8 April 2022 / Disetujui 8 November 2022

ABSTRAK

Pisang Kepok memiliki keragaman aksesi/kultivar yang tinggi, namun pengembangan kultivar belum banyak dikaji. Penelitian ini bertujuan mengidentifikasi struktur anatomi daun sebagai karakter penanda pisang Kepok poliploid dengan pemberian ekstrak umbi kembang sungsang sebagai mutagen alami untuk pengembangan kultivar unggul melalui perakitan secara in vitro. Penelitian disusun dalam Rancangan Acak Lengkap dengan dua faktor. Faktor 1 terdiri dari ekstrak air umbi kembang sungsang (10%), larutan kolkisin murni (0,1%) sebagai kontrol positif dan tanpa diberi penambahan (0%) sebagai kontrol negatif. Faktor 2 terdiri dari Kepok Abu, Kepok Batu dan Kepok Kuning. Semua kombinasi perlakuan diulang 5 kali. Data dianalisis ANAVA dan jika ada perbedaan dilanjutkan dengan uji DMRT pada taraf 5%. Hasil pengamatan menunjukkan pemberian kolkisin pada media kultur dapat menginduksi munculnya planlet pisang poliploid jika dilihat dari penambahan ukuran sel epidermis dan stomata serta menurunkan indeks stomata. Namun, ekstrak umbi kembang sungsang 10% belum mampu menginduksi munculnya planlet poliploid. Pisang Kepok kuning memiliki respon lebih baik terhadap pemberian mutagen dibandingkan Kepok abu dan batu. Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa kolkisin 0,1% mampu menginduksi planlet pisang Kepok poliploid.

Kata kunci : Kembang Sungsang, kolkisin, pisang kepok, anatomi daun

ABSTRACT

Pisang Kepok has a high diversity of accessions/cultivars, but cultivar development has not been widely studied. This study aims to identify the anatomical structure of the leaves as markers of polyploid Kepok bananas with the addition of flame lily tuber extract as a natural mutagen for the development of superior cultivars through in vitro assembly. The study was arranged in a completely randomized design with two factors. Factor 1 consisted of water extract of flame lily bulbs (10%), pure colchicine solution (0.1%) as a positive control and no addition (0%) as a negative control. Factor 2 consists of Kepok Abu, Kepok Batu and Kepok Kuning. All treatment combinations were repeated 5 times. The data were analyzed by ANAVA and if there was a difference, it was continued with the DMRT test at the 5% level. The results showed that the addition of colchicine to the culture media could induce the emergence of polyploid banana plantlets when observed from the increase in the size of the epidermal and stomata cells and decrease the stomatal index. However, 10% flame lily tuber extract was not able to induce the emergence of polyploid plantlets. Kepok Kuning bananas had a better response to mutagens than Kepok Abu and Kepok Batu bananas. From these results it can be concluded that 0.1% colchicine was able to induce polyploid Kepok banana plantlets.

Keywords : Flame lily, colchicine, kepok banana, leaf anatomy

PENDAHULUAN

Pisang kepok merupakan salah satu kultivar dari 232 kultivar pisang yang dimiliki Indonesia. Seluruh pisang kepok merupakan pisang triploid (Ernawati et al., 2018; Hapsari et al., 2017). Pisang triploid umumnya memiliki penampilan batang semu yang lebih kokoh dan kekar serta buah yang besar dengan daging buah yang cukup kompak, kulit buah tebal dan kasar, warna kulit buah kuning dengan bercak coklat tua, daun yang lebih tebal dan lebar, lebih tahan terhadap penyakit dan unsur hara yang minim, pertumbuhan vegetatif yang cukup lama ($\pm 1,5$ tahun) dan postur batang yang cukup tinggi (Hapsari dan Lestari, 2016; Astutik, 2009; Megia, 2005, Simmonds, 1962).

Tanaman pisang dikenal dan dibudidayakan sejak lama tetapi pengetahuan genetik genom pisang masih terbatas (Mancho-Sanchez et al., 2015). Pengetahuan tentang genom pisang yang terbatas berdampak pada banyak aspek pemuliaan dan seleksi tidak dapat diterapkan pada pisang. Sifat partenokarpi, sterilitas, dan ploidi merupakan beberapa kendala pada pemuliaan dan seleksi pisang (Mancho-Sanchez et al., 2015). Masalah tersebut tidak terkecuali terjadi pada pisang kapok. Oleh karena itu dibutuhkan strategi bioteknologi seperti pemuliaan mutasi untuk mengatasi kendala pengembangan kultivar pisang kepok unggul. Pemanfaatan ekstrak umbi kembang sungsang sebagai mutagen alami dapat menjadi salah satu strategi yang dapat dilakukan untuk pengembangan kultivar pisang kepok unggul melalui perakitan pisang kapok poliploid secara *in vitro*.

Kembang sungsang (*Gloriosa superba* L.) mengandung senyawa kolkisin dan gloriosin di seluruh bagian tanaman, khususnya pada umbi dan biji. Penelitian Addink, (2002) dan Dounias (2008) melaporkan kandungan kolkisin pada umbi dan bagian tanaman lain dari kembang sungsang berkisar antara 0.1 – 0.9 %. Dalam studi biologi dan pemuliaan, senyawa kolkisin sering digunakan untuk menginduksi mutasi yang menghasilkan tanaman poliploid karena afinitas yang kuat terhadap tubulin. Senyawa ini dapat mempengaruhi proses mitosis dengan cara mengganggu organisasi mikrotubule sehingga

menghasilkan metafase abnormal sehingga terbentuk sel dengan jumlah kromosom berlipat. Tanaman poliploid umumnya memiliki beberapa kelebihan, yakni ukuran sel lebih besar, batang lebih tinggi, daun lebih lebar, buah lebih besar, produksi lebih tinggi, dan lebih tahan terhadap serangan penyakit (Dounias, 2008). Menurut Thomas (1993) bahwa tanaman poliploid menunjukkan kualitas dan pertumbuhan yang lebih baik, salah satunya dapat dilihat dari struktur anatomi daun. Penelitian Sari (2014) melaporkan bahwa ekstrak biji kembang sungsang mampu meningkatkan ukuran sel stomata dan sel epidermis daun cabai merah keriting.

Selain itu, metode perbanyakan somaklonal melalui kultur jaringan dapat digunakan sebagai strategi pengembangan kultivar pisang kepok, mengingat metode ini dianggap lebih efektif dan efisien karena perubahan dapat diarahkan pada sifat yang diharapkan. Lebih lanjut dikatakan bahwa perubahan sifat genetik dapat ditingkatkan dengan menambahkan komponen organik tertentu ke dalam media untuk memunculkan variasi genetik. Mengingat hal ini maka penambahan ekstrak umbi kembang sungsang ke dalam media kultur jaringan dalam penelitian ini berperan untuk menginduksi munculnya sifat genetik seperti struktur anatomi daun yang dapat dijadikan karakter penanda pisang kapok unggul.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan mulai bulan Januari sampai dengan Oktober 2020 di Laboratorium MTC, PT Great Giant Pineapple PG 4 Labuhan Ratu di Lampung Timur dan pengamatan struktur anatomi daun planlet di Laboratorium Botani Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung. Penelitian dilaksanakan menggunakan Rancangan Acak lengkap (RAL) dengan 2 faktor. Faktor 1 terdiri dari 3 level, yaitu ekstrak segar umbi kembang sungsang (konsentrasi 10%), larutan kolkisin murni (0,1%) dan tanpa diberi penambahan (0%). Faktor 2 terdiri dari Kepok Abu, Kepok Batu dan Kepok Kuning. Semua kombinasi perlakuan diulang 5 kali.

Pembuatan ekstrak air umbi kembang sungsang mengikuti metode maserasi dari Harborne

(1987). Dan pembuatan larutan untuk perlakuan menggunakan metode pengenceran. Pembuatan media kultur jaringan mengikuti metode baku media MS.

Prosedur sterilisasi dan kultur jaringan mengikuti prosedur baku di laboratorium MTC PT GGP Lampung Timur. Induksi multiplikasi akar dan tunas terdiri dari 5 tahap, yaitu: tahap E2 merupakan tahap induksi kalus, tahap P0, P1, P2 merupakan subkultur untuk menginduksi tunas, dan tahap rooting untuk menginduksi akar dan daun. Masing-masing subkultur dilakukan selama 4 minggu. Preparasi anatomi daun mengikuti metode dari Dorly (1989). yaitu daun dikerik menggunakan silet tajam pada salah satu sisi permukaan daun sampai diperoleh satu lapisan yang tipis

(transparan). Setelah itu, lapisan tipis ditaruh di gelas obyek kemudian ditetesi larutan pemutih pakaian selama 5 menit. Sisa klorofil dibersihkan dengan aquades. Pewarnaan sampel dilakukan dengan safranin 1% dan ditetesi gliserin 10 %, kemudian ditutup dengan gelas penutup. Sediaan yang telah siap diamati dibawah mikroskop pada perbesaran 1000 X (dibantu minyak emersi). Parameter anatomi yang diambil adalah ukuran stomata, indeks stomata, ukuran sel epidermis. Pengukuran stomata dan sel epidermis dilakukan sebanyak 15 kali pada setiap ulangan. Indeks stomata (IS) dihitung pada 10 bidang pandang tiap ulangan. Menurut Royer (2001) perhitungan indeks stomata dapat di tentukan dengan menggunakan rumus :

$$\text{Indeks Stomata} = \frac{\text{Jumlah stomata}}{\text{Jumlah stomata} + \text{jumlah sel epidermis}} \times 100\%$$

Data indeks stomata dianalisis Sidik Ragam dan jika ada perbedaan akan dilanjutkan dengan uji DMRT pada taraf 5 %, sedangkan data ukuran stomata dan sel epidermis ditelaah menggunakan analisis perbandingan antara data hasil tanaman yang diperlakukan dengan tanaman kontrol.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kultur in vitro beberapa kultivar pisang kapok dengan pemberian variasi mutagen menunjukkan respon yang beragam. Eksplan pisang kapok batu dan abu 100 % tidak berhasil tumbuh pada media mengandung ekstrak umbi kembang sungsang disebabkan terjadi kontaminasi media. Hasil pengamatan mengindikasikan kontaminasi diduga disebabkan oleh jamur dan bakteri. Kontaminasi bakteri golongan gram positif dapat dilihat dari lapisan bagian atas media terbentuk lendir berwarna putih kecoklatan (Setiyoko, 1995). Kontaminasi ini diduga disebabkan sterilisasi yang kurang optimal. Sumber eksplan dari pekarangan warga juga dapat menjadi faktor munculnya kontaminasi.

Indeks Stomata Daun

Berdasarkan analisis ragam indeks stomata daun planlet pisang akibat pemberian mutagen alami pada 3 kultivar pisang kapok menunjukkan bahwa nilai signifikansi nyata pada faktor A, faktor B dan interaksi faktor A dan B < 0.05. Dengan demikian, uji lanjut yang digunakan adalah factor interaksi faktor A dan B. Hasil uji lanjut interaksi antar perlakuan menunjukkan bahwa perlakuan penambahan kolkisin mampu menurunkan indeks stomata daun pisang kapok abu dan batu, tetapi meningkatkan indeks stomata pad kapok kuning. Sedangkan nilai indeks stomata menunjukkan penurunan pada kapok kuning dari perlakuan penambahan mutagen alami ekstrak umbi kembang sungsang (Tabel 1).

Ukuran Sel Epidermis dan Stomata

Berdasarkan hasil pengukuran panjang dan lebar sel epidermis dan stomata menunjukkan bahwa ukuran (panjang dan lebar) rata-rata sel epidermis dan stomata meningkat meskipun tidak begitu besar pada semua kultivar kapok yang diperlakukan dengan mutagen, baik yang sintesis (kolkisin 0,1 %) maupun alami (ekstrak umbi kembang sungsang 10 %). Peningkatan ukuran sel epidermis dan stomata dapat dilihat pada Gambar 1. Rata-rata ukuran sel

epidermis dan stomata hasil pengamatan dapat dilihat dari Tabel 2.

Peningkatan ukuran sel epidermis dan stomata pada perlakuan kolkisin (A2) dan perlakuan ekstrak umbi kembang sunsang dibandingkan perlakuan kontrol (A1), meskipun tidak terlalu besar menunjukkan bahwa terjadi poliploidisasi pada planlet pisang kapok. Menurut Miguel dan Leonhar (2011), tanaman dengan panjang stomata lebih besar dari panjang stomata tanaman kontrol diduga sebagai tanaman poliploid. Hasil ini senada dengan penelitian Parwati (2009) pada paku *Adiantum raddianum* yang diberi perlakuan kolkisin bahwa meningkatnya derajat ploidi menyebabkan penurunan indeks stomatanya. Lebih lanjut Pharmawati dan Wistiani (2015) dan Setyowati et al. (2013) menjelaskan bahwa tinggi dan rendahnya rata-rata indeks stomata berkaitan

dengan ukuran stomata. Semakin besar ukuran stomata maka indeks stomata semakin kecil. Sebaliknya, jika ukuran stomata kecil maka rata-rata indeks stomata akan semakin tinggi. Hal ini dikarenakan stomata dengan ukuran yang lebih besar maka kerapatan stomata per satuan bidang pandang akan menurun. Oleh Karena itu nilai indeks stomata berbanding terbalik dengan ukuran stomata. Dalam hal ini Nofitahesti dan Daryono (2016) menjelaskan bahwa pemberian kolkisin dapat mempengaruhi struktur sitoskeleton mikrotubula sehingga ketika proses morfogenesis jaringan menjadi terhambat, akibatnya terjadi penambahan ukuran pada panjang dan lebar stomata, terutama pada jaringan epidermis dan sel - sel pengiring stomata berubah menjadi lebih besar ukurannya.

Tabel 1. Indeks stomata daun planlet akibat perlakuan penambahan mutagen alami dan perlakuan kultiver pisang kepok.

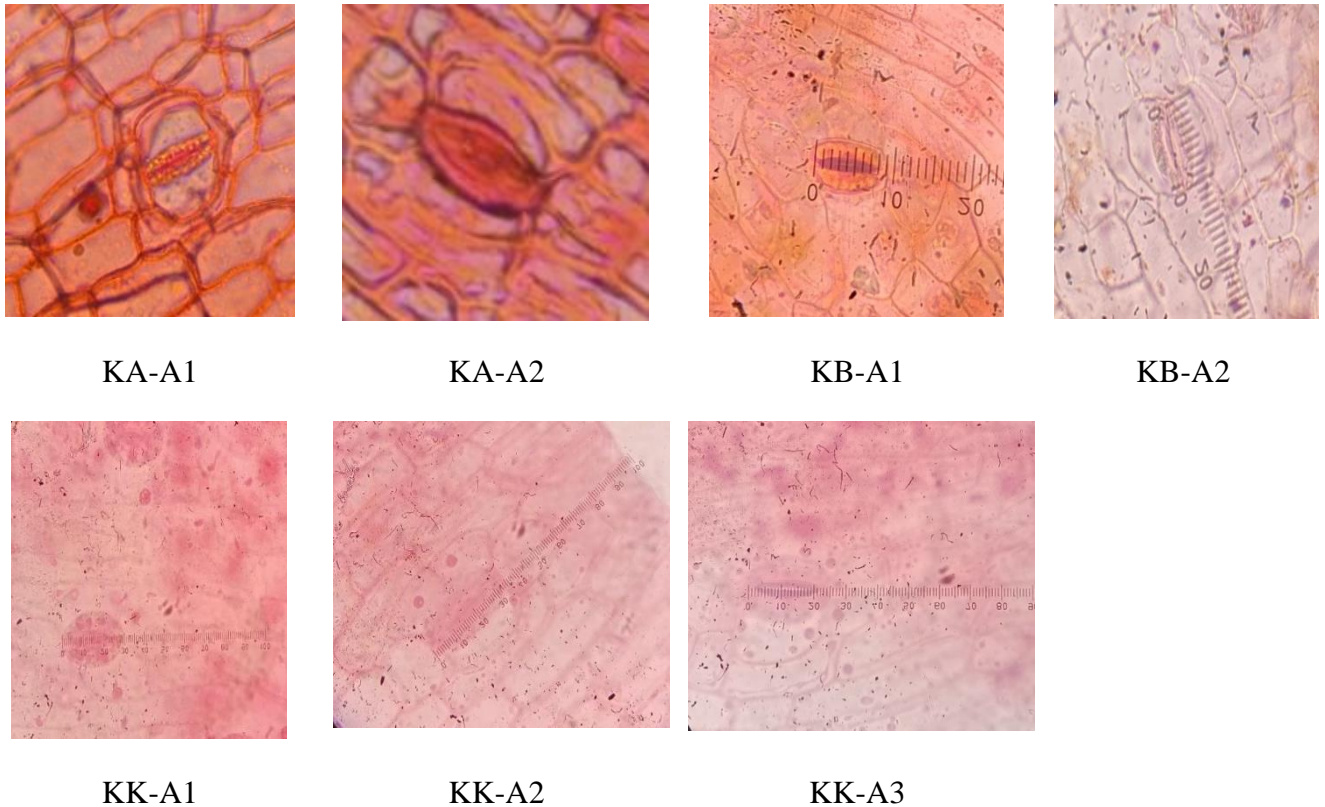
Konsentrasi	Kepok Abu	Kepok Batu	Kepok Kuning
0 %	4.68 ± 0.79 Ab	7.24 ± 2.46 Bb	3.13 ± 0.62 Ab
0.10%	3.79 ± 0.39 Ab	6.12 ± 1.99 Bb	3.31 ± 1.22 Ab
10%	0.00 ± 0.00 Aa	0.00 ± 0.00 Aa	3.00 ± 1.41 Bb

Keterangan : *Pada baris yang sama, angka yang diikuti oleh huruf majuscule yang berbeda menunjukkan simple effect dari perlakuan yang berbeda nyata pada taraf signifikan 0.05; dan pada kolom yang sama, angka yang diikuti huruf miniscule yang berbeda menunjukkan simple effect jenis pisang yang berbeda nyata pada taraf 0.05% dengan Duncan Multiple Range Test.

Tabel 2. Ukuran panjang dan lebar sel epidermis dan stomata daun planlet pisang akibat penambahan mutagen alami (µm)

Kultivar Pisang	Jenis Sel	Nilai Rata-Rata Tiap Perlakuan			
		A1	A2	A3	
Kepok Abu	Epidermis	P	25.55 ± 2.73	26.81 ± 1.430	-
		L	6.16 ± 0.682	6.25 ± 1.144	-
	Stomata	P	11.62 ± 1.179	12.71 ± 1.308	-
		L	5.28 ± 0.744	6.23 ± 1.135	-
Kepok Batu	Epidermis	P	22.46 ± 1.99	22.93 ± 1.17	-
		L	6.74 ± 0.527	6.91 ± 1.720	-
	Stomata	P	10.53 ± 0.20	11.02 ± 0.37	-
		L	6.08 ± 0.36	6.29 ± 0.52	-
Kepok Kuning	Epidermis	P	35.99 ± 2.73	41.11 ± 1.57	40.78 ± 1.52
		L	15.49 ± 0.91	16.12 ± 0.86	15.98 ± 1.17
	Stomata	P	28.23 ± 0.74	29.68 ± 0.98	28.81 ± 1.52
		L	17.68 ± 0.70	19.95 ± 0.43	18.08 ± 1.62

Keterangan: A1 = kontrol, A2 = kolkisin 0.1%, A3 = ekstrak umbi kembang sunsang 10%, P = panjang, L = lebar



Gambar 1. Stomata dan sel epidermis dari ketiga kultivar pisang kapok

Keterangan: KA-A1 = kapok abu , control
 KA-A2 = kapok abu, kolkisin 0,1 %
 KB-A1 = kapok batu, control
 KB-A2 = kapok batu, kolkisin 0,1 %
 KK-A1 = kapok kuning, control
 KK-A2 = kapok kuning, kolkisin 0,1 %
 KK-A3 = kapok kuning, ekstrak kembang sungsang 10 %

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa pemberian mutagen kolkisin 0,1 % dapat menginduksi munculnya tanaman poliploid pada pisang kapok dengan ditandai peningkatan ukuran sel epidermis dan stomata serta penurunan indeks stomata. Sedangkan mutagen alami ekstrak umbi kembang sungsang 10 % belum mampu menginduksi planlet poliploid pisang kapok batu dan abu, tetapi mampu menginduksi planlet poliploid pisang kapok kuning.

DAFTAR PUSTAKA

- Addink, W. (2002). Colchicine. <http://actahort.org/books/502/502-27.htm>. 18/06/2004.
- Astutik. (2008). Penggunaan Air Kelapa dalam Media Kultur Jaringan Pisang. *Buana Sains*, 8 (1): 67-72
- Dorly. (1989). Membandingkan Anatomi Daun Varietas Orba dan Muria. Laporan Masalah Khusus. IPB. Bogor. 38 hlm
- Dounias, E. (2008). *Gloriosa superba L. Protologue Sp. pl. 1 : 305 (1753)*
- Ernawiati, E. (2008). Pengaruh Ekstrak Umbi Kembang Sungsang (*Gloriosa superba L.*) Terhadap Pembelahan sel Akar Umbi Bawang Bombay (*Allium cepa L.*). Penelitian Dosen Muda DIKTI. *Jurnal Sains MIPA* 14 (2): 129 – 132.
- Hapsari, L., Kennedy, J., Lestari D.A., Masrumi A., & Lestari, W. (2017). Ethnobotanical Survey of Bananas (*Musaceae*) in Six Districts of East Java, Indonesia. *Biodiversitas*, 18 (1): 160 – 174

- Hapsari, L. & Lestari, D.A. (2016). Fruit Characteristic and Nutrient Values of Four Indonesian Banana Cultivars (*Musa* spp.) At Different Genomic Groups. *Agrivita Journal of Agricultural Science*, 38 (3): 303 – 311
- Manzo-Sánchez, G., Buenrostro-Nava, M., Guzmán-González, S., Orozco-Santos, M., Youssef, M., & Medrano, R. M. E. (2015). Genetic Diversity in Bananas and Plantains (*Musa* spp.). In M. Caliskan, G. C. Oz, I. H. Kavakli, & B. Ozcan (Eds.), *Molecular Approaches to Genetic Diversity*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/59421>
- Megia, R. (2005). *Musa* sebagai Model Genom. *Ulasan. Hayati*, 12 (4):167-170
- Miguel, T.P., & Leonhart, K.W. (2011). In vitro polyploid induction of orchids using oryzalin. *Sci. Hort.*130:314-319.
- Nofitahesti, I. & Daryono, B. S. (2016). Karakter Fenotip Kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) Hasil poliploidisasi dengan kolkisin. *J. Sains dan Pendidikan Sains*. 5(2):90-98.
- Royer, D. L. (2001). Stomatal Density And Stomatal Index As Indicators Of Paleomosperic Co2 Concertation. *Review of palaeobotany and palynology* 144 (2001) 1-28.
- Setiyoko, A. (1995). *Pedoman Pelaksanaan Teknik Kultur Jaringan Tanaman*. Penebar Swadaya. Jakarta
- Setyowati, M., Endang, S., & Aziz, P. (2013). Induksi Poliploidi dengan Kolkisin pada kultur meristem batang bawang wakegi (*Allium x wakegi* Araki). *Jurnal Ilmu Pertanian* 16: 58-76