

# PENGARUH ORYZALIN TERHADAP TINGKAT PLOIDI TANAMAN JEWAWUT (*Setaria italica* L.) AKSESI POLMAN KUNING

Diana Hani Andayani, Prasetyorini, Nuril Hidayati

Program Studi Biologi FMIPA Universitas Pakuan.

Jl. Pakuan Kotak Pos 452, Bogor. Telp/fax. (0251) 8375547

email:dianahani2795@gmail.com

## ABSTRAK

Jewawut (*Setaria italica* L.) merupakan tanaman sejenis sereal yang berpotensi sebagai tanaman pangan alternatif, karena jewawut mengandung karbohidrat dan kandungan gizi yang cukup memadai. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh zat oryzalin terhadap tingkat ploidi tanaman jewawut aksesori polman kuning. Penelitian dilaksanakan pada bulan Maret-Juni 2017 di Rumah Kaca Laboratorium Fisiologi Tumbuhan, Pusat Penelitian Biologi LIPI Cibinong Science Center Bogor. Penelitian ini menggunakan metode Rancangan Acak Kelompok (RAK) pola faktorial, dengan 2 faktor yaitu konsentrasi oryzalin (0;5;10;20 Dan 40 ppm) dan periode perendaman (12, 24 dan 48 jam) dengan 3 kali ulangan dan diuji lanjut menggunakan *Least Significant Difference* (LSD). Parameter yang diamati yaitu laju perkecambahan, jumlah populasi per plot, daya survival, pertumbuhan tanaman, kandungan korofil, jumlah, panjang dan lebar stomata serta tingkat ploidi tanaman jewawut. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan oryzalin belum menunjukkan perubahan pada tingkat ploidi dari diploid menjadi tetraploid. Namun sebagian tanaman memiliki hasil mixoploid, dimana mixoploid ini memiliki kecenderungan untuk berkembang menjadi poliploid

**Kata Kunci** : Jewawut (*Setaria italica* L.), oryzalin dan poliploid

## PENDAHULUAN

Masyarakat Indonesia sebagian besar mengkonsumsi beras atau padi (*Oryza sativa* L.) sebagai bahan makanan pokok sehari-hari. Ketergantungan pada padi, sebagai sumber karbohidrat utama, membahayakan ketahanan pangan nasional sehingga perlu mencari sumber karbohidrat alternatif (Sukanto *et al.*, 2010). Pemanfaatan pangan lokal atau diversifikasi pangan merupakan salah satu upaya yang bertujuan untuk menyediakan pangan melalui pemanfaatan pangan lokal sehingga dapat mengurangi ketergantungan terhadap beras dan pangan impor. Upaya ini perlu didukung dengan mencari sumber pangan alternatif yang berpotensi sebagai penghasil karbohidrat, salah satunya adalah jewawut (Randal *et al.*, 2016).

Jewawut (*Setaria italica* L.) merupakan tanaman pangan sejenis sereal yang mempunyai biji kecil. Tanaman ini telah lama dikembangkan di berbagai belahan dunia, seperti Asia, Eropa bagian tengah, Afrika utara sebagai sumber karbohidrat baik dalam bentuk bubur, roti

atau kue. Di negara Cina jewawut sangat dianjurkan untuk ibu hamil, bayi dan orangtua lanjut usia. Tanaman jewawut di beberapa daerah Indonesia pada umumnya digunakan sebagai pakan burung, namun di beberapa wilayah lainnya seperti Sulawesi Barat dan Selatan, Pulau Buru (Maluku) dan Pulau Numfor (Papua) jewawut digunakan sebagai pangan.

Kurang optimalnya produksi sumber karbohidrat non-beras seperti jewawut disebabkan oleh beberapa hal, diantaranya yaitu, kurangnya penelitian dan pengembangan komoditas tersebut, sebagian masyarakat yang masih belum mengetahui kandungan jewawut, petani yang masih menganggap tanaman jewawut sebagai pangan sampingan, penggunaan biji jewawut kualitas rendah dan lain-lain. Berdasarkan permasalahan tersebut, potensi genetik komoditas kualitas biji jewawut beberapa alternatif dapat ditingkatkan dengan cara pemuliaan tanaman, misalnya dengan pemuliaan mutasi menggunakan iritasi sinar gamma, fusi protoplas atau teknik manipulasi ploidi, seperti poliploidisasi.

Poliploid dapat diperoleh dengan pemberian mutagen kimia yaitu oryzalin. Oryzalin dinitroaniline (3,5-dinitro-N4,N4-dipropylsulfamilamide) merupakan herbisida yang efektif sebagai agen pengganda kromosom dan memiliki tingkat toksisitas yang lebih rendah dibandingkan kolkisin (Kermani *et al.*, 2003 dalam Dunn *et al.*, 2007). Oryzalin dapat menghambat pembentukan mikrotubul pada sel sehingga mengganggu proses mitosis sel, akibatnya pembelahan sel menjadi terganggu. DNA yang telah bereplikasi akan tetap berada dalam satu sel, sehingga sel tersebut memiliki jumlah kromosom dua kali lipat dari jumlah awalnya (Strachan dan Hess, 1983 dalam Nugraha, 2012).

Oryzalin ini sudah banyak diaplikasikan pada beberapa tanaman dan menghasilkan efek yang berbeda-beda. Contohnya seperti tanaman garut yang menghasilkan stomata lebih besar/panjang, daunnya berwarna hijau tua, lebih membulat, lebih tebal, dan lebih bergelombang (Sukamto *et al.*, 2010); tanaman pacar air (*impatiens balsamina* L.) menghasilkan bunga yang lebih besar; tanaman pisang mas lumut menghasilkan batang semu yang lebih panjang dan tebal, anakan lebih sedikit, daun yang lebih besar dan merunduk dan buah yang lebih gemuk; karamunting (*Rhodomyrtus Tomentosa*) menghasilkan daun yang lebih hijau, lebih tebal dan bergelombang (Normasiwi dan Nurlaeni, 2014); tanaman talas (*Colocasia esculenta* L.) menghasilkan tunas talas tetraploid, hexaploid dan oktaploid serta planlet yang diaklimatisasi mempunyai daya hidup yang tinggi (Wulansari, 2016); jati (*Tectona grandis* L.) menghasilkan peningkatan jumlah kloroplas pada sel penjaga stoma menjadi dua kali lipat (Nugraha, 2012); benih sengon (*Albizia falcataria* L.) meningkatkan jumlah kloroplas dalam sel penjaga stomata menjadi dua kali lipat; *Rosa rugosa* yang kromosomnya telah digandakan dari diploid menjadi tetraploid, secara morfologi memiliki ukuran yang lebih besar dibandingkan dengan asalnya yang diploid (Allum *et al.*, 2007).

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh konsentrasi dan waktu perendaman yang efektif dari perlakuan

larutan oryzalin terhadap tingkat ploidi tanaman jiwawut aksesi polman kuning.

## METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan pada bulan Maret-Juni. Benih jiwawut aksesi polman kuning merupakan hasil koleksi LIPI yang berasal dari Polewali-Mandar (Polman) Sulawesi Barat. Penelitian dilakukan dengan menggunakan metode Rancangan Acak Kelompok (RAK) pola faktorial, dengan 2 faktor dan 3 kali pengulangan. Faktor pertama adalah konsentrasi oryzalin (K) yang terdiri dari 5 taraf perlakuan yaitu 0;5;10;20 Dan 40 (ppm). Faktor kedua adalah lama perendaman (J) di dalam larutan oryzalin yang terdiri dari 3 taraf perlakuan yaitu 12, 24 dan 48 jam. Dengan demikian terdapat 45 unit uji dari 15 kombinasi (Tabel 4) dengan 3 kali pengulangan.

### Pembuatan Larutan Oryzalin dan Perendaman

Larutan oryzalin dibuat dari larutan stok sebesar 100 ppm dengan masing-masing konsentrasi (5;10;20 dan 40 ppm) sebanyak 500 ml. Sebelum benih jiwawut direndam dalam larutan, benih jiwawut terlebih dahulu direndam dengan aquadest dan dipilih benih jiwawut yang tenggelam, kemudian dikeringkan menggunakan *tissue*. Selanjutnya benih direndam pada larutan oryzalin konsentrasi 0, 5, 10, 20 dan 40 ppm dengan periode waktu perendaman masing-masing 12, 24 dan 48 jam.

### Laju Perkecambahan / Viabilitas Biji

Pengamatan laju perkecambahan dilakukan sampai 11 hari dengan 15 kali ulangan. Kemudian prosentasi laju dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$LP = \frac{\sum \text{kecambah}}{\sum \text{benih yang disemai}} \times 100\%$$

### Jumlah Populasi Hidup per Plot

Jiwawut hasil perlakuan perendaman yang telah ditanam dalam media steril dihitung jumlah populasinya berdasarkan semai per 3 cm x 3 cm (9 cm<sup>2</sup>) pada umur 7 hari setelah tanam (HST).

### Daya Survival

Daya survival jiwawut diamati dengan menghitung semai yang telah tumbuh pada baki. Pengamatan ini dilakukan setiap hari hingga kecambah siap untuk diaklimatisasi di rumah kaca.

## Pertumbuhan Tanaman

Tanaman jiwawut aksesori 'Polman Kuning' yang telah ditanam diamati pertumbuhannya. Adapun pertumbuhan yang diamati yaitu, tinggi tanaman yang dihitung dari permukaan tanah sampai dengan titik tumbuh; jumlah daun yang dihitung per minggu; luas daun (LD) yang dihitung mengikuti metode Guritno dan Sitompul, 1995 dalam Tuasamu, 2009 dengan mengukur panjang daun (P) yang diukur mulai dari pangkal daun sampai ujung daun terpanjang dan lebar daun (L) yang diukur pada bagian helai daun yang terlebar dengan rumus  $LD (cm^2) = P \times L \times K$  (K = konstanta kalibrasi [0,74]).

## Kandungan Klorofil

Mengukur kandungan klorofil dilakukan dengan menggunakan alat klorofil meter SPAD Minolta Dalam satu individu tanaman, dipilih daun muda yang baru muncul dan dipilih daun tua kedua dari bawah. Masing-masing helai daun muda dan daun tua diukur 3 titik (bagian dekat ujung daun, bagian tengah daun dan dekat pangkal daun) dari luas daun kemudian diambil rata-ratanya.

## Jumlah, Panjang dan Lebar Stomata

Pada Pengukuran ukuran dan jumlah stomata dilakukan metode *whole mount*. Diambil 1 helai daun dari masing-masing perlakuan. Setiap sampel tanaman diambil daun ke tiga dari daun termuda (daun teratas) kemudian dimasukkan ke dalam plastik dan diberi label. Daun dipotong  $\pm 2$  cm x 1 cm dan dimasukkan ke dalam cawan petri yang berisikan aquadest. Di dalam ruang asam, larutan  $HNO_3$  dan air (3:1) dipanaskan sampai mendidih, kemudian sampel daun dimasukkan sampai warna daun berubah menjadi transparan. Setelah daun menjadi transparan, daun diangkat kembali ke dalam cawan petri yang berisi aquades. Sebelum dibuat preparat *whole mount*, daun dipisahkan bagian jaringan epidermis atas dan epidermis bawahnya, kemudian dibuat preparat dan diamati di bawah mikroskop.

## Analisis Ploidi Tanaman

Mengukur tingkat derajat ploidi pada tanaman jiwawut dilakukan dengan menggunakan alat *flow cytometry*. Sampel daun diambil sekitar 2 cm x 2 cm (4 cm<sup>2</sup>). Sebelum memulai analisis, mesin *flow cytometri* dicleaning terlebih dahulu

menggunakan *decontamination solution*(1600  $\mu$ l), *cleaning solution*(1600  $\mu$ l) dan *sheath fluid* (1600  $\mu$ l) masing-masing *cleaning* dilakukan sebanyak 5x. Setelah mesin dicleaning dibuat campuran extracting buffer yang terdiri dari *staining buffer* (30 $\mu$ l), Propidium Iodide (180  $\mu$ l), RNase A(90  $\mu$ l) dan *nuclei extraction buffer*. Sampel daun dari tanaman jiwawut kontrol dan perlakuan diletakan pada cawan petri dan diberi 250  $\mu$ l *nuclei extraction buffer*, lalu dicacah menggunakan silet sampai halus. Selanjutnya ekstrak disaring menggunakan *nylon mess* ke dalam tabung uji dan diberi 250  $\mu$ l larutan campuran *extracting buffer*. Tabung uji yang berisi sampel kemudian dimasukkan ke dalam alat *flow cytometry*.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil Uji Daya Kecambah Sebelum Perlakuan

Hasil uji daya kecambah jiwawut aksesori Polman Kuning sebelum perlakuan oryzalin menunjukkan bahwa laju perkecambahan relatif rendah, yaitu pada hari kesepuluh daya kecambah hanya mencapai 66,60%.

### Respon Pertumbuhan Populasi dan Daya Survival

Hasil perlakuan oryzalin dengan konsentrasi 20  $\mu$ M dan 40  $\mu$ M pada pertumbuhan jumlah populasi dan daya survival berpengaruh sangat nyata pada pertumbuhan populasi dan daya survival tanaman jiwawut. Hasil yang sama juga diperoleh Normasiwi dan Nurlaeni (2014), bahwa perlakuan oryzalin 20  $\mu$ M dan 40  $\mu$ M pada tanaman *Rhodomyrtus tomentosa* memiliki daya hidup rendah dan berbeda nyata dengan kontrol. Hal ini diduga karena adanya gangguan fisiologis pada bibit yang diberi perlakuan oryzalin.

### Hasil Pengamatan Morfologi Tanaman Jiwawut

Berdasarkan rata-rata tinggi tanaman (37 HST) pada konsentrasi 20 dan 40 ppm dengan periode perendaman 12 jam dan 48 jam mengalami penurunan tinggi tanaman, sedangkan pada periode 24 jam tidak adanya pengaruh dan pada konsentrasi 5 dan 10 ppm dengan periode perendaman 48 jam mengalami peningkatan pada tinggi tanaman. Adanya peningkatan tinggi

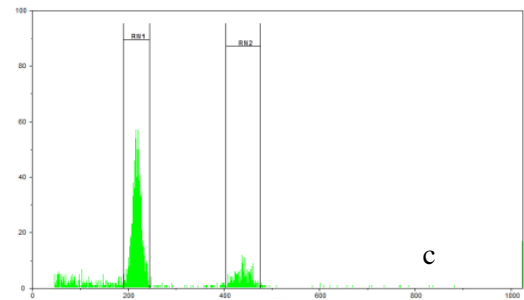
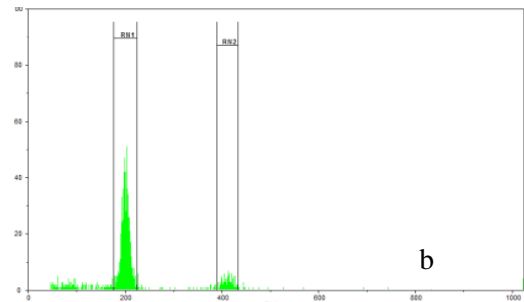
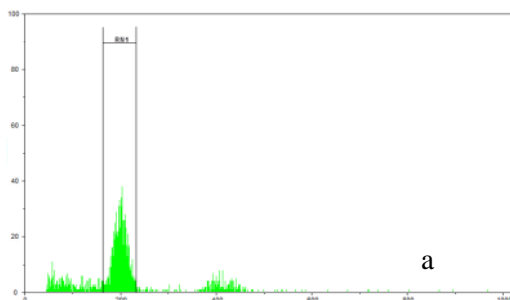
tanaman juga berdampak pada peningkatan jumlah daun dan luas daun.

### Evaluasi Kadar Klorofil, Jumlah , Panjang dan Lebar Stomata

Hasil analisis klorofil pada perlakuan tingkat konsentrasi dan periode perendaman oryzalin memperlihatkan bahwa klorofil daun tua berpengaruh sangat nyata, Semakin tinggi konsentrasi larutan oryzalin, semakin rendah kadar klorofil daun tua dan daun muda. Begitu juga dengan periode perendaman. Berbeda dengan hasil analisis stomata dengan konsenrasi oryzalin yang tinggi memberikan peningkatan jumlah serta panjang stomata. Menurut Ho *et al.* (1990) dalam Lozykowska (2003) menyatakan bahwa ukuran panjang stomata berhubungan dengan jumlah kloroplas pada sel penjaga. Semakin panjang ukuran stomata maka semakin banyak jumlah kloroplas pada sel penjaga dan semakin tinggi tingkat ploidi.

### Analisis Dugaan Tingkat Ploidi

Analisis ploidi dilakukan terhadap daun muda yang baru membuka, dengan usia tanaman 20 HST yang masih berada dalam naungan 55%. Daun tanaman diploid digunakan sebagai standar. Penentuan tingkat ploidi dilakukan dengan menggunakan alat *Flowcytometry Cyflow*. Analisis ploidi dilakukan dengan menggunakan larutan *Cystain UV* ploidi yang berisi *buffer* dan pewarna DNA. Sampel dibaca pada panjang gelombang 440 nm dan kecepatan 1000 nuclei per detik (Ermayanti *et al.*, 2013 ). Hasil analisis flow cytometry disajikan dalam bentuk histogram (Gambar 1).



Gambar 1. Hasil analisis derajat ploidi dengan menggunakan *flow cytometry* pada daun muda tanaman (a) jewawut kontrol, (b) jewawut perlakuan oryzalin 5 ppm dan (c) jewawut perlakuan oryzalin 10 ppm.

Histogram tingkat ploidi pada setiap perlakuan tidak menunjukkan adanya perubahan dari diploid menjadi tetraploid atau lebih. Ada atau tidaknya perubahan terlihat dari puncak pada *channel* yang sama yaitu *channel* 200 yang sama dengan kontrol (Gambar 1a). Beberapa diantaranya terdapat hasil mixoploid. Puncak pertama dan puncak kedua pada histogram hasil perlakuan (Gambar 1b dan 1c) menggambarkan peak DNA yang berjumlah 2 pada *channel* 400.

Tanaman pada tingkat mixoploid diduga mempunyai kecenderungan untuk berpoliploid. Mixoploid merupakan kimera ploidi hasil dari regenerasi paling sedikit dua sel dengan tingkat ploidi yang berbeda (Poerba, 2012; 2014). Menurut Sutjahjo *et al* (1993), tanaman mixoploid, yaitu tanaman yang di dalam sel-selnya mempunyai jumlah set khromosom campuran (3N, 5N dan seterusnya). Hasil yang sama juga diperoleh Wulansari *et al.*, 2016 pada penelitian talas dengan perlakuan oryzalin menghasilkan tunas mixoploid yang merupakan *chimera*, karena memiliki 2 macam set kromosom yang berbeda dalam 1 tunas yaitu diploid dan tetraploid

Keragaman tingkat ploidi pada konsentrasi yang sama dapat terjadi karena adanya perbedaan fase dari setiap sel yang akan menginisiasi tunas sehingga meskipun

sejumlah sel pada meristem sudah terinduksi poliploid, namun beberapa sel yang lain tidak terpengaruh perlakuan oryzalin dan tetap bersifat diploid (Thao *et al.*, 2003).

#### KESIMPULAN

Perlakuan oryzalin dengan konsentrasi 5 ppm dan 10 ppm dengan periode perendaman perendaman selama 24 jam menunjukkan hasil yang paling efektif namun hal tersebut tidak menunjukkan perubahan pada tingkat ploidi dari diploid menjadi tetraploid, sebagian tanaman memiliki hasil mixoploid, dimana mixoploid ini memiliki kecenderungan untuk berkembang menjadi poliploid.

#### SARAN

Perlu diadakan penelitian lebih lanjut untuk pengamatan generatif dan hasil produksi.

#### UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis menyampaikan terima kasih kepada Ibu Dr. Prasetyorini MS selaku pembimbing 1, Ibu Dr. Nuril Hidayati selaku pembimbing 2 sekaligus Kepala Laboratorium Fisiologi Tumbuhan LIPI dan para staf Laboratorium tumbuhan yang telah bersedia membantu melaksanakan penelitian ini.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Allum, J.F., Bringloe., D.H, Roberts., AV. 2007. **Chromosome Doubling in a *Rosa rugosa* Thunb. Hybrid by Exposure of in Vitro Nodes to Oryzalin: The Effects of Node Length, Oryzalin Concentration and Exposure Time.** Plant Cell Rep 26: 1977-1984.
- Dunn BL, Lindstrom JT (2007) **Oryzalin-Induced Chromosome Doubling In Buddleja to Facilitate Interspecific Hybridization.** Hortscience 42:1326–1328
- Ermayanti, TM., EA. Hafiih., AF. Martin. dan DE. Rantau. 2013. **Pengaruh Kolkisin Terhadap Pertumbuhan Tunas *Artemisia annua* L. Secara In Vitro dan Analisis Tingkat Ploidinya.** [Prosiding]. Seminar Nasional XXID. Yogyakarta. Hal:513-522.
- Lozykowska, K.S. 2003. **Determination of The Ploidy Level in Chamomile (*Chamomilla recutita* (L.) Rausch.) Strains Rich in  $\alpha$ -bisabol.** J. Appl. Gent. 44(2): 151-155.
- Normasiwi, S dan Y.Nurlaeni. 2014. **Induksi Poliploidi Tumbuhan *Rhodomyrtus tomentosa* sal Gunung Tandikat Sumatera Barat Menggunakan Oryzalin.** [Prosiding]. Bogor. Hal:565
- Nugraha I. 2012. **Penggandaan Kromosom Jati (*Tectona grandis* L.) Dengan Oryzalin Dalam Kultur *In Vitro* Dan Pendugaan Tingkat Ploidi.** [Skripsi]. Bogor : Institut Pertanian Bogor
- Poerba, Y.S., Wicaksono., F. Ahmad dan T. Handayani. 2014. **Induksi dan Karakterisasi Pisang Mas Lumut Tetraploid.** Jurnal Biologi Indonesia. 10(2): 191-200
- Randall, A., W.A Qosim., Y. Yuwariah., A. Nuraini., T. Nurmala., A.W Irwan. 2016. **Karakterisasi dan Kekebabatan 23 Genotip Jawawut (*Setaria italica* L. Beauv) yang Ditanam Tumpangsari dengan Ubi Jalar Berdasarkan Karakter Agromorfologi.** PANGAN. Vol. 25(1):21-23
- Sukanto, LA., F. Ahmad., A.H Wawo. 2010. **Pengaruh Oryzalin Terhadap Tingkat Ploidi Tanaman Garut (*Maranta arundinacea* L.).** Bulletin Littro. Vol. 21(2):93-102
- Sutjahjo, S.H., A. Maknur., N. Tripudayani dan U. Hafid. 1993. **The Induction of Tetraploid Plant on Watermelon (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Manat) With Colchicine.** Buletin Agronomi. Vol. 21(1).
- Thao, N.T.P., K. Ureshlno., I. Miyajima., Y. Ozaki dan H. Okubo. 2003. **Induction of Tetraploids In Ornamental Alocasia Through Colchicine and Oryzalin**

**Treatments.** Plant Cell. Tissue and Organ Culture. 72: 19-25.

Tuasamu, Yati. 2009. **Toleransi Hotong (*Setaria italica* L. Beauv) pada Berbagai Cekaman Kekeringan: Pendekatan Anatomi dan Fisiologi.** [Tesis]. Bogor : Institut Pertanian Bogor

Wulansari, A., Martin, A. F., & Ermayanti, T. M. 2016. **Induksi Tanaman Poliploid Talas (*Colocasia esculenta* L.) dengan Perlakuan Oryzalin secara *In Vitro*.** Jurnal Biologi Indonesia. Vol. 12(2):297-305

