

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Padi Hitam (*Oryza sativa* L.)

Tanaman padi hitam ialah tanaman pangan yang berasal dari famili Poaceae dan genus *Orizae* yang mempunyai ± 25 spesies yang tersebar di daerah tropis dan subtropis. Tanaman padi yang mempunyai ± 25 spesies memiliki variasi warna bulir yang beragam. Beras hitam mengandung banyak aleuron dan endospermia yang memproduksi antosianin sehingga warna beras menjadi ungu pekat mendekati hitam. Beras hitam juga mempunyai kandungan antioksidan, antosianin dan juga mengandung kadar gula yang lebih sedikit, lebih banyak serat dan vitamin E. Disamping rasanya yang enak, pulen dan wangi, beras hitam juga memiliki keunggulan lain, misal manfaatnya bagi kesehatan. Beras hitam yang mengandung gizi lebih baik dari pada beras putih dan beras merah dapat dimanfaatkan untuk meningkatkan taraf kesehatan penduduk Indonesia (Anonymous, 2010). Beras hitam sebagai bahan makanan yang memiliki nilai gizi yang tinggi bila dibandingkan dengan beras putih dan beras merah. Warna beras hitam diatur secara genetik dan dapat berubah tergantung dari perbedaan gen yang mengatur warna aleuron, endospermia dan komposisi pati pada endospermia. Aleuron mengandung gen yang memproduksi antosianin sebagai sumber warna merah atau ungu. Aleuron dan endospermia pada beras hitam memproduksi antosianin dalam jumlah yang tinggi sehingga menyebabkan warna beras berubah menjadi ungu pekat mendekati warna hitam (Anonymous, 2009).

Kristamtini (2009) menyatakan bahwa beras hitam memiliki kelebihan dalam kadungan gizi dan khasiat bila dibandingkan dengan beras putih maupun beras merah. Beras hitam yang memiliki kandungan gizi lebih baik dari beras lainnya juga memiliki kekurangan yaitu umur, umur panen padi hitam tergolong lama yaitu kurang lebih lima bulan. Umur panen yang lama ialah salah satu kendala yang harus diatasi. Beras hitam mempunyai nama yang berbeda-beda pada setiap daerah. Beras hitam yang ada di Solo dikenal oleh masyarakat dengan nama "Beras Wulung", di kawasan Subang, Jawa Barat beras hitam dikenal dengan nama "Beras Gadog", di kawasan Sleman dikenal dengan nama "Cempo Ireng" dan ada yang menyebutnya dengan nama "Jilitheng" dan pada daerah

Bantul dikenal dengan nama “Beras Melik” (Kristamtini, 2009; Anonymous, 2010).

Beras hitam saat ini sudah tergolong langka karena tidak ada upaya pelestarian dari petani pada zama dahulu dan petani sekarang jumlahnya sedikit yang membudidayakan padi hitam. Jumlah petani yang menanam beras hitam sedikit dikarenakan umur padi hitam yang relatif panjang bila dibandingkan dengan padi pada umumnya dan juga karena rendahnya hasil produksi. Walaupun padi hitam mempunyai umur yang panjang dan hasil produksi yang rendah namun masih ada petani yang menanamnya dikarenakan harga beras hitam yang lebih mahal dan mempunyai nilai gizi yang lebih bila dibandingkan dengan beras putih.

2.2 Mutasi

Mutasi ialah perubahan genetik pada gen tunggal maupun sejumlah gen atau susunan kromosom. Mutasi dapat terjadi dengan mengubah jumlah dan susunan kromosom maupun susunan DNA pada kromosom. Mutasi dapat terjadi pada semua bagian dan semua fase pertumbuhan tanaman, namun lebih banyak terjadi pada bagian tanaman yang sedang aktif membelah (mengadakan pembelahan sel) misalnya tunas, biji dan sebagainya. Menurut Crowder (1997) mutasi ialah proses dimana suatu gen mengalami perubahan struktur. Mutasi gen terjadi sebagai perubahan dalam gen dan timbul secara spontan. Dalam arti luas, mutasi dihasilkan dari segala macam tipe perubahan bahan keturunan yang mengakibatkan perubahan fenotip yang diturunkan.

Menurut Poespodarsono (1988) mutasi dapat digolongkan menjadi 3 macam, yaitu:

1. Mutasi kromosom

Mutasi kromosom ialah mutasi yang terjadi karena perubahan benang kromosom yang mengakibatkan berubahnya susunan atau letak gen yang terdapat didalamnya. Perubahan tersebut dapat berupa:

- Pemindahan (*translocation*), terjadi apabila bagian kromosom pindah ke kromosom pasangannya.
- Pembalikan (*inversion*), terjadi apabila letak 2 gen atau lebih pada bagian kromosom berubah.

- Penghapusan (*deletion*), terjadi apabila kromosom yang berisi beberapa gen lenyap.
- Penggandaan (*duplication*), terjadi apabila ujung kromosom yang berisi beberapa gen menjadi ganda.

2. Mutasi gen

Mutasi pada tingkatan gen berkaitan dengan sifat kualitatif yang dikendalikan oleh sedikit gen, misalnya warna bunga. Mutasi gen dapat terjadi dua arah yaitu dari dominan ke resesif ataupun sebaliknya. Mutasi gen resesif lebih sering terjadi bila dibandingkan dengan gen dominan. Gen dominan heterozigot (Aa) apabila mengalami mutasi akan langsung dapat diketahui perubahannya ($Aa \rightarrow aa$), namun untuk gen dominan homozigot (AA) sulit untuk mendapatkan tanaman yang termutasi ($AA \rightarrow aa$).

3. Mutasi genom

Mutasi genom menyebabkan perubahan banyak gen bahkan dapat terjadi di seluruh kromosom atau gen sehingga berkaitan dengan sifat kuantitatif. Terjadinya mutasi genom pada suatu populasi akan menyebabkan keragaman pada populasi tersebut.

Yowono (2006) menyatakan bahwa mutasi ialah suatu proses perubahan struktural suatu gen atau kromosom. Perubahan struktural suatu gen atau DNA dapat berupa penggantian dan penambahan nukleotida pada struktur DNA, penghilangan satu atau beberapa nukleotida dan penyusunan kembali urutan beberapa nukleotida. Mutasi yang berupa penambahan dan pengurangan nukleotida pada umumnya ialah suatu mutasi yang mempunyai sifat merusak. Mutasi dapat terjadi secara spontan pada semua jenis sel. Mutasi karena induksi terjadi apabila suatu jasad hidup diaplikasikan dengan mutagen (senyawa penyebab mutasi).

2.3 Poliploidi

Menurut Poespodarsono (1988), poliploidi ialah penyimpangan dua set kromosom atau genom dalam sel somatis suatu organisme. Organisme yang mempunyai jumlah kromosom kelipatan dari jumlah kromosom dasar (n) disebut euploid. Bila jumlah kromosom bukan kelipatan dari jumlah kromosom dasar disebut aneuploid, misalnya $2n-1$ dan juga $2n+1$. Poliploidi ini dapat terjadi akibat

kegagalan pemisahan koromosom saat mitosis, gangguan meiosis atau persilangan berbeda jumlah kromosom.

Penyebab terjadinya poliploidi yaitu *autopolyploid* dan *allopolyploid* (Yuwono, 2006). Menurut Crowder (1997), *autopolyploid* ialah peningkatan jumlah set kromosom homolog. *Autopolyploid* dapat terjadi secara spontan di alam namun sangat jarang terjadi. Penggandaan jumlah set kromosom biasanya dilakukan dengan menambahkan zat mutagen (misal kolkisin). Zat mutagen dapat menghambat pembentukan dan aktivitas benang spindel pada saat mitosis, dimana pada saat metafase kromosom tidak bergerak menuju ke arah kutub tetapi berada di daerah ekuator bahkan dapat kembali mengganda.

Penyebab lain terjadinya poliploidi ialah *allopolyploid*. *Allopolyploid* mempunyai gen dari dua spesies yang berbeda. Menurut Crowder (1997) apabila genom dari spesies yang berbeda bergabung (persilangan interspesifik) maka susunan genetiknya disebut allopoliploidi. *allopolyploid* di alam terjadi karena persilangan antara dua tumbuhan yang berasal dari spesies maupun genus yang berbeda. Hasil dari persilangan interspesifik menghasilkan keturunan yang steril karena hanya ada beberapa atau tidak ada kromosom homolog, hal ini menyebabkan proses meiosis tidak normal.

Menurut Ariyanto, Parjanto dan Supriyadi (1979) perlakuan kolkisin dengan konsentrasi 0,25 - 0,50% selama 3 hingga 6 jam dapat merubah jumlah kromosom (poliploidi) tanaman jahe putih besar. Jumlah kromosom yang dihasilkan poliploidi ialah tetrasomik, triploid, tetraploid, pentaploid, heksaploid, dan oktaploid.

2.4 Kolkisin

Kolkisin ($C_{22}H_{25}O_6N$) ialah suatu alkaloid yang berasal dari umbi dan biji *Autumn crocus* (*Colchicicum autumnale* L.) yang termasuk kedalam famili *Liliceae* (Sulistyaningsih, 2004). Kolkisin dapat didapatkan dalam bentuk serbuk halus berwarna putih. Kolkisin memiliki sidat mudah larut dalam air dan digunakan dalam konsentrasi yang rendah (Snustad, Michael dan John, 1997).

Kolkisin berpengaruh untuk menghentikan aktivitas benang spindel sehingga kromosom yang telah membelah tidak memisahkan diri dalam anaphase, hal ini terjadi pada pembelahan sel hewan dan juga sel tumbuhan. Berhentinya

proses pemisahan dalam anaphase mengakibatkan jumlah kromosom dalam suatu sel menjadi berganda. Perlakuan kolkisin dalam waktu yang berbeda (semakin lama) dapat menghasilkan pertambahan genom sebagai suatu deret ukur seperti $4n$, $8n$, $16n$ dan seterusnya (Brewbaker, 1983).

Menurut Sulistyarningsih (2004), kolkisin ialah salah satu reagen penyebab mutasi yang menyebabkan terjadinya poliploid dimana organisme memiliki tiga atau lebih kromosom dalam selnya. Tanaman poliploid biasanya memiliki sifat lebih kekar dan bagian tanaman lebih besar sehingga diharapkan akan dapat memperbaiki potensi hasil dari tanaman tersebut.

Menurut Suryo (1995), tidak ada konsentrasi tertentu mengenai besarnya konsentrasi larutan kolkisin yang harus digunakan untuk mendapatkan tanaman tanaman baru yang termutasi dan juga mengenai waktu perlakuan, namun pada umumnya kolkisin akan bekerja dengan efektif pada konsentrasi 100 - 10.000 ppm dan ada kalanya akan bekerja efektif pada konsentrasi 10 - 10.000 ppm. Waktu perlakuan (lama perlakuan) perendaman kolkisin juga berkisar antara 3 - 24 jam. Konsentrasi larutan kolkisin dan lama waktu perlakuan harus mencapai keadaan yang tepat untuk mendapatkan tanaman yang termutasi, apabila konsentrasi larutan dan waktu perlakuan kurang mencapai keadaan yang tepat maka poliploidi belum dapat diperoleh dan sebaliknya apabila konsentrasi dan waktu perlakuan melebihi batas toleransi dari tanaman maka tanaman menjadi jelek, banyak sel yang rusak dan dapat menyebabkan kematian tanaman.

Poespodarsono (1988) menyatakan bahwa kepekaan tanaman terhadap kolkisin amatlah berbeda antar spesies tanaman, oleh karena itu konsentrasi maupun waktu perlakuan akan berbeda pula dan bahkan untuk bagian tanaman yang berbeda akan berbeda pula konsentrasi larutan dan waktu perlakuannya. Untuk biji yang cepat berkecambah, biji direndam dalam larutan kolkisin dengan konsentrasi 10 - 15.000 ppm selama 1 - 5 hari.

2.5 Teknik Pemberian Kolkisin Pada Tanaman

Sel tumbuhan tahan terhadap konsentrasi larutan kolkisin yang relatif kuat. Larutan kolkisin cepat mendapatkan difusi ke dalam jaringan tanaman dan kemudian disebarluaskan ke berbagai bagian tubuh tanaman melalui jaringan pengangkut. Berbagai percobaan menunjukkan bahwa penggunaan konsentrasi

larutan kolkisin agak kuat diberikan pada waktu singkat memberikan hasil lebih baik daripada kebalikannya. Bagian tanaman yang dapat diperlakukan dengan kolkisin ialah benih, yaitu dengan merendamnya dalam larutan kolkisin. Konsentrasi larutan dan lama perendaman tergantung macam benih. Makin tebal/keras benih maka makin kuat konsentrasi kolkisin yang dibutuhkan dan memerlukan waktu yang lebih lama. Primordial (mata kuncup) tunas atau bunga, biasanya diperlukan dengan cara membumbun larutan kolkisin dalam bentuk tetesan berulang kali karena harus dijaga supaya jangan sampai kering. Benih yang telah berkecambah direndam dalam larutan kolkisin. Cara perendaman lebih efektif karena setelah selesai perlakuan, pertumbuhan kecambah dapat diikuti. Waktu perendaman yang terlalu lama akan menyebabkan kecambah mati. Sebaliknya, waktu yang singkat tidak akan menghasilkan tanaman poliploidi. Akar, yaitu dengan merendam seluruh akar tanaman. Perendaman akar telah dicoba pada berbagai macam spesies tanaman dengan pengaruh yang efektif, terutama pada rumput-rumputan, batang atau cabang berkayu. Perlakuan kolkisin pada batang atau cabang yang berkayu harus memperhatikan waktu yang tepat yaitu menunggu sampai dormansi dari batang tersebut telah dilampaui sehingga sel-sel dalam keadaan pembelahan sel (Suryo, 1995). Penelitian dari Vanous (2011) menyebutkan bahwa dalam penelitiannya bibit direndam dalam larutan kolkisin dengan konsentrasi 0,06% yang mengandung 0,5% DMSO sebagai pelarut bubuk kolkisin kemudian disimpan dalam ruangan gelap dengan suhu ruang selama 12 jam, setelah perendaman selesai bibit dicuci dengan air mengalir.

2.6 Perubahan Akibat Mutasi

Perubahan yang terjadi akibat mutasi dapat dilihat dari penampilan fisik dan juga genetik tanaman. Tanaman yang mengalami mutasi biasanya memiliki ciri fisik yang berbeda bila dibandingkan dengan tanaman yang tidak mengalaminya. Ghosh (1949) menyatakan bahwa penelitiannya menggunakan dua perlakuan yaitu perendaman benih dan bibit, pada tahun 1942 benih padi direndam dengan larutan kolkisin 500 ppm dan 10.000 ppm selama 48 jam. Benih yang mulai tumbuh direndam dengan larutan kolkisin 500 ppm, 1000 ppm, 5000 ppm dan 10.000 ppm selama 2 jam. Tidak ada benih yang bertahan pada saat pembibitan dengan konsentrasi 1000 – 10.000 ppm. Tahun 1943 benih yang

berasal dari tanaman yang bertahan (perendaman larutan kolkisin 500 ppm) dibagi menjadi dua. Salah satu benih yang telah dibagi tersebut ditanam langsung tanpa ada perlakuan perendaman dengan kolkisin dan satunya direndam dengan larutan kolkisin dengan perlakuan yang sama dengan parentalnya. Prosedur yang dilakukan pada tahun 1943 diulangi pada tahun 1944. Tahun 1943 tanaman padi tetraploid didapatkan dari perlakuan kolkisin 5000 ppm, namun padi tetraploid yang didapatkan pada tahun 1943 tidak menghasilkan bulir padi. Tahun 1944 tanaman padi tetraploid didapatkan dengan konsentrasi 10.000 ppm selama 48 jam yang berasal dari benih yang bertahan pada tahun 1943. Tanaman tetraploid yang didapatkan pada tahun 1944 menunjukkan perbedaan ukuran bulir bila dibandingkan dengan kontrol. Bulir yang didapatkan lebih besar 28,1% dibandingkan kontrol. Tahun 1942 hasil panen mengalami peningkatan pada konsentrasi kolkisin 500 ppm, sedangkan pada tahun 1943 dan 1944 tanaman padi pada generasi ke dua dan ke tiga mengalami peningkatan bila dibandingkan dengan kontrol pada perlakuan 10.000 ppm yang direndam selama 48 jam, pada tahun 1944 juga terdapat peningkatan pada tanaman yang berasal dari benih yang telah direndam dengan larutan kolkisin dengan konsentrasi 5000 ppm selama 2 jam. Dua generasi (tahun 1943 dan 1944) tersebut mengalami peningkatan secara berturut-turut dengan konsentrasi kolkisin 5000 ppm selama 2 jam. Lin (1979) dalam penelitiannya menyebutkan bahwa benih padi diploid juga berhasil didapatkan melalui induksi kolkisin, penggandaan kromosom terjadi pada konsentrasi 0,05 atau 1% larutan kolkisin.

Penelitian Nura *et al.*, (2011) pada tanaman wijen menyebutkan bahwa perlakuan kolkisin menunjukkan hasil yang berbeda nyata dengan taraf 1%. Perubahan parameter yang terjadi akibat perlakuan kolkisin (0,1 mM, 0,5 mM, 1,0 mM, 2,0 Mm dan kontrol) ialah pada parameter kuantitatif seperti persentase perkecambahan, tinggi tanaman pada saat pembuahan, jumlah daun per tanaman, luas daun, dll. Essel *et al.* (2015) menyebutkan bahwa mutagen dapat menghambat perkecambahan dan menurunkan persentase perkecambahan, menyebabkan perubahan karakter kuantitatif yang beragam (naik dan turun), umur berbunga dan panen yang lebih cepat serta menurunkan waktu pengisian biji dan mutagen juga mampu meningkatkan serta menurunkan bobot hasil.