

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Temulawak



Gambar 1. Tanaman Temulawak (Rulliyah, 2016)

Temulawak merupakan tanaman obat yang termasuk dalam bangsa zingiberales, suku zingiberaceae, marga curcuma, dan jenis *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. Temulawak mempunyai beberapa nama daerah, diantaranya adalah koneng gede (sunda, temo lobak (Madura). Temulawak termasuk tanaman tahunan yang tumbuh merumpun. Tanaman ini berbatang semu berwarna hijau dan coklat gelap. Habitusnya dapat mencapai tinggi 1,5 - 2 meter. Tiap batang mempunyai daun 2-9 helai dengan bentuk daun bundar memanjang sampai bangun lanset. Daun termasuk tipe daun sempurna, artinya tersusun dari pelepah daun, tangkai daun, dan helai daun. Temulawak tidak memiliki akar tunggang karena termasuk tanaman monokotil. Akar-akarnya melekat dan keluar dari rimpang induk. Panjang akar sekitar 25 cm dan letaknya tidak beraturan. Akar rimpang terbentuk dengan sempurna dan bercabang kuat. Rimpang temulawak terdiri dari rimpang induk (empu) dan rimpang anakan (cabang). Rimpang induk temulawak bentuknya bulat seperti telur dan berwarna kuning tua atau cokelat kemerahan. Rimpang induk mengeluarkan rimpang kedua yang lebih kecil. Arah pertumbuhannya ke samping berwarna lebih muda dengan bentuk beragam dan berjumlah sekitar 3-7 buah. Ujung rimpang cabang membengkak menjadi umbi kecil. Rimpang ini baunya harum dan rasanya agak pahit. Kulit rimpang muda maupun tua berwarna kuning kotor. Rimpang terbentuk dalam tanah pada kedalaman lebih kurang 16 cm. Tiap rumpun tanaman temulawak umumnya memiliki enam buah rimpang tua dan lima buah rimpang muda. Setiap rimpang biasanya memiliki 12-15 mata tunas (Afifah, 2003).

Temulawak merupakan tumbuhan yang memiliki kromosom triploid (3n) (Budiman, 1999). Tanaman temulawak mempunyai jumlah kromosom individu (3n) sebanyak 63 dengan kromosom dasar (n) sebanyak 21 (Syukur dan Sarsidi, 2015). Individu dengan jumlah kromosom lebih atau kurang dari diploid akan berpasangan dengan tidak teratur pada proses meiosis. Ada 3 kemungkinan kombinasi pada sinapsis yakni tidak ada pasangan sehingga ketiganya terlihat sebagai univalen pada bidang metafase 1; pasangan sebagai satu bivalen dan satu univalen, pasangan sebagai satu trivalen. Kendala inilah yang menyebabkan bahwa semua tanaman triploid itu steril (Suryo, 2007).

2.2 Sejarah Bahan Tanam

Tabel 1. Tahap penelitian temulawak Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya

Tahun	Kegiatan Penelitian	Outcome
2008-2009	<ol style="list-style-type: none"> 1. Koleksi dan evaluasi aksesori temulawak di Jawa Timur dan sebagian Jawa Tengah (PHB) 2. Uji molekuler 3. Uji faktor lingkungan terhadap kadar kurkumin dan hasil rimpang 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Dari 20 aksesori didapatkan 2 klon unggul: Sumenep (tinggi kurkumin) dan Jember tinggi hasil rimpang) 2. Sumenep dan Jember mempunyai perbedaan pola pita isoenzim 3. Unsur hara paling berpengaruh terhadap kadar kurkumin dan hasil rimpang
2016	Rekayasa peningkatan kromosom dengan induksi kolkisin, kombinasi BA dan 2,4-D pada klon temulawak UB	Didapatkan klon temulawak yang memiliki keunggulan morfologi dan hasil produksi yang dibandingkan dengan tanaman diploid

(Sumber: Nihayati *et al.*, 2016)

Rimpang klon temulawak yang digunakan merupakan klon unggul dibandingkan 20 klon dari lokasi sentra produksi. Terdapat 6 klon temulawak yang digunakan UB yakni UB1, UB2, UB3, UB4, UB5, dan BL. Klon temulawak UB1 berasal dari sumenep, klon UB2 berasal dari Jember, klon UB3 berasal dari pasuruan, klon UB4 berasal dari Batu, klon UB5 berasal dari Sragen dan klon BL1 berasal dari Balitro. Beberapa kriteria penilaian tanaman temulawak sebagai bahan tanam adalah berat rimpang pertanaman dan kadar kurkumin tanaman.

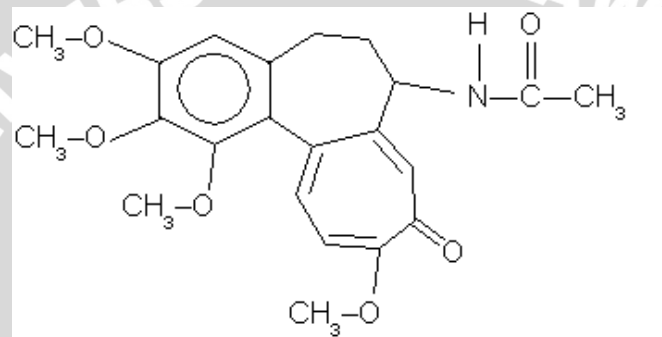
Masing-masing klon temulawak memiliki berat yang berbeda-beda. Klon UB1 memiliki berat rimpang pertanaman sebesar 549,9 gr, klon UB2 sebesar 1700,3 gr, klon UB3 sebesar 1387,15 gr, UB4 sebesar 702,17gr, UB5 sebesar 424,33 g dan BL1 564 g. Kadar kurkumin masing-masing klon tanaman temulawak juga berbeda-beda. Klon temulawak UB1 dan BL memiliki kadar kurkumin tertinggi (1,25% dan 1,75%) dibandingkan kadar kurkumin klon temulawak UB2 (0,59%), UB3 (0,79%), UB4 (0,96%), dan UB5 (0,12%) (Rahardjo *et al.*, 2007 dan Wardiyati *et al.*, 2010).

Tanaman pada umumnya memiliki jumlah kromosom $2n$, namun karena beberapa sebab ada pula tanaman yang memiliki jumlah kromosom haploid (n), triploid ($3X$) atau tetraploid ($4X$). Poliploidisasi merupakan suatu proses penggandaan jumlah set kromosom. Organisme yang dihasilkan akan mempunyai jumlah set kromosom berlipat (lebih dari $2X$). Secara umum upaya poliploidisasi dilakukan menggunakan cara fisik dan kimia (Chahal dan Ghosal, 2002). Hagerup (1932) menyatakan bahwa tanaman tetraploid dapat beradaptasi lebih baik pada lingkungan ekologi yang ekstrim dibandingkan dengan diploid. Secara kimia, poliploidisasi biasanya dilakukan dengan penambahan senyawa kimia tertentu yang menghambat pembentukan benang spindel saat pembelahan mitosis. Senyawa yang sering digunakan untuk menghambat saat mitosis dan sering digunakan sebagai agen penggandaan adalah *oryzalin*, *trifluralin*, *amiprofos-methyl*, dan gas. Senyawa kolkisina, *acenaphteen* dan *Indol Acetic Acid* sering pula dijadikan agen untuk kepentingan tersebut N_2O .

Tanaman yang bersifat poliploid umumnya memiliki ukuran morfologi yang lebih besar dibandingkan dengan tanaman diploid. Penelitian Dhawan dan Lavania (1996) menunjukkan adanya peningkatan metabolit sekunder 30-300% akibat perubahan poliploidi pada tanaman *Atropa belladonna*, *Acorus calamus*, *Camellia sinensis*, *Capsicum spesies*, *Chicona succiruba*, *Cympogon flexuosus*, *Datura innoxia*, *Hyocyamus niger*, *Menta spicata*, *Papaver sommiferum*, dan *Solanum khasianum*. Selain itu, Induksi poliploidi pada *Artemisia Annoa* mampu meningkatkan kadar artemisin di tetraploid, 38% lebih tinggi dari diploid pada seluruh periode vegetatif (Banyai *et al.*, 2010).

2.3 Kolkisin sebagai Mutagen

Salah satu cara untuk meningkatkan keragaman genetik dapat dilakukan melalui mutasi. Mutasi adalah perubahan dalam struktur gen yang terjadi secara spontan atau buatan dengan menggunakan agensia fisik atau kimia (Nasir, 2002). Salah satu senyawa yang sering digunakan sebagai mutagen adalah kolkisin. Kolkisin ($C_{22}H_{25}O_6N$) merupakan alkaloid yang diekstrak dari biji dan umbi tanaman *Colchicum aurumnale* Linn (Crowder, 2010). Kolkisin juga ditemukan pada tanaman *Merendra sp*, *Gloriosa superba*, *Veratrum album*, *Tulipa sylvestris*, dan lain-lain dengan bentuk, kadar dan keaktifan yang berbeda-beda (Eigsti dan Dustin, 1957).



Gambar 2. Rumus Bangun Kolkisin Murni (Eigsti and Dustin, 1957)

Kolkisin akan efektif apabila ditetaskan atau direndam pada saat sel membelah. Kolkisin akan diserap oleh sel dan mempengaruhi pembelahan sel yang sedang berlangsung. Perlakuan kolkisin dapat diaplikasikan dengan cara perendaman, pencelupan, penetesan, pengolesan, penyuntikan dan penyemprotan. Perlakuan dapat diberikan pada benih, akar kecambah, ujung batang planlet hasil biakan kultur jaringan dan bunga. Kolkisin dapat digunakan dalam bentuk larutan atau pasta yang dicampur dengan lanolin (Mindari, Tjondro, dan Bambang, 1998). Umumnya kolkisin akan bekerja efektif pada konsentrasi 0,01-1% untuk jangka waktu 6-72 jam, namun setiap jenis tanaman memiliki respon yang berbeda-beda (Eigsti dan Dustin, 1957; Suryo, 2007). Apabila kolkisin digunakan pada konsentrasi yang tepat maka jumlah kromosom akan meningkat, sehingga tanaman bersifat poliploid (Haryanti *et al.*, 2009)

Kepekaan terhadap perlakuan kolkisin amat berbeda diantara spesies tanaman. Oleh karena itu konsentrasi dan waktu perlakuan akan berbeda pula, bahkan untuk bagian tanaman yang berbeda akan lain pula dosis dan waktu

perendamannya (Poespodarsono, 1988). Kolkisin dapat mengganggu pembentukan serabut gelendong dan sitokenesis berikutnya, sehingga jumlah kromosom meningkat. Perlakuan kolkisin biasanya mengakibatkan perbedaan tingkat ploidi dalam jaringan batang, karena itu perlu membuat pemeriksaan sitologis dari mixoploid untuk mengidentifikasi tetraploid (Crowder, 2010).

Perendaman dalam kolkisin 0,25% selama 24 jam mengakibatkan penggandaan kromosom menjadi dua kali lipat (22 menjadi 44) dan memberikan hasil terbaik pada keragaman fenotip tanaman jahe emprit (Arlianti, 2006). Akan tetapi, perendaman kolkisin 0,25-0,50% selama 3-6 jam pada tanaman jahe putih besar berpengaruh nyata pada sifat panjang tanaman, jumlah tunas, lebar daun, panjang, lebar dan tebal rimpang (Ariyanto, 2009).

2.4 Pengaruh Aktivitas Kolkisin terhadap Sel Tanaman

2.4.1. Respon Pertumbuhan

Kolkisin merupakan senyawa kimia yang bersifat toksik yang pada konsentrasi yang tepat dapat mencegah terbentuknya benang-benang spindel. Konsentrasi kolkisin yang beragam dapat menyebabkan pengaruh yang beragam pula. Jika konsentrasi kolkisin yang diberikan tidak sesuai akan memberikan pengaruh yang berbeda pada pertumbuhan tanaman seperti jumlah daun, berat basah tunas, berat basah akar, berat kering tunas dan berat kering akar (Eigsti and Dustin, 1957). Sel-sel berukuran lebih besar menyebabkan pembelahan sel lebih lambat, sehingga pertumbuhan tanaman lebih lambat pula (Crowder, 2010).

2.4.2. Morfologi Tanaman

Variasi genetik pada tanaman dapat terjadi karena adanya persilangan-persilangan dan adanya mutasi maupun ploidisasi. Variasi pada beberapa tanaman dapat dinilai dari sifat kuantitatif dan kualitatif. Sifat kualitatif dapat dilihat dari tingkat produksi, jumlah anakan, panjang tanaman dan lainnya. Karakter morfologi merupakan satu indikator untuk melihat keberhasilan poliploidisasi. Perubahan pada gen atau kromosom yang mengalami mutasi. Pada sel-sel somatis, mutasi terjadi pada saat pembelahan mitosis. Bila perubahan tersebut terjadi pada suatu bagian tanaman, maka bagian tersebut akan memberikan kenampakan yang berlainan (Mangoendidjojo, 2003).

Menurut Wang dan Xu (1992), pada umumnya tanaman poliploidi tidak berbeda dengan tanaman diploidnya, hanya bentuk dan ukurannya yang berbeda. Hal ini dapat dilihat dari tinggi atau panjang tanaman, bentuk dan ukuran daun serta ukuran bunga. Hal tersebut disebabkan adanya penambahan substansi dan jumlah kromosom yang menyebabkan ukuran sel menjadi lebih besar. Daun pada tanaman poliploid cenderung lebih tebal dan lebih hijau dari pada daun pada tanaman diploidnya.

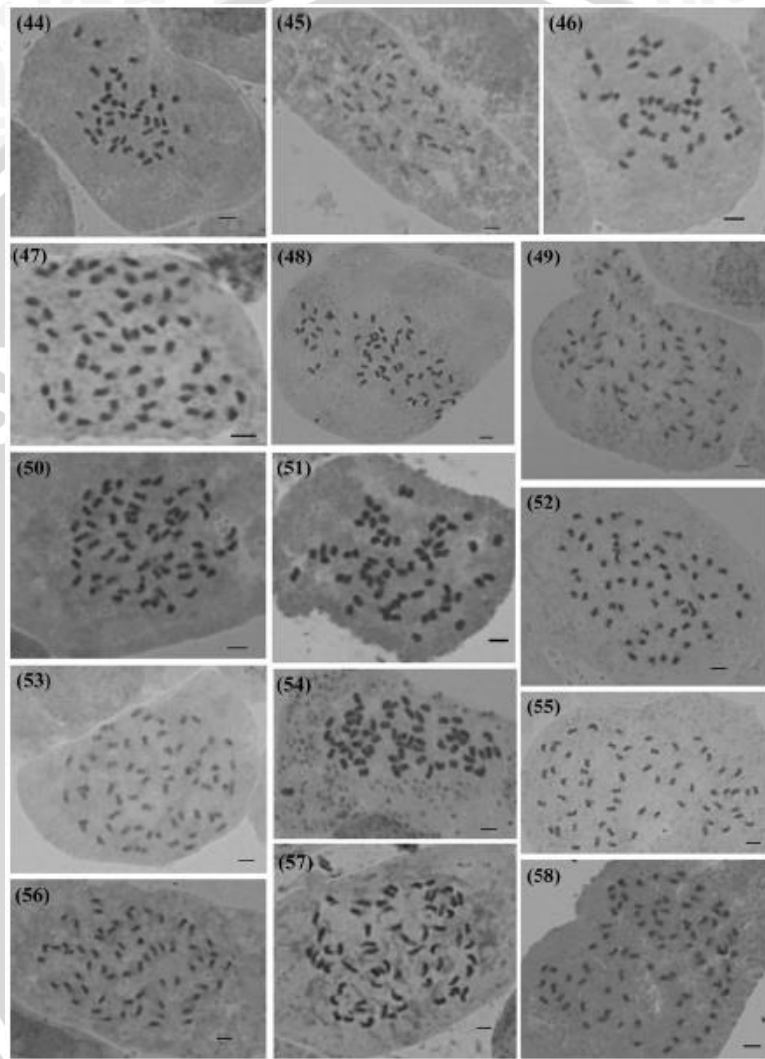
2.4.3. Jumlah Kromosom

Aktivitas kolkisin pada makhluk hidup dapat dipelajari dengan melakukan pengamatan pada jumlah kromosomnya, karena kolkisin merupakan suatu mutagen yang dapat menghambat proses mitosis. Di dalam setiap kromosom terdapat satu molekul DNA linear yang menentukan sifat yang diwarisi. DNA ini berkaitan dengan berbagai protein yang mempertahankan struktur kromosom dan membantu mengontrol aktivitas gen. Nukleus mengandung sebagian besar gen yang mengontrol sel. Jumlah kromosom yang bertambah akan mempengaruhi organel membran termasuk mitokondria dan kloroplas. Kedua organel ini memiliki fungsi untuk mengubah energi menjadi bentuk-bentuk yang dapat digunakan sel untuk bekerja. Organel ini tidak saja memiliki ribosom, tetapi juga mengandung DNA dalam jumlah sedikit. DNA inilah yang memprogram sintesis protein yang dibuat dalam ribosom yang dimiliki organel itu sendiri. Protein yang diambil dari sitosol yang menyusun sebagian besar protein organel (diprogram oleh DNA nukleus) (Suryo, 2007; Campbell, Reece, dan Mitchel, 2000).

2.5 Bentuk dan Struktur Kromosom

Ukuran kromosom merupakan salah satu kriteria untuk mengidentifikasi morfologi kromosom. Ukuran kromosom bervariasi dari satu spesies ke spesies lain dan berkisar 0,2–50 μm . Bentuk kromosom dapat dibedakan berdasarkan letak sentromer. Letak sentromer merupakan salah satu sifat morfologi kromosom yang penting dalam identifikasi kromosom. Kariotipe merupakan pengaturan kromosom secara berurutan dari ukuran terpanjang sampai terpendek. Pembuatan kariotipe dilakukan dengan memasang kromosom dengan kromosom homolognya. Pasangan kromosom homolog ditentukan berdasarkan kemiripan ukuran dan

kemiripan bentuk (rasio lengan kromosom). Susunan kariotipe dapat digunakan untuk mengetahui penyimpangan kromosom baik dalam jumlah dan struktur kromosom yang terjadi pada waktu pembelahan sel dan dapat dicari hubungannya dengan kelainan yang terdapat pada anatomi, morfologi dan fisiologi suatu makhluk hidup (Suryo, 2007). Kromosom pada beberapa genus *Curcuma* dapat dilihat pada gambar 3.



Gambar 3. Kromosom metafase mitosis *wan-chak-motluk* dari 16 provinsi di Thailand (44–46) *Curcuma comosa* ($2n = 42$), (47–51) *Curcuma comosa* ($2n = 63$), (52) *Curcuma comosa* ($2n = 64$), (53–55) *Curcuma elata* ($2n = 63$), (56 and 57) *Curcuma latifolia* ($2n = 63$), (58) *Curcuma latifolia* ($2n = 84$) (Soontornchainaksaeng dan Jenjittikul, 2010).

2.6 Pengamatan Kromosom

Pengamatan kromosom memerlukan waktu dan teknik yang tepat untuk mendapatkan hasil yang baik. Metode untuk pengamatan kromosom dapat

menggunakan teknik pewarnaan yang dikenal dengan metode *squashing*. Larutan pewarna dapat digunakan *aceto orcein*. Materi biologi yang digunakan untuk pengamatan kromosom pada tanaman adalah ujung akar dan ujung pucuk. Ujung akar merupakan bagian yang terbaik untuk pengamatan mitosis, karena akar tidak berklorofil dan mudah menyerap pewarna *aceto orcein*. Pada pengamatan mitosis untuk menghitung jumlah kromosom, waktu pemotongan akar merupakan faktor kritis yang sangat menentukan keberhasilan. Waktu pembelahan sel tiap tanaman berbeda-beda dan tidak konstan sepanjang hari. Beberapa spesies tanaman memerlukan suhu tertentu dan lama penyinaran yang berbeda, sehingga untuk mendapatkan waktu yang tepat diperlukan pengamatan yang berulang-ulang pada waktu yang berbeda. Keahlian dalam menguasai teknik pewarnaan mempengaruhi hasil pengamatan, diperlukan ketelitian dalam mengerjakan tahapan pewarnaan sehingga menghasilkan preparat amatan. Beberapa kasus kesalahan dan penyebabnya dalam pengamatan mitosis sel dicantumkan dalam Tabel 2 (Jurčák, 1999).

Tabel 2. Kesalahan yang Sering Terjadi Dalam Pengamatan Mitosis Sel dan Penyebabnya

Kesalahan	Penyebab
Inti terwarnai dengan jelas, tetapi tahapan mitosis tidak terlihat	Pemotongan material tanaman tidak pada waktu yang tepat.
Kromosom tidak jelas.	<ol style="list-style-type: none"> 1) Waktu fiksasi terlalu pendek. 2) Konsentrasi pewarna terlalu rendah. 3) pewarna yang digunakan sudah rusak atau terlalu lama disimpan. 4) Suhu selama pewarnaan terlalu rendah. 5) Waktu pewarnaan terlalu pendek .
Beberapa sel menumpuk satu sama lain.	<ol style="list-style-type: none"> 1) Waktu melunakan jaringan terlalu pendek. 2) Pembuatan larutan untuk maserasi tidak tepat. 3) Kurang tenaga ketika menekan gelas objek.
Sel meristem pecah, tahapan mitosis atau kromosom tidak dapat dilihat.	<ol style="list-style-type: none"> 1) Gelas penutup bergeser jauh ketika ditekan. 2) Gelas penutup ditekan terlalu keras atau berulang-ulang.

1.

