

IDENTIFIKASI PERUBAHAN FENOTIP PADI BERAS HITAM (*Oryza sativa* L.) var CEMPO IRENG HASIL PERLAKUAN KOLKISIN

Putu Shantiawan Prabawa¹, Jhon Hardy Purba¹

E-mail : putushantiawan@gmail.com

¹Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Panji Sakti
Jl. Bisma, No 22 Singaraja 81116, Bali, Indonesia

Abstract. *The use of colchicine chemical mutagens as ingredients to induce polyploidies in plants provides an opportunity for increased production of black rice, which until now has low productivity. This is related to the many benefits of black rice for health, thus causing increased consumer demand. It is hoped that the various doses of colchicine can increase gene doses, so plants have a better appearance and production. The purpose of this study was to identify phenotype changes in the genotype of black rice (*Oryza sativa* L.) var Cempo Ireng due to the treatment of various doses of colchicine. The study used a single plot design with four colchicine concentration treatments (0, 250, 500 and 750 ppm) on two black rice genotypes (Ungaran and Cempo Ireng). Data analysis used a significant independent t-test level of 5%. The results showed that the treatment of colchicine with a concentration of 750 ppm was effective in inducing mutations that caused phenotypic changes in most plant characters in both genotypes.*

Keywords: *Black rice, colchicine, phenotype changes, qualitative and quantitative characters.*

Abstrak. Penggunaan mutagen kimiawi kolkisin sebagai bahan untuk menginduksi poliploidi pada tanaman, memberikan peluang bagi peningkatan produksi beras hitam yang sampai saat ini produktivitasnya masih rendah. Hal ini berkaitan dengan banyaknya manfaat beras hitam untuk kesehatan, sehingga menyebabkan meningkatnya permintaan konsumen. Perlakuan berbagai dosis kolkisin diharapkan mampu meningkatkan dosis gen, sehingga tanaman memiliki penampilan dan produksi yang lebih baik. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi perubahan fenotip pada genotip padi beras hitam (*Oryza sativa* L.) var Cempo Ireng akibat perlakuan berbagai dosis kolkisin. Penelitian menggunakan desain petak tunggal dengan 4 perlakuan konsentrasi colchicine (0, 250, 500 dan 750 ppm) pada 2 genotipe padi beras hitam (Ungaran dan Cempo Ireng). Analisis data menggunakan independent t-test level signifikan 5%. Hasil penelitian menunjukkan perlakuan kolkisin dengan konsentrasi 750 ppm efektif dalam menginduksi mutasi sehingga menyebabkan perubahan fenotip pada sebagian besar karakter tanaman pada kedua genotip.

Kata kunci: *Beras hitam, kolkisin, perubahan fenotip, karakter kualitatif dan karakter kuantitatif.*

PENDAHULUAN

Kesadaran masyarakat yang kian meningkat terhadap kesehatan, berdampak pada semakin meningkatnya permintaan beras hitam sebagai sumber karbohidrat alternatif bagi penderita diabetes. Beras dengan pigmen warna memiliki indeks glikemik yang lebih rendah dibandingkan beras pada umumnya, salah satu faktornya ialah kandungan serat yang lebih tinggi sehingga baik untuk penderita diabetes (Larasati, 2013). Warna hitam tersebut menunjukkan terjadi akumulasi kandungan antosianin (Maeda et al., 2014) yang merupakan senyawa fenolik kelompok flavonoid yang berfungsi sebagai antioksidan. Peningkatan permintaan masyarakat berbanding terbalik terhadap produksi beras hitam. Hal ini disebabkan oleh varietas lokal padi beras hitam yang dibudi dayakan petani umumnya memiliki

produksi yang rendah dan umur panen yang lama.

Pemulia tanaman berupaya untuk mendapatkan komoditas padi beras hitam dengan produksi tinggi dan umur panen yang cepat, namun masih terkendala oleh lamanya waktu dan proses yang panjang jika melalui program pemuliaan konvensional. Pemuliaan secara non-konvensional menjadi alternatif karena lebih efisien waktu. Salah satu program pemuliaan non-konvensional yang banyak digunakan ialah pembentukan tanaman poliploidi menggunakan bahan kimia kolkisin. Manipulasi poliploidi dilakukan untuk mendapatkan organisme yang mempunyai lebih dari dua set kromosom (2n) untuk memperbaiki mutunya. Nura *et al* (2013) menyatakan banyaknya laporan keberhasilan penggunaan mutagen

kimiawi dalam meningkatkan sifat-sifat tanaman pada beberapa spesies.

Senyawa kolkisin dapat menghalangi terbentuknya benang-benang spindel pada fase anafase, sehingga terbentuk individu yang memiliki jumlah kromosom berlipat (lebih dari 2x) sehingga menjadi individu yang poliploid (Chahal dan Gosal, 2002). Peningkatan jumlah kromosom menyebabkan perubahan pada beberapa karakter (fenotip) tanaman, seperti ukuran organ yang lebih besar sehingga dapat meningkatkan produksi tanaman. Pembentukan poliploid pada tanaman padi sudah dilakukan sejak lama dan terus mengalami perkembangan. Ghosh telah melakukan penelitian pengaruh kolkisin pada tanaman padi pada tahun 1949, dengan melakukan perendaman pada kecambah padi pada larutan kolkisin dengan konsentrasi 0,05%, 0,1%, 0,5% dan 1% selama 2 jam. Hasil yang didapatkan adalah tidak ada kecambah yang dapat bertahan setelah diberi perlakuan 0,1% dan 1% kolkisin.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Pemuliaan Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya dan kelurahan Dadaprejo, kecamatan Junrejo, kota Batu. Penelitian telah dilaksanakan pada bulan September 2015 – Maret 2016. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain genotip lokal padi hitam varietas Cempo Ireng, bubuk kolkisin, DMSO (dimetil sulfoxide, $(CH_3)_2SO$), aquades (H_2O), plastik dan pasir. Aplikasi pupuk menggunakan pupuk kandang, pupuk Urea (45% N), SP-36 (36% P_2O_5) dan KCl (60% K_2O). Pengendalian hama dan penyakit menggunakan insektisida dan fungisida.

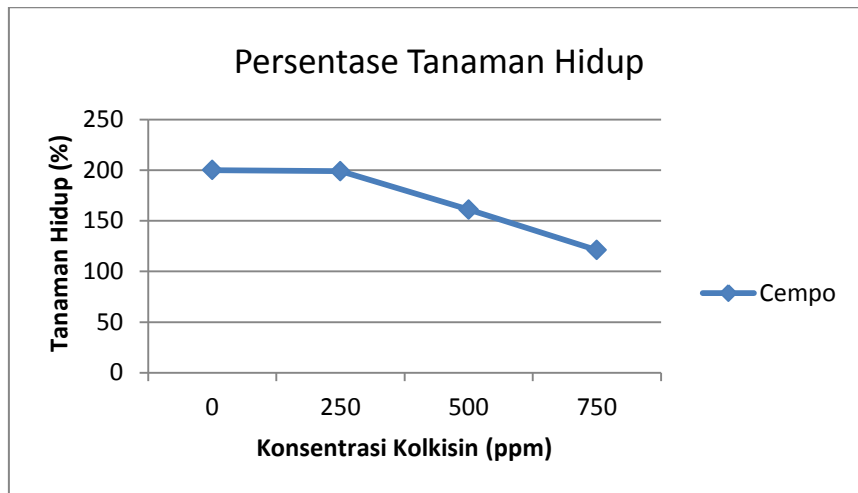
Perkecambahan benih padi dilakukan dengan cara merendam benih padi beras hitam var Cempo Ireng selama \pm 3 hari. Kecambah yang telah tumbuh selanjutnya direndam kolkisin dengan perlakuan konsentrasi kontrol (CI-K0), 250 ppm (CI-K250), 500 ppm (CI-

K500) dan 750 ppm (CI-K750). Perendaman dilakukan selama 6 jam pada masing-masing konsentrasi. Persemaian dilakukan pada bak semai dengan media pasir yang telah dicuci dengan air untuk membersihkan dari kotoran atau jamur yang dapat merusak bibit padi. Persemaian dilakukan selama 10 – 14 hari setelah perlakuan kolkisin. Setelah \pm 14 hari setelah semai, dilakukan transplanting pada lahan dengan jarak tanam 30 cm x 30 cm, dan jarak antar perlakuan 200 cm. Penelitian menggunakan Rancangan Petak Tunggal dengan menggunakan metode *single plant* yaitu pengamatan setiap individu tanaman di lahan. Data kualitatif dianalisis menggunakan statistika deskriptif, sedangkan data kuantitatif dianalisis menggunakan uji t-independent pada taraf kepercayaan 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakter Kualitatif

Pemberian senyawa kolkisin dapat mempengaruhi penampilan karakter tanaman. Pemberian kolkisin dengan dosis yang tepat dapat menyebabkan tanaman menjadi poliploid, namun jika pemberian konsentrasi terlalu tinggi ataupun waktu perendaman kolkisin terlalu lama dapat menyebabkan kerusakan pada sel tanaman hingga menyebabkan kematian tanaman. Hasil pengamatan persentase tanaman hidup pada genotip padi beras hitam var Cempo Ireng menunjukkan hasil yang bervariasi. Pada grafik terlihat semakin tinggi konsentrasi kolkisin persentase tanaman hidup akan semakin menurun, dengan kata lain antara peningkatan konsentrasi kolkisin dengan persentase tanaman hidup berbanding terbalik. Persentase tertinggi ditunjukkan pada perlakuan kontrol (CI-K0) dengan persentase 90,91%, diikuti oleh perlakuan CI-K250 dengan nilai 90,45%, CI-K500 dengan persentase 73,18% dan persentase terendah ditunjukkan oleh perlakuan CI-K750 dengan persentase kelangsungan hidup 55%.



Gambar 1. Persentase tanaman hidup pada genotip padi beras hitam var Cempo Ireng pada berbagai konsentrasi kolkisin.

Penurunan persentase tanaman hidup secara signifikan pada kecambah padi beras hitam yang diberi perlakuan kolkisin menunjukkan telah terjadinya reaksi induksi kolkisin. Reaksi tanaman ketika diinduksi kolkisin dalam dosis besar adalah terjadinya kerusakan pada sel tanaman yang menyebabkan tanaman menjadi kerdil bahkan mati. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Mensah *et al* (2007) pada tanaman wijen yang

menunjukkan terjadinya penurunan persentase perkecambahan sejalan dengan peningkatan pemberian konsentrasi kolkisin. Ajayi *et al* (2014) menyatakan perlakuan perendaman kolkisin dengan konsentrasi yang tinggi cenderung menurunkan persentase tanaman hidup dibandingkan dengan tanaman kontrol yang disebabkan oleh adanya kerusakan sel tanaman.

Tabel 1. Warna Kulit Ari Beras Genotip Kontrol dan Genotip dengan Perlakuan.

Perlakuan	Kode Warna	Warna
CI-K0	Pantone 19-3713 Tpx	Deep wall
CI-K250	Pantone 19-3713 Tpx	Deep wall
CI-K500	Pantone 19-3713 Tpx	Deep wall
CI-K750	Pantone 19-3713 Tpx	Deep wall

Pada karakter warna kulit ari beras, perlakuan kolkisin yang diberikan pada Cempo Ireng belum memberi pengaruh perubahan warna secara nyata. Hal ini terlihat dari warna kulit ari beras yang belum menunjukkan perubahan warna antara tanaman kontrol dengan tanaman perlakuan. Genotip Cempo Ireng, CI-K0 memiliki warna Deep Wall (Pantone 19-3713 Tpx), tipe warna yang sama juga ditunjukkan oleh perlakuan CI-K250, CI-K500 dan CI-K750. Malihah (2011) melaporkan hal yang sama pada penelitian kedelai hasil mutasi, dilaporkan terjadi

warna hipokotil, warna bunga, dan warna daun yang sama antara tanaman yang diinduksi kolkisin dengan tanaman kontrol. Warna yang tidak berubah pada kulit ari beras pada tanaman yang diinduksi kolkisin, dapat disebabkan karena warna kulit ari beras adalah karakter kualitatif yang dikendalikan oleh gen sederhana, sehingga pengaruh perlakuan kolkisin yang menyebabkan mutasi pada kromosom belum bisa mempengaruhinya, peran lingkungan juga kurang berpengaruh pada perubahan

karakter kualitatif (warna bulir) yang diamati (Poespodarsono, 1988).

Karakter Kuantitatif

Pengaruh induksi kolkisin terhadap karakter tinggi tanaman menunjukkan hasil yang berbeda nyata pada perlakuan CI-K250. Induksi kolkisin pada CI-K250 menunjukkan adanya penurunan nilai rerata tinggi tanaman. Pengaruh induksi kolkisin yang beragam terhadap karakter tinggi tanaman dilaporkan pada hasil

penelitian lainnya. Pandey (2008) dan Vanous (2011) menyatakan bahwa kolkisin mampu menghambat pertumbuhan tinggi tanaman yang diakibatkan oleh terjadinya kerusakan sel-sel tanaman ketika proses induksi. Perbedaan pengaruh yang terjadi setelah diinduksi kolkisin dapat disebabkan oleh berbagai faktor seperti tingkat konsentrasi, lama perendaman hingga kecepatan tanaman dalam menyerap senyawa kolkisin.



Gambar 2. Perbandingan warna kulit ari beras antara tanaman kontrol dengan tanaman perlakuan genotip Cempo Ireng.

Karakter jumlah daun per rumpun menunjukkan peningkatan nilai rerata pada CI-K500 dan CI-K750. Terjadinya penambahan jumlah daun ini dapat disebabkan oleh terjadinya penambahan genom tanaman dari diploid menjadi poliploid sebagai efek pemberian kolkisin (Wistiani, 2004). Pada karakter panjang malai CI-K500 dan CI-K750 juga

menunjukkan terjadinya peningkatan nilai rerata panjang malai. Menurut Ghosh (1949) perlakuan induksi kolkisin pada tanaman padi dapat menyebabkan malai padi dan daun bendera menjadi lebih besar dan panjang. Hal ini dapat disebabkan peningkatan ploidi tanaman dari diploid menjadi poliploid sehingga ukuran tanaman menjadi lebih kekar dan besar.

Tabel 2. Rerata Karakter Tanaman pada Padi Beras Hitam var Cempo Ireng

No	Characteristics	CI-K0	CI-K250	CI-K500	CI-K750
1	Tinggi tanaman (cm)	97,59	93,44**	96,82 ^{tn}	97,46 ^{tn}
2	Jumlah daun (lembar)	67	69 ^{ns}	93**	138**
3	Panjang malai (cm)	23,52	23,61 ^{ns}	23,79 ^{ns}	25,09**
4	Jumlah anakan	19	20 ^{ns}	27**	39**
5	Jumlah anakan produktif	19	19 ^{ns}	24**	33**
6	Persentase gabah isi (%)	60,68	61,90 ^{ns}	62,54*	65,11**
7	Bobot 100 biji (gram)	2,42	2,37**	2,58**	2,54**
8	Bobot total biji per tanaman (gram)	32,73	37,01**	51,92**	77,84**

Keterangan: (**)= sangat nyata, (*) = nyata, (tn) = tidak nyata, diuji dengan Uji T taraf 5% dengan kontrol sebagai pembanding.

Induksi kolkisin memberikan pengaruh nyata terhadap peningkatan jumlah anakan, pada perlakuan CI-K500 dan CI-K750. Terjadinya penambahan jumlah anakan juga diikuti oleh penambahan jumlah anakan produktif. Hal ini dikarenakan adanya keterkaitan antar kedua parameter ini. Ghosh (1949) menyebutkan terjadi peningkatan jumlah anakan yang signifikan pada tanaman padi yang direndam kolkisin 500 ppm selama 2 jam. Pengaruh kolkisin terhadap peningkatan jumlah anakan juga disebutkan pada tanaman gandum (Siddiqi dan Marwat, 1983). Penambahan jumlah anakan dapat disebabkan oleh meningkatnya jumlah akar pada tanaman padi setelah diberi perlakuan kolkisin, sehingga pertumbuhan tunas anakan semakin meningkat. Meningkatnya jumlah anakan maka kemungkinan peningkatan jumlah anakan produktif akan semakin besar.

Perlakuan kolkisin mampu meningkatkan persentase gabah isi pada tanaman yang diinduksi seperti yang ditunjukkan CI-K500 dan CI-K750. Peningkatan persentase gabah isi ini berkaitan dengan tingkat fertilitas polen. Perlakuan induksi poliploid dapat mempengaruhi tingkat fertilitas polen tanaman melalui beberapa mekanisme yaitu mekanisme heterosis, penambahan gen dan hilangnya *self incompatibility*

serta keuntungan dari reproduksi aseksual (Comai, 2005).

Bobot 100 biji dari tanaman padi hitam yang diinduksi kolkisin menunjukkan hasil beragam. Pada genotip Cempo Ireng perlakuan CI-K250 terjadi penurunan bobot 100 biji, sedangkan perlakuan CI-K500 dan CI-K750 terjadi peningkatan nilai rerata bobot 100 biji. Siddiqi dan Marwat (1983) melaporkan bahwa terjadi penurunan nilai bobot 100 biji pada tanaman gandum yang diberi perlakuan kolkisin. Kondisi ini terjadi karena perlakuan induksi kolkisin dapat mempengaruhi proses metabolisme dan reaksi enzim pada tanaman sehingga pengisian biji menjadi tidak optimal. Hasil berbeda didapat oleh Nura *et al* (2011) pada tanaman wijen yang menunjukkan terjadinya peningkatan bobot 1000 biji setelah diberi perlakuan kolkisin.

Pemberian kolkisin juga meningkatkan bobot total biji per tanaman pada semua perlakuan. Peningkatan rata-rata bobot total biji per tanaman yang paling tinggi ditunjukkan pada CI-K750 sebesar 77,84 g tanaman-1 (Tabel 1). Peningkatan bobot total biji per tanaman akibat pemberian kolkisin dengan dosis yang cukup tinggi juga dilaporkan pada tanaman kacang hijau. Aplikasi kolkisin sebesar 1000 ppm menghasilkan bobot total biji per tanaman pada kacang hijau yang lebih tinggi dibandingkan tanaman kontrolnya (Herman *et al.*, 2013).

Tabel 3. Data Umur Berbunga (50%) dan Umur Panen (50%)

Perlakuan	Umur Berbunga (hst)	Umur Panen (hst)
CI-K0	120	150
CI-K250	116	146
CI-K500	117	147
CI-K750	122	152

Karakter umur berbunga berhubungan erat dengan umur panen. Pada CI-K250 dan CI-K500 pengaruh kolkisin menyebabkan umur berbunga dan umur panen yang lebih cepat

dibandingkan kontrol namun tidak signifikan. Perbedaan umur berbunga dan umur panen antara kontrol dan perlakuan berkisar 2-3 hari. Hasil yang sama dilaporkan pada penelitian Roychowdhury

dan Jagatpati (2011) menunjukkan umur berbunga yang lebih cepat pada tanaman yang diberi perlakuan dibandingkan kontrolnya. Pengaruh yang berbeda ditunjukkan CI-K750 yang menunjukkan umur berbunga dan umur panen lebih lama dibandingkan dengan kontrol. Umur berbunga dan umur panen yang lebih lama akibat induksi kolkisin juga dilaporkan oleh Ajayi et.al., (2014) pada tanaman kacang tunggak. Hal ini dapat disebabkan akibat konsentrasi kolkisin yang tinggi sehingga merusak sel tanaman ketika mutasi, yang berakibat pertumbuhan tanaman menjadi lebih lambat, sehingga peralihan dari fase vegetatif ke generatif menjadi lebih lama. Secara umum, tanaman poliploid memiliki ciri yaitu waktu berbunga yang lebih lambat dan bervariasi (Dnyansagar, 1992).

SIMPULAN

Peningkatan konsentrasi induksi kolkisin dapat menurunkan persentase tanaman hidup pada padi beras hitam var Cempo Ireng. Tidak terjadi perubahan warna kulit ari beras (Deep Wall (Pantone 19-3713 Tpx) pada tanaman yang diberi perlakuan kolkisin. Induksi kolkisin dengan konsentrasi 250 ppm, 500 ppm dan 750 ppm menunjukkan efek perubahan fenotip secara spesifik pada beberapa karakter tanaman. Perlakuan CI-K250 menyebabkan penurunan karakter tinggi tanaman dan bobot 100 biji namun menyebabkan peningkatan pada karakter bobot total biji pertanaman. Perlakuan CI-K500 terjadi peningkatan hampir pada semua karakter tanaman terkecuali karakter tinggi tanaman dan panjang malai. Perlakuan CI-K750 efek kolkisin tidak tampak hanya pada karakter tinggi tanaman. Secara umum, induksi kolkisin belum berpengaruh signifikan pada perubahan umur berbunga dan umur panen yang berubahannya hanya 2-3 hari.

REFERENSI

Maeda, H., T, Yamaguchi., M, Omoteno., T, Takarada., K, Fujita., K, Murata.,

Y, Iyama., Y, Kojima., M, Morikawa., H, Ozaki., N, Mukaino., Y, Kidani., and T, Ebitani. 2014. Genetic Dissection of Black Grain Rice by The Development of a Near Isogenic Line. *Breed Sci.* 64: 134-141.

Chahal, G.S. and S.S. Gosal, 2002. Principles and Procedures of Plant Breeding Biotechnological and Conventional Approaches. Alpha Science International Ltd. Harrow, U.K, pp.413-428.

Ajayi, Abiola T., Akinlolu O. Ohunakin, Oluwatoyin S. Osekita, dan Opeyemi C. Oki. 2014. Influence of Colchicine Treatments on Character Expression and Yield Traits in Cowpea (*Vigna Unguiculata L. Walp*). *Global Journal of Science Frontier Research: C Biological Science.* Akungba-Akoko. (14):14-20.

Mensah, J.K., Obadoni B.O. Akomeah P.A., Ikhajiagbe B. dan Ajibolu J. 2007. The Effects of Sodium Azide and Colchicine Treatments on Morphological and Yield Traits of Sesame Seed (*Sesame indicum L.*). *African Journal of Biotechnology.* Edo State dan Abuja. 6(5):535-538.

Vanous, A.E. 2011. Optimization of Doubled Haploid Production in Maize (*Zea mays L.*) Iowa State University. 30 pp.

Pandey, Ram Milan. 2009. Genetic Divergence of Parents and F2 Segregation in Grain Amaranthus. *Cien. Inv. Agr.* 36(1) : 77-84.

Luitel, B. P. dan W. H. Kang. 2012. In-Vivo Chromosome Doubling with Colchicine in Haploid Plants of Minipaprika (*Capsicum annum L.*). *Journal of Agricultural, Life and Environmental Sciences.* 24(3):1-8.

Rustikawati., C.Herison, dan H. Sutjahjo. 2010. Keragaan Pertumbuhan Vegetatif dan Reproduksi Hibrida Jagung Persilangan Galur Inbrida

- Mutan (M4) pada Latosol Darmaga. *JIPI*. 12 (1):55-60.
- Ghosh, B., N. 1949. Physiological Studies On The Effect Of Colchicine On Rice II. Department Of Botany. Calcutta University. 3(16):135-145.
- Siddiqi, Saeedul H. dan Khan Bahadar M. 1983. Cytomorphological Effects of Colchicine on Wheat (*Triticum aestivum*). Pakistan J. Agric. Agricultural University Peshawar. 2(4): 120–125.
- Comai, L. 2005. The Advantages and Disadvantages of Being Polyploid. Nature Publishing Group. 6 : 837-846
- Nura, S., A.K. Adamu, S. Mu' Azu, D.B. Dangora dan L.D. Fagwalawa. 2013. Morphological Characterization of Colchicine-induced Mutants in Sesame (*Sesamum indicum* L.). Journal of Biological Sciences. Nigeria.13(4): 277-282.
- Herman., I. N. Malau, dan D.I. Roslim. 2013. Pengaruh Mutagen Kolkisin Pada Biji Kacang Hijau (*Vigna radiata* L.) Terhadap Jumlah Kromosom dan Pertumbuhan. Prosiding Semnas BioETI. 12 pp.
- Suminah., Sutarno., dan A. D. Setyawan. 2002. Induksi Poliploidi Bawang Merah (*Allium ascalonicum* L.) dengan Pemberian Kolkisin. BIODIVERSITAS 3(1): 174-180.
- Wistiani, Jami Luh Ayu. 2014. Induksi Mutasi Kromosom Dengan Kolkisin Pada Tanaman Kesuna Bali (*Allium sativum* Linn.) Dan Analisis DNA Dengan Marka RAPD. Program Pascasarjana. Universitas Udayana. (Tesis). 108 pp.
- Pathirana, R., L.A. Weerasena and P. Bandara. 2000. Development and Release of Gamma Ray Induced Sesame Mutants in Sri Lanka. Trop. Agric. Res. Ext. 3: 19-24.