

Indeks Mitosis dan Jumlah Kromosom Kentang Hitam (*Coleus tuberosus*)

*Mitotic Index and The number of Black Potato (*Coleus tuberosus*) Chromosomes*

Wiwit Probowati^{1*)}, Alifiani Hikmah Putranti²

¹⁾ Program Studi Bioteknologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas 'Aisyiyah

²⁾ Mahasiswa Program Studi Bioteknologi, Universitas 'Aisyiyah

Jl. Siliwangi No.63 Nogotirto,Gamping, Sleman, Daerah Istimewa Yogyakarta 55592

^{*)} Penulis untuk korespondensi E-mail: wiwitprobo@unisayogya.ac.id

ABSTRACT

*Black potatoes (*Coleus tuberosus*) or widely known as “kleci potatoes” are the rarer types of potatoes than other types of potatoes. Black potato plant originating from Java has relatively small tubers and black tuber flesh. The minimum consumption of black potatoes as a source of non-rice carbohydrates is in line with the decrease of research and development of these commodities. Solanaceae has the largest morphological variation and the number of chromosomes. The purpose of this study was to determine the time of active mitosis and the number of black potato chromosomes. The studies would add to the database of gene bank. Research conducted from May 2019 to December 2019 at the Integrated Laboratory Universitas Aisyiyah Yogyakarta. The plant material used was root tip of black potato which is prepared by its chromosome using the squashing method. Preparation of chromosomes starts from 06.00 am to 13.00 pm. The results showed that mitosis clock of black potato ranged between 07.00 to 11.00 am, while prophase was found at 07.30 am. The number of diploid chromosomes (2n) black potatoes is 32 chromosomes.*

*Keywords: Black potatoes, *Coleus tuberosus*, chromosome amount, mitosis clock*

INTISARI

Kentang hitam (*Coleus tuberosus*) merupakan jenis kentang yang paling langka dari jenis kentang lainnya. Tanaman kentang hitam yang berasal dari Afrika Barat ini memiliki umbi yang tergolong kecil dan daging umbi berwarna hitam. Kurang optimalnya pemanfaatan kentang hitam sebagai sumber karbohidrat non beras sejalan dengan berkurangnya penelitian dan pengembangan komoditas tersebut. Pemanfaatan kentang hitam sebagai sumber karbohidrat masih sangat kurang sehingga ketertarikan riset dan pengembangan komoditas kentang hitam juga rendah. Tanaman Solanaceae merupakan tanaman yang memiliki variasi morfologi dan jumlah kromosom terbesar. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui waktu mitosis aktif dan jumlah kromosom kentang hitam. Sehingga hal ini akan menambah data base bank genetik. Penelitian dilakukan pada bulan Mei 2019 hingga Desember 2019 di Laboratorium Terpadu, Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta. Bahan tanaman yang digunakan adalah ujung akar kentang hitam yang dipreparasi kromosomnya menggunakan metode squashing. Preparasi

kromosom dimulai dari pukul 06.00 WIB sampai pukul 13.00 WIB dengan interval waktu preparasi kromosom setiap 30 menit dengan 3 ulangan. Hasil penelitian didapatkan bahwa waktu mitosis kentang hitam (*Coleus tuberosus*) berkisar antara pukul 07.00-11.00 WIB, sedangkan fase prometafase ditemukan pada pukul 07.30 WIB. Jumlah kromosom diploid ($2n$) kentang hitam adalah 32 kromosom.

Kata kunci: *Coleus tuberosus*, jumlah kromosom, kentang hitam, waktu mitosis,

PENDAHULUAN

Tanaman kentang hitam (*Coleus tuberosus*) di masyarakat Jawa Tengah lebih dikenal dengan istilah kentang hitam atau kentang kleci. Kentang Hitam berasal dari Afrika Barat. Kemudian dikultivasi di berbagai macam bagian dari Afrika Barat, Asia Selatan dan Asia Tenggara karena umbinya apat dikonsumsi. Varietas liar ditemukan di padang rumput Afrika Timur. Di Asia Tenggara, tanaman ini tumbuh di Sri Lanka, Malaysia, dan Indonesia yang tersebar luas di Pulau Jawa (Prematilake, 2005). Bagian tanaman yang banyak dimanfaatkan adalah umbi. Biasanya masyarakat memanfaatkannya sebagai bahan tambahan dalam sayuran atau yang lebih sering disajikan dalam bentuk rebusan sebagai hidangan ringan (Rinanto, 2014).

Kentang hitam masuk dalam keluarga Kentang (Solanaceae) dan bermarga *Coleus*. Jenis *Coleus tuberosus* Bth. Non Rich, *C. rugosus* Benth, *C. pallidiflorus* A. Chev., *C. parviflorus* Benth. Kentang hitam merupakan jenis kentang yang paling langka dari jenis kentang lainnya. Tanaman kentang hitam yang dibudidayakan di Jawa ini diduga sebagai *Coleus tuberosus* Bth. Non Rich. (Passarge, 2001). Berdasarkan kemiripan kenampakan fenotipnya, tanaman ini mudah dibedakan dengan anggota famili Solanaceae lain seperti kentang atau terong, karena ukuran umbi kentang hitam tergolong kecil dan daging umbi berwarna hitam. Kentang hitam sering dijadikan masakan lodeh atau sayur bersantan. Kurang optimalnya pemanfaatan sumber karbohidrat non beras seperti kentang hitam sejalan dengan berkurangnya penelitian dan pengembangan komoditas tersebut. Menurut Suryo (2007) Potensi genetik yang dimiliki suatu tanaman dapat ditingkatkan dengan pemuliaan tanaman.

Tanaman Solanaceae merupakan tanaman yang memiliki variasi morfologi dan jumlah kromosom terbesar yaitu $2n=21-84$ (Nkansah, 2004). Jumlah kromosom kentang hitam sangat bervariasi karena kentang hitam (*Coleus tuberosus*) merupakan marga yang dapat bersifat poliploid maupun aneuploid. Dengan membandingkan jumlah kromosom antar tanaman kentang yang telah diteliti dan beberapa anggota famili Solanaceae lain maka akan didapatkan informasi mengenai keanekaragaman jumlah

kromosom famili Solanaceae tersebut. Sehingga hal ini akan menambah *data base* mengenai klasifikasi pengelompokan kentang hitam di Indonesia.

Salah satu parameter yang dapat digunakan dalam menganalisis kromosom dapat dilihat dari Indeks Mitosis (IM). Kromosom dapat terlihat ketika sedang mengalami mitosis atau pembelahan sel. Tahapan pembelahan sel memiliki waktu yang berbeda-beda. Waktu optimum mitosis berkaitan dengan waktu pengambilan sampel, sehingga untuk mengetahui waktu optimum pembelahan sel yang tepat diperlukan pengamatan yang berulang-ulang pada waktu pengambilan sampel yang berbeda (Abidin, 2014).

Menurut Anggarwulan dkk (1999), waktu optimum pembelahan mitosis *Allium* sp. pada pagi hari sekitar jam 08.00-13.00 WIB dikarenakan pada pagi hari sel-selnya berada pada kondisi aktif. Penelitian Abidin (2014) menunjukkan aktivitas mitosis yang paling aktif pada marga *Allium* bervariasi, *A. sativum* dan *A. fistulosum* terjadi pada pagi hari yaitu pada jam 09.00 WIB dan 06.00 WIB sedangkan *A. cepa* pada siang hari jam 12.00 WIB. Penelitian Willie & Aikpokpodion (2015) menunjukkan periode aktivitas pembelahan mitosis *Vigna unguiculata* paling aktif pada pukul 07.00-14.00 dan puncaknya pada pukul 11.00-13.00. Penelitian Osuji & Sweet (2010) menunjukkan periode waktu pembelahan mitosis yang paling aktif pada akar *Treculia africana* yaitu antara pukul 14.00-18.00, persentase tertinggi pada pukul 16.00.

Setiap jenis tumbuhan memiliki waktu pembelahan sel yang berbeda-beda dan setiap tumbuhan memiliki jam biologis yang mengatur waktu optimum pembelahan mitosis (Muhlisyah dkk., 2014; Willie & Aikpokpodion, 2015). Banyak sel yang membelah dapat dipengaruhi oleh faktor waktu pengambilan sampel (Etikawati & Setyawan, 2000). Penentuan Indeks Mitosis (IM) dan waktu pengambilan sampel sangat diperlukan karena pada tahap ini karakter-karakter kromosom dapat diamati dengan jelas dan mudah dihitung sehingga dapat dilakukan studi kromosom. Dalam penelitian ini, IM *Coleus tuberosus* dihitung dari pucuk akar yang disampling pada waktu yang berbeda.

Pada penelitian ini dilakukan pengamatan sitologi berupa siklus sel mitosis untuk mengetahui indeks mitosis dan penghitungan jumlah kromosom kentang hitam pada fase prometafase. Pengamatan indeks mitosis dilakukan pada pagi hari sampai siang hari untuk mengetahui rentang indeks mitosis. Fase dalam mitosis diamati dan diidentifikasi fase mitosisnya.

BAHAN DAN METODE

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah kentang hitam didapatkan dari petani di daerah Turi, Sleman Yogyakarta. Bahan yang digunakan antara lain; asam asetat, Asam klorida, aquadest, Orcrein sintetis, ekstrak buah naga, Gliserin, Minyak lmersi, cat kuku (cutex) berwarna bening. alat-alat sebagai berikut : cawan petri, kapas, kertas tissue, penggaris, silet, pisau, kuas, botol flakon, oven, lemari pendingin, gelas benda, gelas penutup, kertas label, bolpoint, pensil dan kotak preparat (untuk menyimpan preparat kromosom). Sedangkan alat-alat yang digunakan pada pengamatan fenotip adalah penggaris dan kamera digital. Selain itu untuk mengamati preparat, dan pembuatan foto preparat, digunakan alat antara lain : mikroskop cahaya, mikrofotografi dengan kamera rol film, dan micrometer.

Preparasi kromosom kentang dilakukan dengan metode pencet (*Squash*) (Jahier *et al.*, 1996). Dalam pembuatan preparat kromosom digunakan sel meristematis yang didapatkan dari ujung primordia akar. Untuk menumbuhkan ujung akar, kentang dicuci terlebih dahulu sampai bersih dan direndam (diimbibisi) dengan menggunakan aquadest. Media pertumbuhan adalah cawan petri yang diberi air. Umbi kentang yang sudah dipilih kemudian ditaruh dalam media pertumbuhan tersebut. Agar ujung akar tumbuh, maka setiap hari kapas selalu ditetesi dengan aquadest. Setelah 1 hari dan akar telah tumbuh, bagian ujung akar dipotong sekitar 0,5 cm. Pemotongan ini dilakukan dengan silet yang tajam pada pukul 06.00-13.00 WIB yang merupakan jam pembelahan aktif sel-sel akar kentang.

a. Fiksasi

Cuplikan ujung akar tersebut kemudian difiksasi dengan larutan asam asetat 45 % (45 ml asam asetat glasial dalam 55 ml aquadest) selama 15 menit pada suhu 4 °C. Setelah itu larutan asam asetat 45 % dibuang dan cuplikan ujung akar dicuci dengan aquadest sebanyak 3 kali. Pencucian dengan aquadest ini bertujuan untuk menghilangkan pengaruh perlakuan sebelumnya dan mengembalikan bahan pada suhu kamar. Kromosom yang terfiksasi akan mengalami kondensasi yaitu mengerut, mengeras dan mengendap sehingga tetap berada pada posisi semula ketika masih hidup (Robinson, 2003).

b. Hidrolisa (maserasi)

Cuplikan ujung akar tersebut kemudian dimaserasi dengan menggunakan asam klorida 1 N (5 ml HCl pekat dalam 55 ml aquadest) dan dipanaskan di dalam oven pada suhu 55-56 °C selama 4-6 menit. Selanjutnya cuplikan ujung akar tersebut dicuci dengan aquadest sebanyak 3 kali. Maserasi ini bertujuan untuk melisiskan lamela tengah sel-sel

meristematis pada ujung akar. Sehingga cuplikan akar mudah hancur dan sel-sel menyebar pada saat melakukan pemencetan (*Squashing*).

c. Pewarnaan

Cuplikan ujung akar yang telah dimaserasi tersebut kemudian diwarnai dengan cara direndam dalam aceto-orcein 1% (1 gram orcein dalam 100 ml asam asetat 45%) selama 24 dan 48 jam pada suhu kamar.

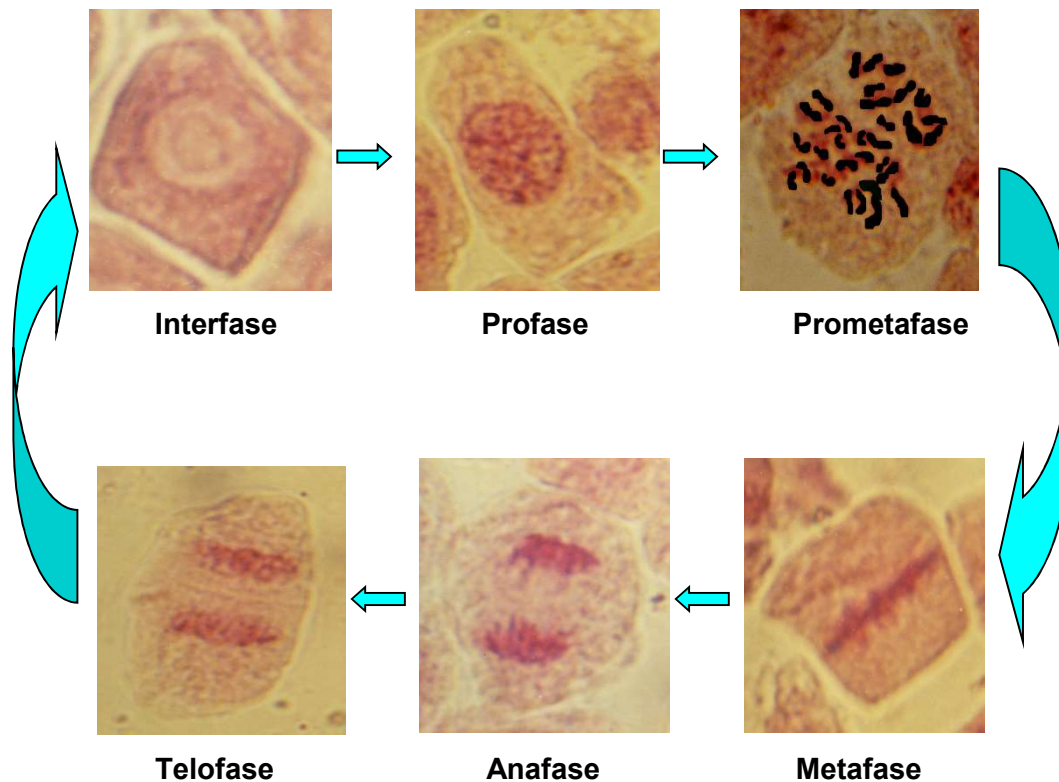
d. Pemencetan (*Squashing*)

Setelah terwarnai ujung-ujung akar diletakkan pada gelas preparat dengan menggunakan kuas. Bagian ujung akar yang tampak paling gelap dipotong dengan menggunakan silet sepanjang 1 mm dan dibersihkan dengan kertas tissue dari sisa aceto-orcein. Sedangkan sisa bagian yang lain dibuang. Kemudian akar tersebut ditetesi gliserin dan ditutup dengan gelas penutup. Ujung akar kemudian dipencet dan ditekan pelan-pelan menggunakan ujung kuku atau ujung kuas hingga sel-sel nampak menyebar dengan baik dan tidak saling tumpang tindih. Untuk memastikan sel menyebar, preparat diamati menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran rendah. Setelah diketahui preparat baik kemudian bagian tepi gelas penutup dibersihkan dengan menggunakan kertas tissue dan disegel dengan menggunakan cat kuku berwarna bening (*cutex*). Preparat diberi label dan dimasukkan ke dalam kotak preparat.

Pengamatan siklus sel dilakukan di Laboratorium Terpadu Universitas Aisyiyah Yogyakarta (UNISA) dengan mikroskop cahaya. Untuk dapat menghitung jumlah kromosom, dicari sel dalam keadaan prometafase karena pada fase tersebut kromosom utuh, tersebar, dan tampak sebidang. Setelah siklus sel dan prometafase diperoleh, preparat tersebut difoto dengan kamera dari mikroskop mikrofotografi pada perbesaran 10 x 100. Untuk memperjelas preparat digunakan minyak imersi yang berfungsi menaikkan indeks bias. Pengamatan dilakukan Laboratorium Terpadu UNISA, Yogyakarta. Selanjutnya rol film berisi foto preparat tersebut discan dan disimpan dalam format gambar JPEG. Kemudian kromosom dihitung jumlahnya. Pengambilan sampel ujung akar dilakukan dari pukul 06.00 pagi sampai pukul 13.00 WIB dengan jeda setiap interval waktu 30 menit sekali sampel diambil.

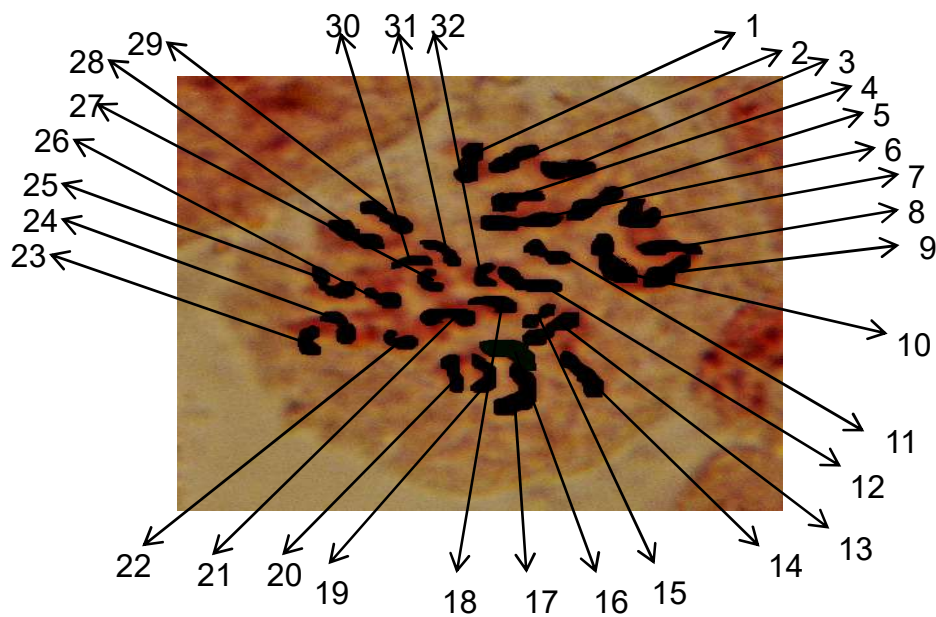
HASIL DAN PEMBAHASAN

Preparasi kromosom yang dilakukan dari pukul 06.00-13.00 WIB menghasilkan preparat sel yang dapat diamati. Berdasarkan hasil preparasi pada rentang waktu tersebut diperoleh siklus sel yang teramati pada gambar 1 sebagai berikut:



Gambar 1. Siklus sel kentang hitam (*Coleus tuberosus*).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa prometafase kentang hitam ditemukan pada pukul 07.30 WIB. Berdasarkan pengamatan dan perhitungan, maka diketahui jumlah kromosom diploid ($2n$) kentang hitam adalah 32 kromosom (Gambar 2). Berdasarkan penelitian Nkansah (2004), tanaman Solanaceae merupakan tanaman yang memiliki variasi morfologi dan jumlah kromosom terbesar yaitu $2n=21-84$. Sementara untuk kentang *Solanum tuberosum* memiliki jumlah kromosom 42 ($2n$). Data mengenai jumlah kromosom kentang hitam belum banyak diketahui.



Gambar 2. Prometafase pada kentang hitam yang memperlihatkan jumlah kromosom diploid ($2n$)= 32.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, diperoleh hasil berupa gambar-gambar siklus sel. Siklus sel terdiri atas stadium interfase dan mitosis. Pada gambar 1 dapat terlihat bahwa sel sedang mengalami interfase. Pada fase ini dapat terlihat nukleus yang membesar dan pada bagian tengah nukleus terlihat jernih. Pada profase, kromosom tampak terpulas lebih gelap dan berbentuk benang-benang memanjang sehingga tampak lebih gelap. Selanjutnya pada prometafase kromosom tampak menyebar dengan baik dan terlihat sebidang. Pada fase prometafase ini karakteristik kromosom mudah untuk diamati karena kromosom terlihat menyebar dan tidak saling tumpang tindih. Pada fase metafase kromosom tampak berjajar pada pelat metafase yaitu bidang ekuator imajiner dari kutub spindle. Selanjutnya pada anafase, 2 *sister chromatids* tampak bergerak berlawanan menuju ke arah kutub spindle. Fase pembelahan terakhir yaitu telofase. Pada fase ini kedua kelompok kromosom terlihat berada pada masing-masing kutub dan pada bagian tengah sel tampak *cell plate* yang merupakan awal dari pembelahan sitoplasma pada sel tumbuhan sehingga akan terbentuk 2 sel anakan (Anderson, 2012).

Tahap-tahap pembelahan sel (mitosis) ini banyak ditemukan antara pukul 07.00-11.00 WIB. Namun pada waktu yang sama banyak ditemukan juga adanya interfase. Hal ini dikarenakan interfase merupakan fase istirahat sel yang memerlukan waktu paling banyak dari keseluruhan waktu berlangsungnya siklus sel, sedangkan mitosis

hanya berlangsung 0,5-2 jam yang merupakan periode terpendek dalam siklus sel (Crowder, 1997). Interfase dan mitosis tidak terjadi secara bersama-sama pada sel-sel yang menyusun makhluk hidup, artinya pada waktu tertentu ada sel yang sedang mengalami interfase dan bersamaan dengan itu ada pula yang sedang mengalami mitosis. Namun berdasarkan pengamatan preparat siklus sel pada pukul 07.00-11.00 WIB sel-sel yang mengalami mitosis lebih banyak daripada yang mengalami interfase.

Pada penelitian yang telah dilakukan pada pukul 06.00-13.00 WIB tahap mitosis paling banyak dijumpai pada pukul 07.00-11.00 WIB. Preparasi kromosom dilakukan setiap 30 menit dengan pengulangan 3 kali pemotongan ujung akar. Apabila terdapat 3 preparat setiap jamnya maka antara pukul 06.00-13.00 WIB terdapat 45 preparat yang diamati. Dari 24 preparat dilakukan pengamatan dan ditemukan siklus sel aktif mulai pukul 07.00-11.00 WIB. Pada rentang waktu tersebut ditemukan siklus sel lengkap mulai dari interfase, profase, metafase, anafase dan telofase. Pada preparat ditemukan adanya sel-sel yang mengalami prometafase yaitu pada pukul 07.30 WIB. Berdasarkan hasil penelitian dari sel yang mengalami prometafase, maka dapat dihitung jumlah kromosom diploid ($2n$) kentang hitam yaitu 32. Namun Pada penelitian yang telah dilakukan sebelumnya oleh Leksonowati dan Witjaksono (2011), diketahui bahwa jumlah kromosom diploid ($2n$) marga *Solanum* antara lain spesies *Solanum tuberosum* L. adalah 42, dan *Solenostemon retundifolius* (Poir.) J.K. Morton berjumlah 24. Sementara itu penelitian Barchia *et al.* (2015), menyatakan bahwa *Plectranthus rotundifolius* memiliki jumlah kromosom diploid ($2n$) adalah 63 kromosom.

KESIMPULAN

Preparasi kromosom kentang hitam (*Coleus tuberosus*) didapatkan waktu mitosis aktif berkisar antara pukul 07.00-11.00 WIB, sedangkan fase prometafase ditemukan pada pukul 07.30 WIB. Jumlah kromosom diploid ($2n$) tanaman kentang hitam adalah 32.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat (LPPM) Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta atas dukungan dana penelitian melalui hibah internal grant.

DAFTAR PUSTAKA

- Abidin, A.A. 2014. Studi indeks mitosis bawang untuk pembuatan media pembelajaran preparat mitosis. *BioEdu*, 3(3), 572-579.
- Anderson, N.O. 2012. *Flower Breeding and Genetics*. California: Springer.
- Anggarwulan, E., Etikawati, N., & Setyawan, A.D. 1999. Karyotipe kromosom pada tanaman bawang budidaya (Genus *Allium*; Familia Amaryllidaceae). *BioSMART*, 1(2), 13-19.
- Barchia, M.F., Silalahi, N., & Sani, A. 2015. Performances of *Coleus tuberosum* on An Acid Mineral Soil in Bengkulu. *International Seminar on Promoting Local Resources for Food and Health*. 12-13 October Bengkulu Indonesia.
- Crowder, L.V. 1997. *Genetika Tumbuhan*. Gadjahmada University Press. Yogyakarta. Hal : 5-9.
- Etikawati, N., & Setyawan, A.D. 2000. Studi sitotaksonomi genus *Zingiber*. *Biodiversitas*, 1(1), 8-13.
- Jahier, J., A.M. Cherve, F. Ebes, R. Delourne & S.A.M. Tonguy. 1996. *Technique of Plant Cyto genetics*. Science Publisher, Inc. New Hampshire, USA. p : 3-5
- Leksonowati, A dan Witjaksono. 2011. Morfogenesis pada Daun, Tangkai Daun, dan Ruas Batang Kentang Hitam (*Solenostemon rotundifolius* (Poir) J. K. Morton) Secara In Vitro. *Berkala Penelitian Hayati* 16 (2): 161-167. Pusat Penelitian Biologi-LIPI.
- Muhlisyah, M., Muthiadin, C., Wahidah, B.F., & Aziz, I.R. 2014. Preparasi kromosom fase mitosis markisa ungu (*Passiflora edulis*) varietas edulis Sulawesi Selatan. *Biogenesis*, 2(1), 48-55.
- Nkansah, G.O. 2004. *Solenostemon rotundifolius* (Poir.) J.K. Morton. In: GJH Grubben and OA Denton (Eds.). PROTA (Plant Resources of Tropical Africa). Wageningen. Netherlands.
- Osuji, J.O., & Sweet, O. 2010. Mitotic index studies on *Treculia Africana* Decne in Nigeria. *Australian Journal of Agricultural Engineering*, 1(1), 25-28.
- Passarge, E. 2001. *Color atlas of genetics 2nd edition*. Thieme Stuttgart. New York. p : 114-115
- Prematilake D. P. 2005. Inducing Genetic Variation of *Innala* (*Solanostemon rotundifolius*) Via In Vitro Callus Culture. *J Natn Sci Foundation Sri Lanka*. Vol 33: 123-131.
- Rinanto, Y. 2014. Prospek Budidaya Kentang hitam (*Coleus tuberosus*) di Lahan Kekeringan. Seminar Nasional XI Pendidikan Biologi FKIP UNS.
- Robinson, R. 2003. *Genetics Volume 1 A-D*. Thomson and Gale, Macmillan Refrence. USA. p : 103-135.
- Suryo. 2007. *Sitogenetika*. Yogyakarta. Gadjah Mada University Press.

Willie, P.O. & P.O. Aikpokpodion. 2015. Mitotic activity in Cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) land race "Olaudi" walp) in Nigeria. *American Journal of Plant Sciences* 6: 1201-1205.