



UNIVERSITAS INDONESIA

**ANALISIS JUMLAH KROMOSOM *Taraxacum officinale* Weber
ex F. H. Wigg HASIL REGENERASI *IN VITRO***

SKRIPSI

**INDAH LESTARI
0606069855**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
DEPARTEMEN BIOLOGI
DEPOK
JUNI 2012**



UNIVERSITAS INDONESIA

**ANALISIS JUMLAH KROMOSOM *Taraxacum officinale* Weber
ex F. H. Wigg HASIL REGENERASI *IN VITRO***

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memenuhi gelar Sarjana Sains

**INDAH LESTARI
0606069855**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
DEPARTEMEN BIOLOGI
DEPOK
JUNI 2012**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

**Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri,
dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk
telah saya nyatakan dengan benar.**

Nama : Indah Lestari

NPM : 0606069855

Tanda Tangan : 

Tanggal : 28 Juni 2012

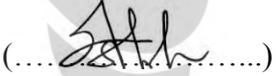
HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh

Nama : Indah Lestari
NPM : 0606069855
Program Studi : Biologi-S1 Reguler
Judul Skripsi : Analisis Jumlah Kromosom *Taraxacum officinale*
Weber ex F. H. Wigg Hasil Regenerasi *In Vitro*

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Sains pada Program Studi S1 Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia.

DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Dr. Tri Muji Ermayanti (.....)
Pembimbing II : Dr. Andi Salamah (.....)
Penguji I : Dra. Lestari Rahayu K, M. Sc. (.....)
Penguji II : Mega Atria, M. Si. (.....)

Ditetapkan di : Depok
Tanggal : 28 Juni 2012

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT, Rabb semesta alam, atas segala berkah, rahmat dan kasih sayang-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi ini. Salawat dan salam penulis haturkan kepada tauladan terbaik sepanjang zaman, Muhammad SAW. Penulis menyadari bahwa tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, sangatlah sulit bagi penulis untuk menyelesaikan skripsi ini. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dr. Tri Muji Ermayanti selaku pembimbing I dan Dr. Andi Salamah selaku pembimbing II, atas segala perhatian, motivasi, waktu, tenaga, dukungan dan kasih sayangnya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi ini.
2. Dra. Lestari Rahayu K., M.Sc. dan Mega Atria, M.Si. yang telah memberikan saran-saran dan motivasi serta bersedia meluangkan waktu untuk menjadi penguji bagi kelayakan skripsi ini.
3. Dr.rer.nat. Mufti P. Patria, M.Sc , Dra. Nining Betawati Prihantini, M.Sc., Dra. Titi Soedjiarti, S.U. selaku Ketua, Sekretaris, dan Koordinator Pendidikan Departemen Biologi FMIPA UI, beserta seluruh staf pengajar Departemen Biologi FMIPA UI atas bekal ilmu yang diberikan kepada penulis selama penulis menjadi mahasiswa.
4. Dra. Noverita Dian Takarina, M.Sc. selaku Penasehat Akademis atas segala dukungan dan nasehatnya selama penulis menjadi mahasiswa.
5. Staf karyawan Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI (Mba Itha, Mba Vinda, Mba Beta, Farah, Ria, Mba Diah, Mas Andri, Mas Erwin, Mas Evan, dan Mas Rudi) yang telah memberikan bantuan, fasilitas, dan motivasi kepada penulis untuk menyelesaikan penelitian ini.
6. Staf karyawan Departemen Biologi FMIPA UI (Bu Rusmalina, Mba Asri, Bu Sofi, Mbak Ida, Pak Pri, Pak Taryono, dan Pak Dedi) atas segala bantuannya.
7. Kedua orang tua terkasih, Bapak Sudiono dan Ibu Uniyati atas segala dukungan, kasih sayang, motivasi, ridho dan doa yang tiada henti dan sangat berarti.

8. Adik-adik yang luar biasa penuh cinta, Irmayati, Imandri Faturrahman, dan Ibadurrahman.
9. Teman-teman seperjuangan: Rani, Andis, Nana, Ana, Munfarida;
Sahabat tercinta: Mardha, Lily, Nina, Kak Shil, Erna, Kak fika, Heni, Fido, Eka, Sholia, Kak Windri, Kak Dede, Uni, Rika, Ida, Suri, Adit, Dira, Arfan, Tino, Ria, Jupe, Sentot, Name, Aul, Desi, Muhaimin, Dewi, Meri, Felix'06, Baliveau'04, Blossom'07, Biosentris'08, Zygomorphic'09, BPH BEM '09, Az-Zahra, Banzai Blue dan teman-teman kos atas doa, kasih sayang, dan persahabatan yang telah memberikan warna-warni ceria dalam kehidupan penulis.
10. Semua pihak yang telah membantu dari awal penulis kuliah di Departemen Biologi FMIPA UI hingga lulus dan tidak bisa disebutkan namanya satu persatu.

Akhir kata, penulis berdoa agar Allah SWT membalas setiap kebaikan dari semua pihak yang telah membantu. Penulis berharap skripsi yang masih jauh dari sempurna ini dapat memberikan manfaat bagi penulis, pembaca, dan dunia ilmu pengetahuan.

Depok, 28 Juni 2012

Penulis

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS
AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Indah lestari
NPM : 0606069855
Program Studi : Biologi-S1 Reguler
Departemen : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jenis Karya : Skripsi

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia **Hak Bebas Royalti Non-eksklusif (*Non-exclusive Royalti-Free Right*)** atas karya ilmiah saya yang berjudul:

Analisis Jumlah Kromosom *Taraxacum officinale* Weber ex F. H. Wigg Hasil Regenerasi *in Vitro*

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Non-eksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat dan memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok

Pada Tanggal : 28 Juni 2012

Yang menyatakan



(Indah Lestari)

ABSTRAK

Nama : Indah Lestari
Program Studi : S1-Biologi Reguler
Judul : Analisis Jumlah Kromosom *Taraxacum officinale* Weber ex
F. H. Wigg Hasil Regenerasi *In Vitro*

Taraxacum officinale Weber ex F. H. Wigg, herba berkhasiat obat dan bersifat apomiksis. Perbanyak tunas kultur jaringan telah dilakukan untuk penyediaan bibit berkualitas. Namun, perubahan jumlah kromosom dapat terjadi pada tanaman hasil regenerasi. Penelitian bertujuan untuk mengetahui jumlah kromosom *T. officinale* hasil regenerasi *in vitro*. Analisis jumlah kromosom dari ujung akar dilakukan terhadap 24 tanaman hasil regenerasi akar, 27 tanaman hasil regenerasi helai daun, 21 tanaman hasil regenerasi tangkai daun dan 102 akar dari biji (kontrol) menggunakan metode orcein *Squash*. Hasil menunjukkan bahwa jumlah kromosom dari biji maupun tanaman hasil regenerasi *in vitro* bervariasi. Kisaran jumlah kromosom tanaman regenerasi adalah $2n = 8-39$ dengan sel diploid ($2n = 2x = 16$) adalah sel terbanyak, sedangkan kontrol adalah $2n = 10-38$ dengan sel triploid ($2n = 3x = 24$) adalah sel terbanyak. Variasi jumlah kromosom tersebut disebabkan adanya sifat apomiksis yang diturunkan oleh tanaman induk.

Kata kunci : apomiksis, kultur jaringan, *Taraxacum officinale*, variasi jumlah kromosom.

xii + 56 halaman; 16 gambar; 1 tabel; 5 lampiran
Daftar Acuan : 44 (1958--2012)

ABSTRACT

Name : Indah Lestari
Study Program : S1-Reguler Biology
Title : Analysis Chromosomes Number of *Taraxacum officinale*
Weber ex F. H. Wigg from *In Vitro* Regeneration

Taraxacum officinale Weber ex F. H. Wigg, herbaceous medicinal plant and apomictic. Multiplication of shoots using tissue culture was used to obtain high quality seedlings of *T. officinale*. However, changes in chromosome number can occur in regenerated plants. The research aim was to determine the chromosomes number of regenerated plants from culture *in vitro*. Analysis of chromosome number from root tips samples on 24 plants regenerated from root, 27 plants regenerated from leaf blade, 21 plants regenerated from petiole and 102 root of grown seeds using orcein squash method were done. The results showed that seed (control) and regenerated plants have variation in chromosome number. The range of Chromosome number from regenerated plants were $2n=8--39$, and cells with diploid number ($2n = 2x = 16$) as most observed. The range in controls were $2n=10--38$, and cells with triploid number ($2n = 3x = 24$) as most observed. Variation numbers of chromosome caused by apomixis in parent plant passed to regenerated plants.

Keywords : apomixis, tissue culture, *Taraxacum officinale*, variation chromosome number.

xii + 56 pages; 16 pictures; 1 table; 5 appendix
Bibliography : 44 (1958--2012)

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH.....	vi
ABSTRAK.....	vii
ABSTRACT.....	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
1. PENDAHULUAN.....	1
2. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1. <i>Taraxacum officinale</i> Weber ex F. H. Wigg.....	4
2.1.1. Klasifikasi dan Deskripsi.....	4
2.1.2. Distribusi dan Manfaat.....	6
2.1.3. Jumlah Kromosom dan Apomiksis pada <i>Taraxacum</i>	7
2.2. Kromosom.....	12
2.2.1. Pengertian Kromosom.....	12
2.2.2. Pembelahan Sel.....	13
2.2.3. Variasi Jumlah Kromosom.....	17
2.2.4. Pembuatan Sediaan Kromosom.....	19
2.3. Regenerasi Tanaman dengan Teknik Kultur Jaringan.....	20
2.3.1. Kultur Jaringan.....	20
2.3.2. Metode Perbanyak Tanaman dengan Teknik Kultur Jaringan.....	21
2.3.3. Variasi Genetik dalam Kultur Jaringan.....	21
3. METODE PENELITIAN.....	24
3.1. Lokasi dan Waktu.....	24
3.2. Alat.....	24
3.2.1. Peralatan Kultur Jaringan.....	24
3.2.2. Peralatan Analisis Jumlah Kromosom.....	24
3.3. Bahan.....	25
3.3.1. Bahan Kultur Jaringan.....	25
3.3.1.1. Bahan Perbanyak Tunas.....	25
3.3.1.2. Bahan Perakaran.....	25
3.3.1.3. Bahan Habis Pakai.....	25
3.3.2. Bahan Analisis Jumlah Kromosom.....	26
3.3.2.1. Bahan Tanaman.....	26
3.3.2.2. Bahan Kimia.....	26
3.3.2.3. Bahan Habis Pakai.....	26
3.4. Cara Kerja.....	26

3.4.1.	Kultur Jaringan.....	28
3.4.1.1.	Pembuatan Medium	28
3.4.1.2.	Subkultur untuk Induksi Akar	28
3.4.2.	Analisis Jumlah Kromosom	29
3.4.2.1.	Pembuatan Larutan Stok Pewarna Aceto-Orcein 2%	29
3.4.2.2.	Persiapan Analisis Sitologi pada Tanaman Hasil Regenerasi <i>In Vitro</i>	29
3.4.2.3.	Persiapan Analisis Sitologi pada Kecambah (kontrol)	31
3.4.2.4.	Pembuatan Sediaan Kromosom	31
3.4.2.5.	Pengamatan	32
3.4.2.6.	Pengolahan Data.....	33
4.	HASIL DAN PEMBAHASAN	34
4.1.	Hasil.....	34
4.1.1.	Jumlah Kromosom pada Tanaman Hasil Regenerasi <i>In Vitro</i> dan Kecambah <i>Taraxacum officinale</i>	34
4.1.2.	Deskripsi Sebaran Jumlah Kromosom pada Kecambah (Kontrol) <i>Taraxacum officinale</i> Weber ex F. H. Wigg.....	36
4.1.3.	Deskripsi Sebaran Jumlah Kromosom pada Tanaman <i>Taraxacum officinale</i> Weber ex F. H. Wigg Hasil Regenerasi Akar.....	37
4.1.4.	Deskripsi Sebaran Jumlah Kromosom pada Tanaman <i>Taraxacum officinale</i> Weber ex F. H. Wigg Hasil Regenerasi Helai Daun	39
4.1.5.	Deskripsi Sebaran Jumlah Kromosom pada Tanaman <i>Taraxacum officinale</i> Weber ex F. H. Wigg Hasil Regenerasi Tangkai Daun.....	40
4.2.	Pembahasan.....	43
5.	KESIMPULAN DAN SARAN	47
5.1.	Kesimpulan	47
5.2.	Saran.....	47
6.	DAFTAR REFERENSI	48

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.1.	<i>Taraxacum officinale</i> Weber ex F. H. Wigg	5
Gambar 2.1.3.(1).	Mekanisme reproduksi seksual dan apomiksis	9
Gambar 2.1.3.(2).	Bagan mekanisme terjadinya reproduksi seksual dan apomiksis.....	10
Gambar 2.2.1.	Tingkat-tingkat struktural organisasi yang dihipotesiskan terjadi saat kondensasi kromosom.....	13
Gambar 2.2.2.(1).	Proses pembelahan mitosis.....	14
Gambar 2.2.2.(2).	Meiosis pada sel tumbuhan	16
Gambar 3.4.	Skema cara kerja secara umum	27
Gambar 4.1.1.	Grafik perbandingan sel-sel euploid pada tanaman hasil regenerasi <i>in vitro</i> dan kecambah (kontrol) <i>Taraxacum officinale</i>	35
Gambar 4.1.2.	Persentase jumlah kromosom pada kecambah (kontrol) tanaman <i>Taraxacum officinale</i>	36
Gambar 4.1.3.(1).	Persentase jumlah kromosom pada tanaman <i>Taraxacum officinale</i> hasil regenerasi <i>in vitro</i> dengan sumber eksplan akar.....	38
Gambar 4.1.3.(2).	Beberapa contoh foto hasil pengamatan jumlah kromosom pada tanaman <i>Taraxacum officinale</i> hasil regenerasi <i>in vitro</i> dari eksplan akar	38
Gambar 4.1.4.(1).	Persentase jumlah kromosom pada tanaman <i>Taraxacum officinale</i> hasil regenerasi <i>in vitro</i> dengan sumber eksplan helai daun.....	39
Gambar 4.1.4.(2).	Beberapa contoh foto hasil pengamatan jumlah kromosom pada tanaman <i>Taraxacum officinale</i> hasil regenerasi <i>in vitro</i> dari eksplan helai daun	40
Gambar 4.1.5.(1).	Persentase jumlah kromosom pada tanaman <i>Taraxacum officinale</i> hasil regenerasi <i>in vitro</i> dengan sumber eksplan tangkai daun.....	41
Gambar 4.1.5.(2).	Beberapa contoh foto hasil pengamatan jumlah kromosom pada tanaman <i>Taraxacum officinale</i> hasil regenerasi <i>in vitro</i> dari eksplan tangkai daun	42
Gambar 4.2.	Persentase jumlah kromosom tanaman <i>Taraxacum officinale</i> hasil regenerasi <i>in vitro</i> (akar, helai daun, dan tangkai daun) dan kecambah (kontrol).....	43

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1.1. Distribusi jumlah kromosom dari planlet hasil regenerasi <i>in vitro</i> dan kecambah <i>Taraxacum officinale</i>	34
--	----

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Komposisi bahan dasar larutan stok medium MS (Murashige & Skoog, 1962) modifikasi serta komposisi dan volume larutan stok.....	52
Lampiran 2. Matriks penyebaran jumlah kromosom pada kecambah <i>Taraxacum officinale</i> (kontrol).....	53
Lampiran 3. Matriks penyebaran jumlah kromosom pada akar tanaman <i>Taraxacum officinale</i> hasil regenerasi <i>in vitro</i> dengan sumber eksplan akar.....	54
Lampiran 4. Matriks penyebaran jumlah kromosom pada akar tanaman <i>Taraxacum officinale</i> hasil regenerasi <i>in vitro</i> dengan sumber eksplan helai daun.....	55
lampiran 5. Matriks penyebaran jumlah kromosom pada akar tanaman <i>Taraxacum officinale</i> hasil regenerasi <i>in vitro</i> dengan sumber eksplan tangkai daun.....	56

BAB 1 PENDAHULUAN

Taraxacum officinale. Weber ex F. H. Wigg merupakan tanaman herba yang termasuk dalam suku Asteraceae. Tanaman tersebut memiliki nama umum Dandelion, di Indonesia dikenal dengan nama Jombang. *Taraxacum officinale* tumbuh tersebar di dataran tinggi; berasal dari Eropa, tersebar ke Amerika, Canada, Afrika Selatan, Australia, New Zealand, India, Cina, hingga ke Asia Tenggara termasuk Indonesia. *Taraxacum officinale* bermanfaat sebagai tanaman obat karena mengandung terpenoid dan sterol (*taraxacin* dan *taraxacerin*); polisakarida (terutama fruktosa dan inulin); dan berbagai senyawa flavonoid (Alternative Medicine Review 1999: 112); potasium; vitamin A; dan vitamin C (Kemper 1999: 3). *Taraxacum officinale* juga dimanfaatkan sebagai sayuran, bumbu masakan, dan bahan pembuatan berbagai macam minuman (Chuakul 1999: 475--477, Kemper 1999: 2).

Taraxacum officinale memiliki jumlah kromosom $2n = 16, 18, 24, 26, 32, 34, 36, 37$ (Darlington & Wylie (1955) lihat Smith 1965: 268) dan $2n = 16, 24, 32, 40, 48$ (Chuakul 1999: 475). Variasi jumlah kromosom tersebut karena tanaman *T. officinale* memiliki sifat apomiksis yaitu reproduksi aseksual terbentuknya biji tanpa melibatkan meiosis dan fertilisasi (Bhat *dkk.* 2005: 1879). Pada peristiwa apomiksis sering terjadi peningkatan jumlah kromosom (poliploid). Salah satu tujuan adanya peristiwa apomiksis adalah untuk mempertahankan jenis (Jones & Luchsinger 1979: 178).

Penelitian *Taraxacum officinale* sebagai tanaman obat telah banyak dilakukan. Salah satunya bertujuan untuk mendapatkan bibit secara seragam dan berkesinambungan tanpa tergantung musim yaitu dengan menggunakan teknik kultur jaringan. Bowes (1970: 197) dan Booth & Satchuthananthavale (1974: 453), telah melakukan kultur jaringan *T. officinale* dengan menggunakan eksplan akar. Akar dijadikan kalus pada media yang mengandung zat pengatur tumbuh IAA dan NAA, selanjutnya diregenerasikan menjadi tunas, namun frekuensi organogenesis masih rendah. Al- Hafiih *dkk* (2010: 91) melakukan kultur jaringan *T. officinale* untuk mendapatkan media perbanyak tunas melalui

regenerasi spontan dengan eksplan daun. Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa *T. officinale* dapat diregenerasikan secara spontan pada medium MS (Murashige and Skoog, 1962) yang mengandung 0,5 dan 1,0 mg/L BAP (Benzil Amino Purin).

Beberapa penelitian melaporkan bahwa seluruh bagian tanaman dapat dimanfaatkan sebagai obat dengan akar tanaman *T. officinale* merupakan bagian yang lebih sering digunakan sebagai obat (Kemper 1999: 2). Oleh karena itu, penelitian Al-Hafiizh (2010) kemudian dilanjutkan oleh Martin & Ermayanti (2010: 767) dengan tujuan untuk mendapatkan bibit tanaman hasil kultur jaringan untuk seleksi metabolit sekundernya. Penelitian dilakukan untuk mendapatkan media kultur terbaik untuk regenerasi *in vitro* tanaman *T. officinale* secara spontan dengan eksplan yang berbeda, yaitu akar, helai daun, dan tangkai daun. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tangkai daun dan akar lebih responsif dalam membentuk kalus, tunas, dan akar dibandingkan dengan helai daun; dan media terbaik untuk regenerasi tunas adalah MS yang mengandung 0,5 atau 1,0 mg/L BAP; dilaporkan juga bahwa aktivitas antioksidan tanaman hasil regenerasi *in vitro* dari organ yang berbeda (akar, helai daun, dan tangkai daun) memiliki kemampuan aktivitas antioksidan yang berbeda (Ermayanti *dkk.* 2011: 52). Dengan demikian metode kultur jaringan melalui regenerasi organ dapat dipergunakan untuk melakukan seleksi bibit berkualitas khususnya tanaman obat.

Kultur jaringan merupakan suatu metode untuk mengisolasi bagian dari tanaman seperti protoplasma, sel, sekelompok sel, jaringan, dan organ, serta menumbuhkannya dalam kondisi aseptik (Gunawan 1987: 1). Salah satu akibat penggunaan metode kultur jaringan adalah adanya variasi genetik (perubahan jumlah kromosom atau susunan kromosom). Perubahan jumlah kromosom pada suatu tanaman dapat mempengaruhi morfologi maupun fisiologinya. Ermayanti *dkk.* (1993: 379) melaporkan bahwa akar *Swainsona galegifolia* hasil kultur akar rambut dengan tingkat ploidi yang lebih tinggi memiliki kandungan metabolit sekunder yang lebih tinggi pula.

Penelitian tentang produksi bibit *T. officinale* melalui kultur jaringan sangat menarik dikaitkan dengan variasi genetiknya. Sifat apomiksis yang dimiliki oleh *T. officinale* kemungkinan sangat berkaitan dengan kadar metabolit sekunder

yang dihasilkannya. Oleh karena itu perlu diketahui variasi genetik bibit hasil kultur jaringan tanaman ini antara lain dengan menghitung jumlah kromosomnya. Dari penghitungan jumlah kromosom dapat diketahui apakah bibit hasil kultur jaringan mempunyai jumlah kromosom yang bervariasi. Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui jumlah kromosom tanaman *T. officinale* hasil regenerasi *in vitro* dari eksplan akar, helai daun, dan tangkai daun. Jumlah kromosom dari kecambah *T. officinale* juga dihitung sebagai pembanding.



BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1. *Taraxacum officinale* Weber ex F. H. Wigg

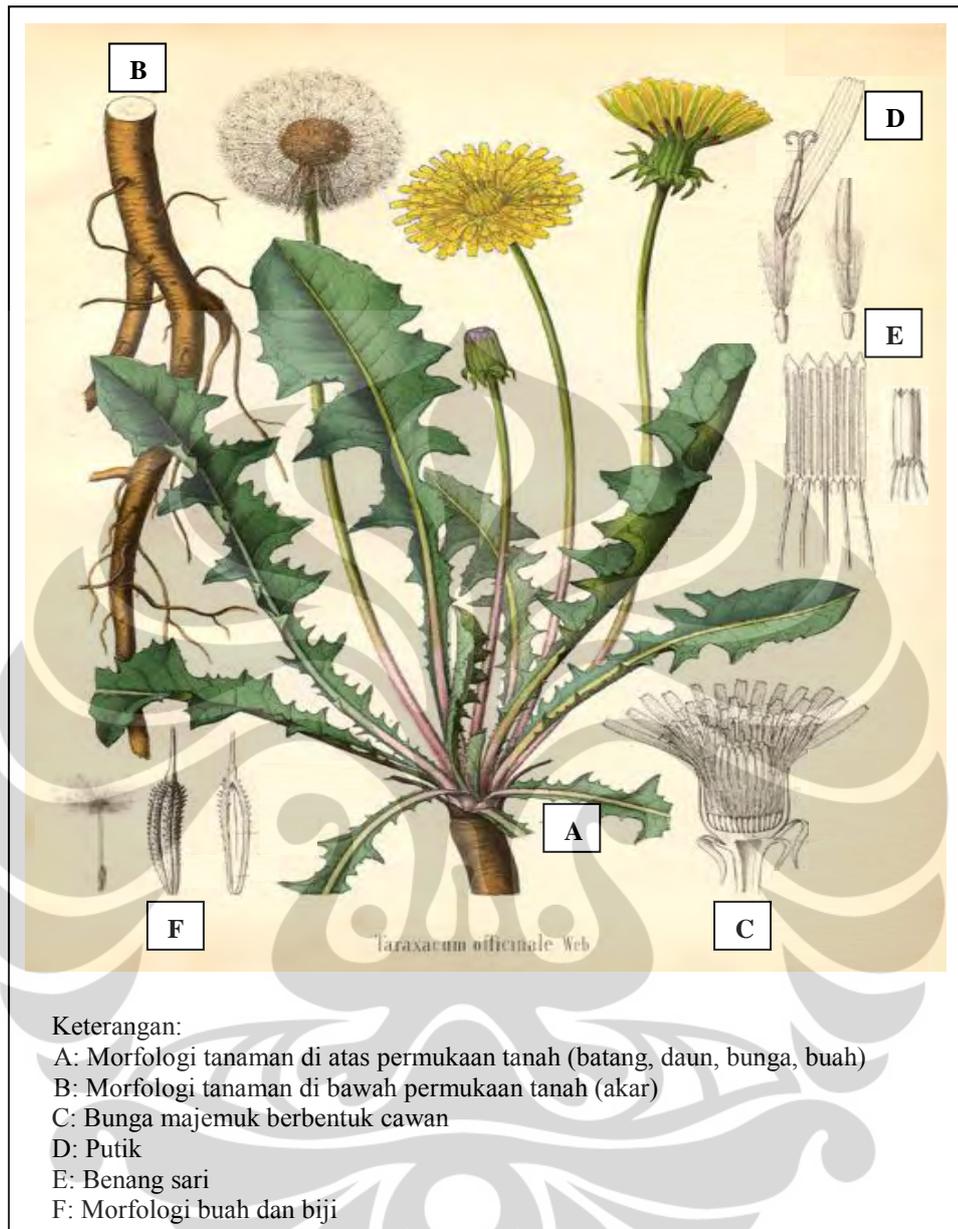
2.1.1. Klasifikasi dan Deskripsi

Taraxacum officinale Weber ex F.H. Wigg merupakan tanaman herba menahun yang termasuk suku Asteraceae. Tanaman tersebut berasal dari Eropa dan benua beriklim sedang seperti Asia Selatan hingga Himalaya dan penyebarannya hampir di seluruh dunia termasuk di Indonesia. *Taraxacum officinale* umumnya dikenal dengan nama Dandelion, di Indonesia dikenal dengan nama Jombang (Chuakul 1999: 475).

Berdasarkan Gandhi *dkk.* (1989) klasifikasi *Taraxacum officinale* adalah sebagai berikut:

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Bangsa	: Asterales
Suku	: Asteraceae
Marga	: <i>Taraxacum</i>
Jenis	: <i>Taraxacum officinale</i> Weber ex F.H. Wigg

Taraxacum officinale Weber ex F. H. Wigg (Gambar 2.1.1.) merupakan tanaman herba dengan batang sangat pendek. Tinggi tanaman antara 30--50 cm, dengan akar tunggang yang panjang dan seluruh bagian tanamannya bergetah. Daun tersusun spiral dalam roset, berbentuk memanjang (*oblongus*) hingga spatel (*spathulatus*) dengan panjang 4--35 cm, lebar 0,7--10 cm. Tepi daun berlekuk menyirip (*pinnatilobus*) hingga berbagi menyirip (*pinnatipartitus*). Tekstur permukaan daunnya sangat bervariasi, berambut hingga halus. Tangkai daunnya berwarna hijau atau merah muda hingga keunguan (Gandhi *dkk.* 1989: 169, Chuakul 1999: 477).



Gambar 2.1.1. *Taraxacum officinale* Weber ex F.H. Wigg
 [Sumber: Berg & Schmidt 1986: 1.]

Taraxacum officinale memiliki bunga yang tumbuh di ketiak daun (*flos axillaris*). Setiap tanaman memiliki 1--25 bunga dengan tangkai bunga sederhana, memiliki rongga, dan hampir tidak berdaun. Diameter perbungaan tersebut antara 3--6,5 cm, daun pembalut (*bractea involucrium*) bagian luar berbentuk bulat telur hingga memanjang dan bergerigi; sedangkan daun pembalut bagian dalam berbentuk memanjang, hanya memiliki 1 gigi. Perbungannya tegak dengan dasar

bunga datar atau berbentuk cawan. Setiap perbungaan memiliki jumlah bunga banyak, semuanya merupakan bunga pita. Mahkota bunga berwarna kuning, di beberapa bunga memiliki garis berwarna ungu di bagian luarnya. Pada bunga terdapat 1 tangkai putik berwarna kekuningan atau kehijauan hingga hitam dan 2 kepala putik menyebar. Bunga tanaman ini memiliki 5 benang sari dengan kepala sari yang berfusi berbentuk tabung. Bakal buah berada di bawah perhiasan bunga (*ovarium inferus*) dengan satu bakal biji (*ovul*) (Chuakul 1999: 477).

Buah tanaman ini merupakan buah kurung dengan panjang sekitar 3 mm. Buah berwarna kehijauan hingga kecoklatan. Sepertiga bagian atasnya berduri kasar dengan struktur seperti tangkai sepanjang 6--12 mm. Buah dapat tersebar sangat jauh karena terdapat struktur rambut berwarna putih (*pappus*). Biji tanaman berkecambah di atas permukaan tanah (*epigaeis*) dengan kotiledon bebas dan tidak memiliki epikotil (Chuakul 1999: 477).

Seluruh bagian tanaman *Taraxacum officinale* mengandung senyawa terpenoid, sterol (taraxacin dan taraxasterin) (Alternative Medicine Review 1999: 112), *hydroxycinnamic acid*, *chicoric acid*, *monocaffeoyltartaric acid*, dan *chlorogenic acid* (Williams dkk. 1996: 121). Bunga dan daun tanaman mengandung senyawa flavonoid glikosida. Selain itu, daun tanaman mengandung *furan fatty acid* (Alternative Medicine Review 1999: 112), seskuipterpen lakton (*taraxinic acid*), *triterpenoids* (*cycloartenol*), dan vitamin A (Kemper 1999: 3). Ekstrak daunnya mengandung kumarin, *cichoriin*, dan *aesculin* (Williams dkk. 1996: 121). Akar tanaman mengandung asam fenolik dan inulin (Kemper 1999: 3).

2.1.2. Distribusi dan Manfaat

Taraxacum officinale berasal dari Eropa dan daerah beriklim sedang di Asia Selatan hingga Himalaya. Namun, saat ini *T. officinale* dapat ditemukan hampir di seluruh dunia. Tanaman tersebut diintroduksi di Kawasan Malesiana dan dinaturalisasi di daerah Semenanjung Malaysia; Jawa Barat dan dataran tinggi lain di Indonesia; dan Filipina (Provinsi Benguet). Tanaman tersebut

dibudidayakan sebagai bahan makanan atau bahan obat. Bagian tanaman yang sering dijadikan bahan obat, yaitu akar dan daun (Chuakul 1999: 475).

Taraxacum officinale dimanfaatkan sebagai obat untuk menyembuhkan berbagai macam penyakit. Secara keseluruhan, *T. officinale* dapat dimanfaatkan sebagai obat kelainan fungsi hati dan ginjal, seperti penyakit kuning, hepatitis, dan diuretik. Selain itu, tanaman tersebut berpengaruh terhadap aktivitas gula darah dalam tubuh (hypoglikaemik) karena kandungan inulinnya yang tinggi (Alternative Medicine Review 1999: 112).

Taraxacum officinale dapat menstimulasi aliran cairan empedu dan hati, serta dapat dijadikan vitamin dalam sistem pencernaan. Tanaman tersebut dapat mengobati penyakit hati yang kronis, mencegah kematian sel hati dari berbagai zat racun, dan mendukung regenerasi hati. Ekstrak tanaman tersebut juga berguna untuk kesehatan limpa, pankreas dan memiliki potensi sebagai antivirus dan antitumor (Kemper 1999: 6). Akarnya dapat mengobati penyakit hati dan kantung empedu, sedangkan daunnya sebagai diuretik (Alternative Medicine Review 1999: 112).

Pemanfaatan *T. officinale* sebagai obat dapat dikombinasikan dengan tanaman herbal lainnya. Kombinasi *T. officinale*, *Hypericum perforatum*, *Melissa officinalis*, *Calendula officinalis*, dan *Foeniculum vulgare* dapat mengobati penyakit radang usus besar yang bersifat kronis. Pemberian ramuan obat tersebut dapat menghilangkan rasa sakit pada usus (Alternative Medicine Review 1999: 113, Kemper 1999: 5). Selain itu, kombinasi dengan beberapa jenis tanaman juga dapat mengobati penyakit yang berkaitan dengan pencernaan, menambah nafsu makan, dan mengobati infeksi Hepatitis B kronis (Kemper 1999: 5).

Taraxacum officinale dapat digunakan pula sebagai obat luar dan bahan makanan. Getah *T. officinale* digunakan sebagai obat bisul dan infeksi kulit lainnya. Selain itu, *T. officinale* yang dilumatkan dapat mengobati memar, kutil, dan menghentikan darah pada luka ringan (Chuakul 1999: 147, Kemper 1999: 6). Campuran bunga dan daun *T. officinale* sering dimanfaatkan sebagai bahan pembuatan anggur, bir, dan minuman non-alkohol lainnya; akar *T. officinale* yang dipanggang dapat dijadikan pengganti bahan pembuatan kopi; dan daunnya dapat

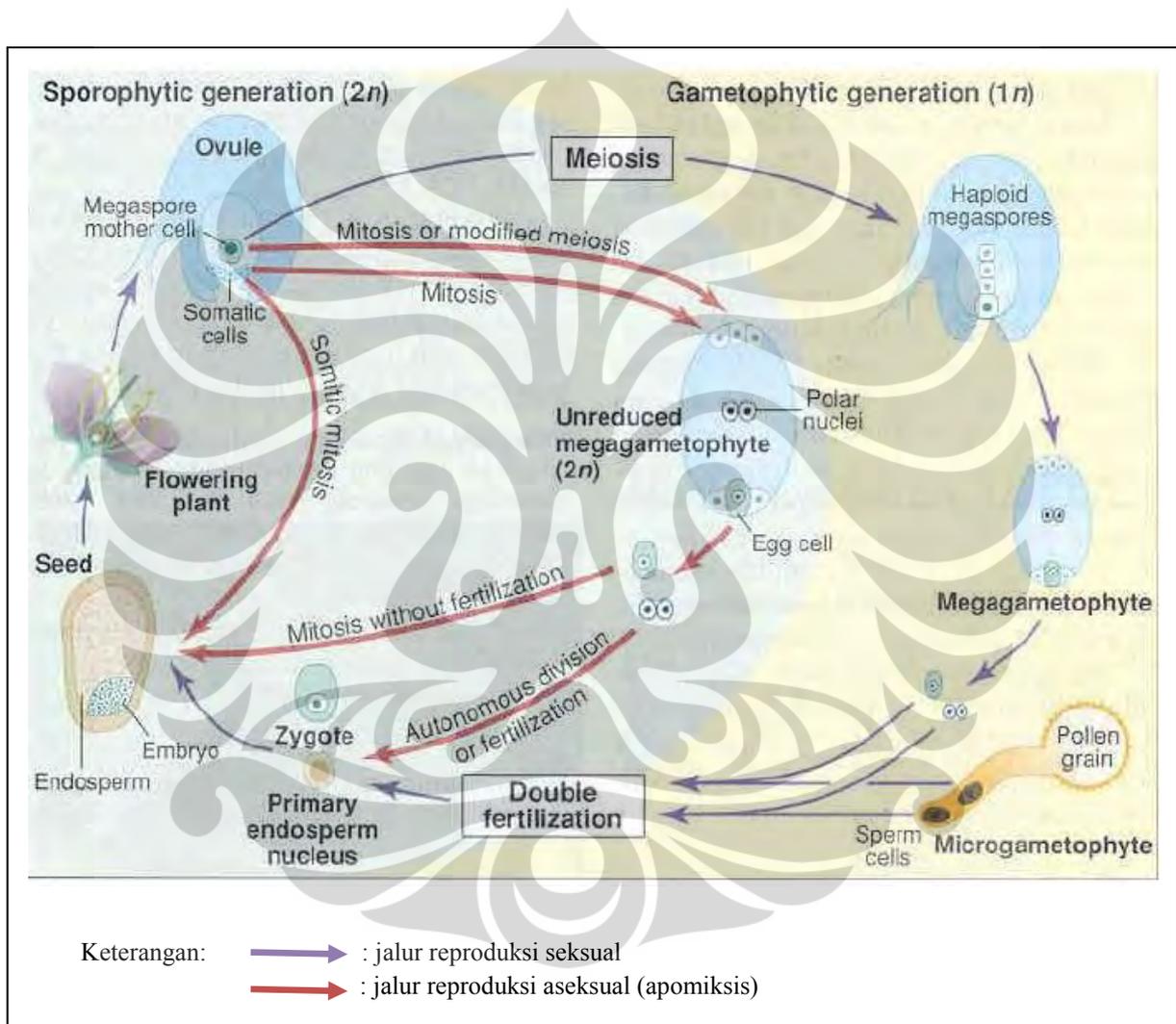
dijadikan salad, sup, dan bahan dalam pembuatan teh (Simon *dkk.* 1984: 11. 1--136, Chuakul 1999: 476).

2.1.3. Jumlah Kromosom dan Apomiksis pada *Taraxacum*

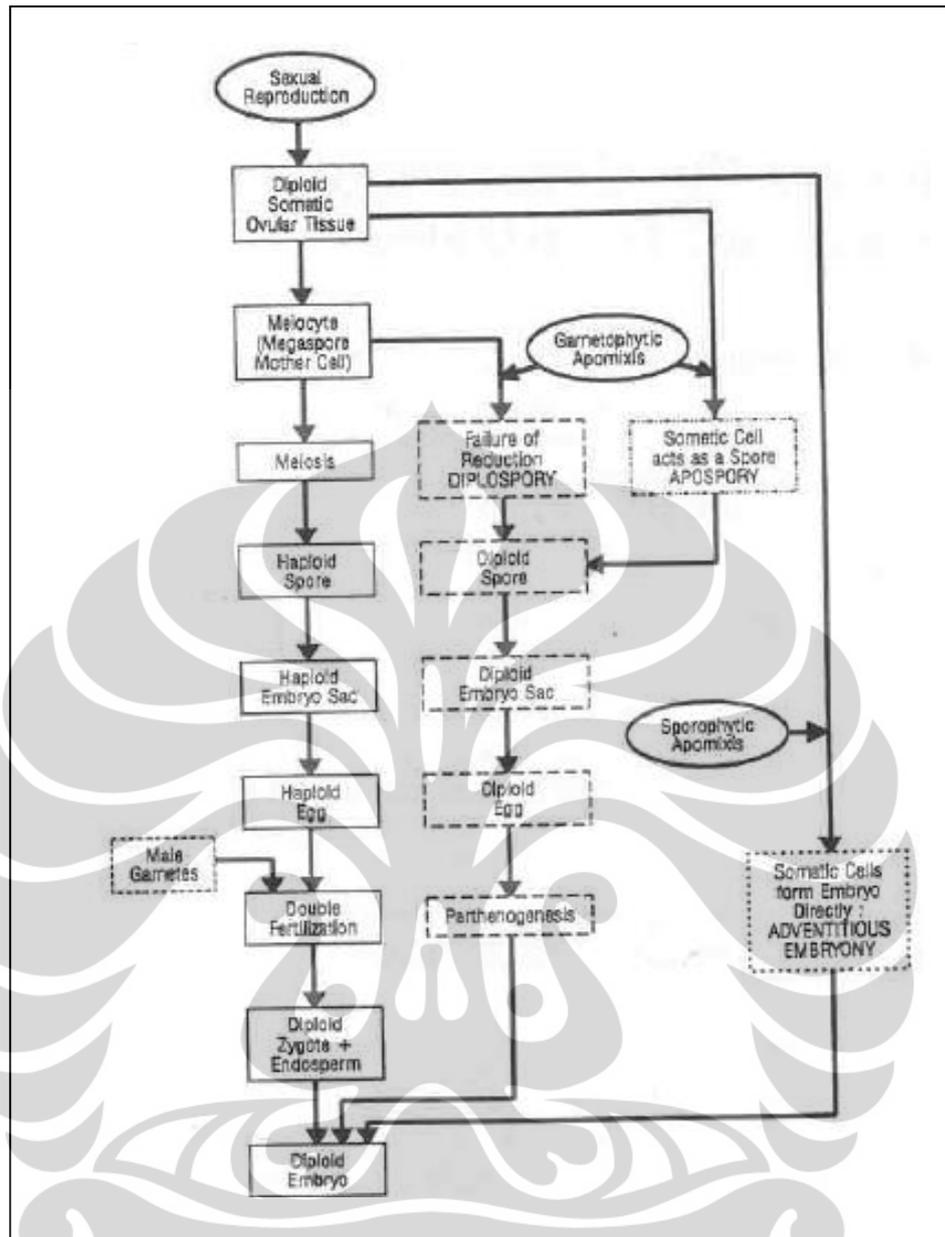
Taraxacum officinale memiliki jumlah kromosom dasar $x = 8$. Darlington & Wylie (1955) lihat Smith (1965) menyatakan bahwa jumlah kromosom *T. officinale* adalah $2n = 16, 18, 24, 26, 32, 34, 36, 37$. Chaterjee & Sharma (1969) melaporkan bahwa di India populasi *T. officinale* yang dikoleksi dari berbagai habitat menghasilkan variasi jumlah kromosom dari $2n = 24$ hingga $2n = 32$. Selain itu, Chuakul (1999) melaporkan bahwa jumlah kromosom *Taraxacum officinale* adalah $2n = 16, 24, 32, 40, 48$. Hal tersebut menunjukkan bahwa tanaman memiliki tingkat poliploid yang tinggi. Jumlah yang berbeda tersebut dikarenakan *T. officinale* mengalami peristiwa apomiksis.

Bhat *dkk.* (2005: 1779) menyatakan bahwa apomiksis merupakan salah satu bentuk reproduksi aseksual terbentuknya biji tanpa melibatkan proses meiosis (pengurangan jumlah kromosom) dan fertilisasi (Gambar 2.1.3.(1)). Gambar 2.1.3.(1) menunjukkan 2 jalur reproduksi yaitu seksual dan aseksual (apomiksis). Berdasarkan sel yang membentuk embrio pada biji, terdapat dua tipe utama dalam apomiksis yaitu *sporophytic apomixis* dan *gametophytic apomixis*. *Sporophytic apomixis* dikenal juga dengan *adventive embryony*. Embrio pada tipe *adventive embryony* berkembang secara langsung (mitosis) dari sel somatik (sporofit) pada jaringan ovul selain sel induk megaspora yaitu sel nuselus atau integumen. Sementara, embrio pada tipe *gametophytic apomixis* berkembang dari *megagametophyte* yang tidak tereduksi (tidak terjadi pengurangan jumlah kromosom). Pada *gametophytic apomixis* terjadi 3 komponen perkembangan utama: pembentukan kantung embrio tanpa meiosis yang sempurna, terbentuknya embrio tanpa pembuahan (partenogenesis), dan perkembangan endosperma dengan atau tanpa fertilisasi (*autonomous*). *Gametophytic apomixis* terdiri dari 2 macam, yaitu apospori dan diplospori. Apospori merupakan tipe apomiksis dimana sel somatik (nuselus) dapat membentuk kantung embrio dan embrio berkembang secara partenogenesis dari sel telur yang tidak tereduksi (diploid).

Namun, polinasi dan fertilisasi diperlukan untuk perkembangan endosperma. Diplospori merupakan tipe apomiksis dimana kantung embrio terbentuk dari sel induk megaspora tanpa terjadi meiosis (*mitotic diplospory*) maupun meiosis yang tidak sempurna (*meiotic diplospory*), embrio berkembang dari sel telur yang tidak tereduksi, dan endosperma terbentuk dengan atau tanpa fertilisasi (*autonomous*) (Gambar 2.1.3.(2).) (Darrigues *dkk.* 2003: 2--3, Bhat *dkk.* 2005: 1879--1881).



Gambar 2.1.3.(1). Mekanisme reproduksi seksual dan apomiksis
[Sumber: Vielle-Calzada *dkk.* 1995 lihat Darrigues *dkk.* 2003: 2.]



Gambar 2.1.3.(2). Bagan mekanisme terjadinya reproduksi seksual dan apomiksis [Sumber: Koltunow *dkk.* 1993 lihat Darrigues *dkk.* 2003: 3.]

Apomiksis merupakan sifat unik yang tidak dimiliki oleh berbagai tanaman berbiji tertutup (Angiospermae). Saat ini hanya 40 suku atau sekitar 0,1% jenis tanaman Angiospermae diketahui memiliki sifat reproduksi apomiksis (McPeck & Wang 2007: 334). Sebagian besar tanaman dengan tipe *sporophytic apomixis* merupakan tanaman diploid, sebagai contoh yaitu *Citrus*. Tanaman yang memiliki tipe *gametophytic apomixis* sebagian besar merupakan tanaman poliploid. Apospori telah diketahui terjadi pada sebagian besar apomiksis dari suku rumput-rumputan (*Pennisetum*, *Cenchrus*, dan *Poa*). Diplospori sering ditemukan pada tanaman dengan marga *Taraxacum*, *Ixeris*, *Antennaria*, *Allium*, *Blumea*, *Elymus*, dan *Eragrotis* (Darrigues dkk. 2003: 2, Bhat dkk. 2005: 1880).

Apomiksis pada marga *Taraxacum* merupakan apomiksis dengan tipe *meiotic diplospori*. Sel induk megaspora memasuki tahap meiosis (profase) tapi kromosom tidak berpisah karena terjadi asinapsis. Kromosom univalen tersebar di spindle pada tahap metafase I. Restitusi inti sel terbentuk setelah pembelahan meiosis pertama yang kemudian membelah secara mitosis membentuk *dyad* dengan jumlah kromosom sel somatik ($2n$). Pembelahan mitosis selanjutnya membentuk 8 inti dalam kantung embrio. Embrio terbentuk secara partenogenesis dari sel telur yang tidak tereduksi dan endosperma terbentuk tanpa adanya fertilisasi (*autonomous*). Tipe apomiksis tersebut terjadi pada jenis *Arabis*, *Paspalum* dan beberapa marga dalam suku Asteraceae (Bhat dkk. 2005: 1881). Jumlah kromosom *Taraxacum* dengan sifat seksual diploid adalah $2n = 2x = 16$, dan tanaman dengan sifat apomiksis yang sering ditemukan adalah jumlah kromosom triploidnya yaitu $2n = 3x = 24$ (Tas & van Dijk 1999: 707).

Mekanisme apomiksis pada marga *Taraxacum* tersebut merupakan salah satu bentuk adaptasi terhadap lingkungan tumbuhnya. Habitat *Taraxacum* berada di padang rumput, kebun, lahan terbuka tanpa naungan, tempat terbuka di tepi jalan dan tepi jalur kereta. *Taraxacum* memiliki toleransi lingkungan yang tinggi, mulai dari lahan terbuka yang langsung terpapar sinar matahari hingga terpapar sebagian (Hilty 2012: 1). *Taraxacum* juga sering ditemukan pada lahan yang mengalami degradasi dan gangguan akibat aktivitas manusia (pembangunan), seperti di sela-sela blok jalan (Hartzler 2002: 1). Selain itu, *Taraxacum* dapat hidup pada empat musim (Vavrek dkk. 1996: 2099) dan tidak terjadi kompetisi

antara *Taraxacum* tipe seksual diploid dan apomiksis sehingga mereka dapat hidup bersama dalam suatu populasi (de Kovel & de Jong 2001: 25). Hal tersebut menunjukkan bahwa *Taraxacum* memiliki sistem adaptasi dan pertahanan diri yang kuat. Oleh karena itu, *Taraxacum* tersebar hampir di seluruh dunia.

Penelitian tentang apomiksis pada marga *Taraxacum* sudah sejak lama dilakukan dan sudah mencapai tingkat molekularnya untuk berbagai keperluan. Beberapa diantaranya yaitu Tas & van Dijk (1999: 707) menggunakan *T. officinale* untuk mengetahui karakter hasil keturunan dari perkawinan *T. officinale* seksual ($2n$) dan *T. officinale* yang mengalami apomiksis ($3n$) dan van Dijk & Schotman (2004: 483) yang menggunakan *T. officinale* tipe apomiksis untuk mengetahui gen yang mengendalikan apomiksis tipe diplospori pada *T. officinale*.

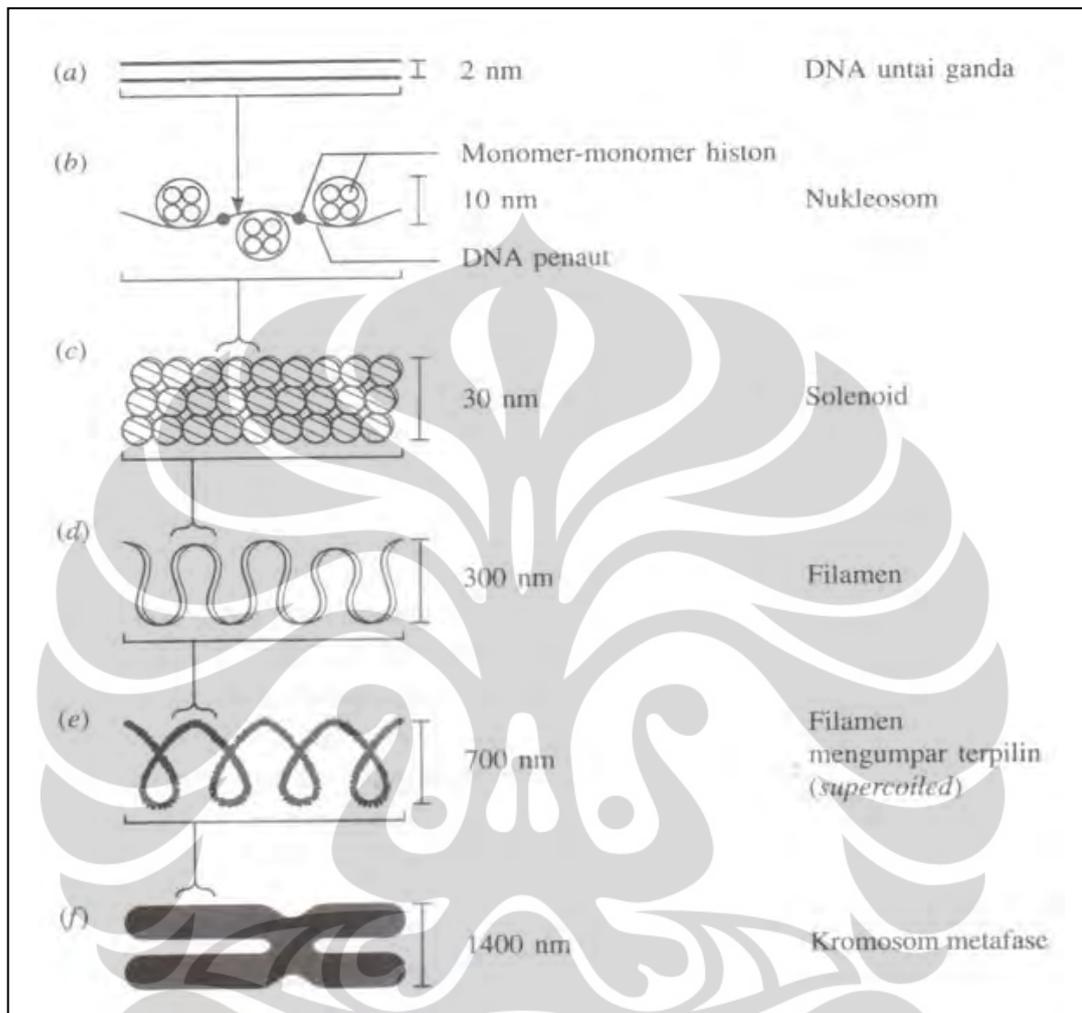
2.2. Kromosom

2.2.1. Pengertian Kromosom

Kromosom merupakan suatu struktur yang terbentuk dari DNA (*deoxyribonucleic acid*) dan suatu matriks protein histon dan nonhiston yang berpilin dan memadat yang terdapat di dalam nukleus (inti sel). *Deoxyribonucleic acid* (DNA) adalah struktur yang mengandung pembawa sifat keturunan (gen), sedangkan histon membantu membentuk untai-untai panjang DNA menjadi sebuah struktur yang disebut nukleosom. *Deoxyribonucleic acid* (DNA), histon, dan protein-protein kromosomal nonhiston bersama-sama membentuk nukleoprotein atau kromatin (Elrod & Stansfield 2007: 1, 4, 147).

Gambar 2.2.1. menjelaskan tingkatan struktural kromosom yang terbentuk saat kondensasi. Pada tahap pertama pengepakan, DNA untai ganda melilit di sekitar sebuah oktomer yang terdiri atas empat pasang protein histon berbeda, sehingga terbentuklah partikel inti nukleosom. Protein histon jenis kelima menempati DNA penaut (*linker DNA*) yang menghubungkan satu partikel inti dengan partikel inti lainnya. Struktur tersebut pertama-tama mengumpar menjadi sebuah solenoid lalu menjadi filamen. Tahap pepadatan lebih lanjut terjadi saat pembelahan sel. Materi kromatin berkondensasi dari massa kromatin amorfus

(tidak berbentuk jelas) menjadi kromosom yang jelas bentuknya (Elrod & Stansfield 2007: 147).



Gambar 2.2.1. Tingkat-tingkat struktural organisasi yang dihipotesiskan terjadi saat kondensasi kromosom

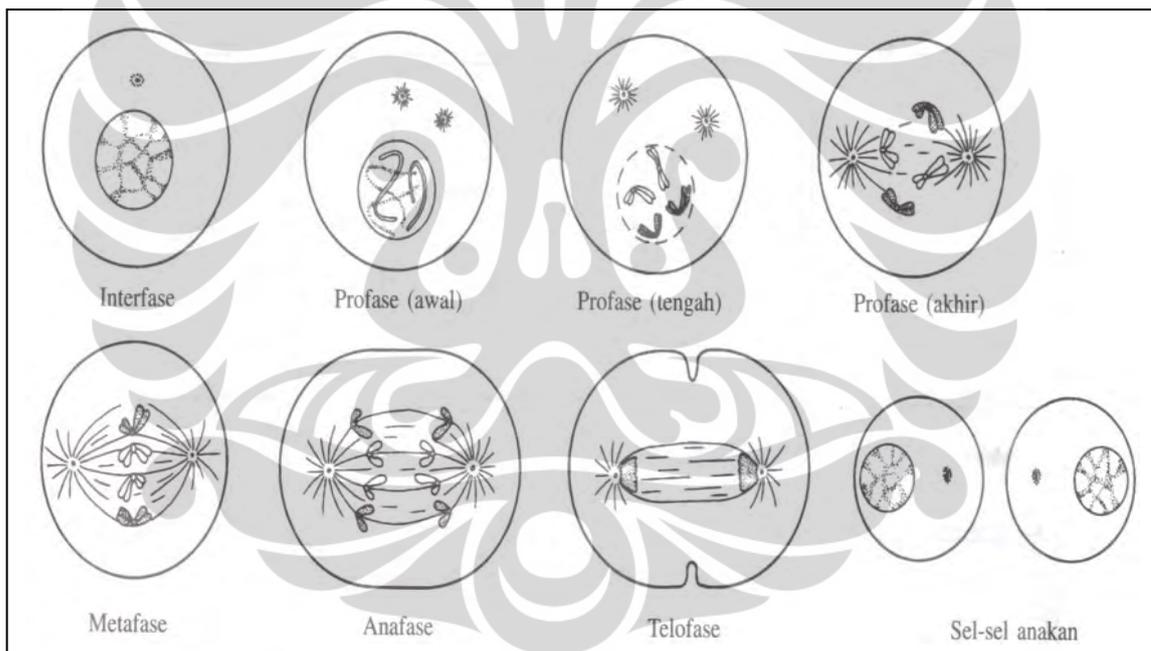
[Sumber: Watson *dkk.* (1987) lihat Elrod & Stansfield 2007: 147.]

2.2.2. Pembelahan Sel

Pembelahan sel merupakan proses perbanyakan sel. Pembelahan yang terjadi pada sel terdiri dari dua macam, yaitu mitosis dan meiosis. Mitosis merupakan pembelahan sel yang terjadi pada sel somatik, sedangkan meiosis terjadi pada sel kelamin. Mitosis menghasilkan sel yang memiliki jumlah kromosom dan sifat materi genetik yang sama dengan induknya. Meiosis

menghasilkan sel dengan sifat materi genetik yang sama, akan tetapi jumlah kromosomnya setengah dari sel induk (Campbell *dkk.* 2002: 222, Suryo 2004: 57).

Proses pembelahan mitosis terdiri atas tahap interfase dan mitosis atau periode pembelahan sel (profase, metafase, anafase, telofase) (Gambar 2.2.2.(1)). Sebelum terjadi proses mitosis, sel mengalami periode interfase. Interfase disebut juga sebagai tahap persiapan sel sebelum memasuki fase mitosis selanjutnya. Interfase terdiri dari tiga fase, yaitu fase G1, S, dan G2. Selama G1, sel-sel mempersiapkan diri untuk memasuki fase S. Fase S merupakan tahapan sintesis, molekul-molekul DNA dari masing-masing kromosom mengalami replikasi sehingga menghasilkan sepasang molekul DNA identik yang disebut kromatid. Sesudah fase S, terdapat fase G2 yaitu saat berlangsungnya aktivitas metabolik, pertumbuhan, dan diferensiasi sel (Elrod & Stansfield 2007: 5)



Gambar 2.2.2.(1). Proses pembelahan mitosis
[Sumber: Elrod & Stansfield 2007: 7.]

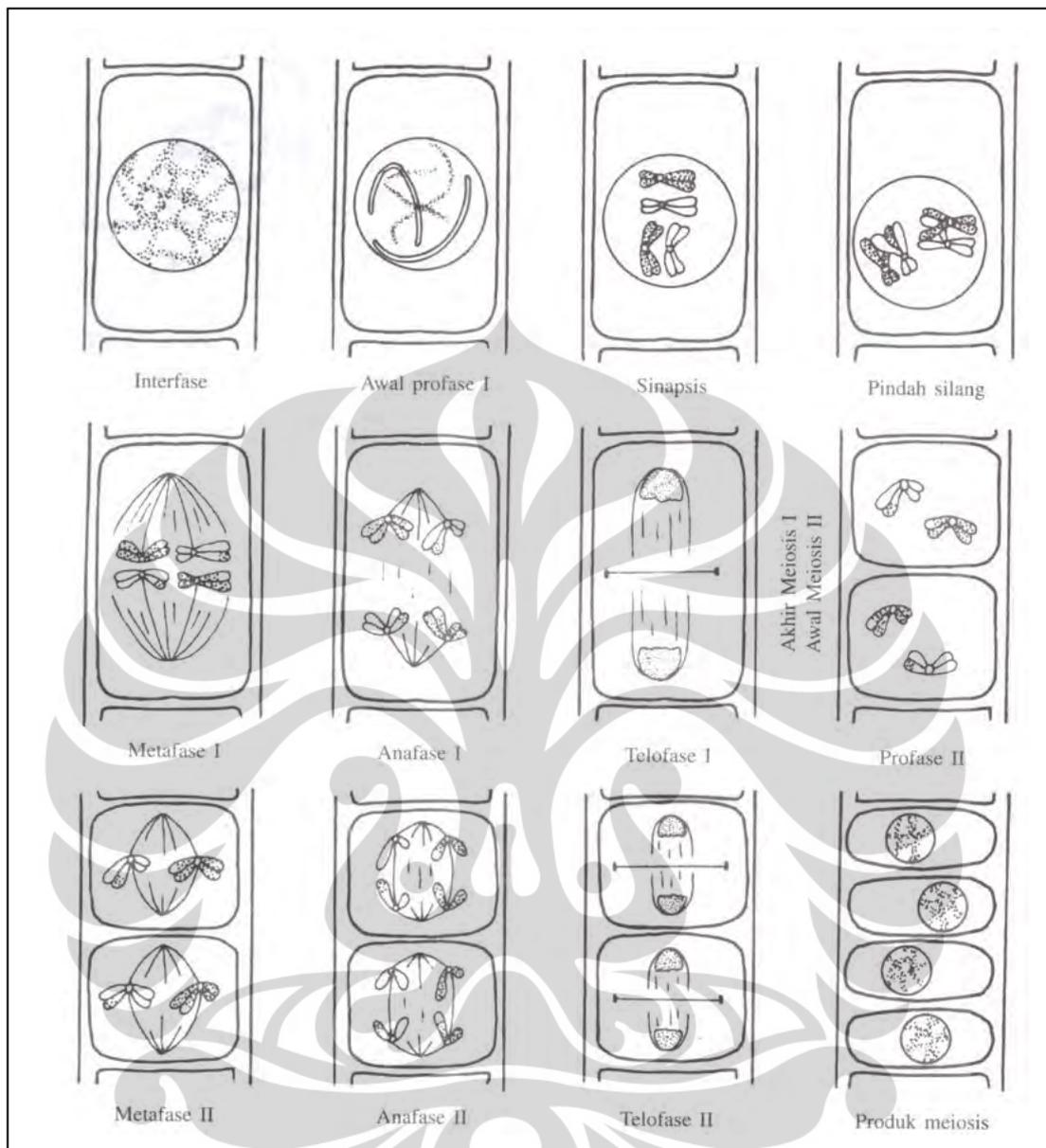
Mitosis memiliki empat tahapan, yaitu profase, metafase, anafase, dan telofase. Pada tahap profase, benang kromatin dalam inti sel tergulung lebih rapat, memadat menjadi kromosom terpisah. Setiap kromosom terduplikasi tampak sebagai dua kromatid saudara yang identik dan bersatu. Sentrosom yang terdiri dari sepasang sentriol membentuk gelendong mitotik. Sentriol terbuat dari

mikrotubulus, dan saat profase masing-masing sentriol bereplikasi dan bermigrasi ke arah daerah kutub yang berlawanan pada sel (Elrod & Stansfield 2007: 6).

Kromosom pada tahap metafase bergerak menuju ke bagian tengah sel. Pergerakan tersebut terjadi akibat adanya daya tarik mikrotubulus terhadap kinetokor. Kinetokor merupakan suatu struktur multiprotein yang melekat ke DNA sentrometik pada masing-masing kromosom. Kromosom-kromosom dijaga pada posisi tersebut oleh tekanan dari serabut-serabut mikrotubulus yang berseberangan (Campbell *dkk.* 2002: 224). Selain itu, kromosom pada tahap tersebut juga berada dalam keadaan terkondensasi maksimal.

Anafase dimulai ketika pasangan sentromer dari setiap kromosom berpisah, yang akhirnya melepaskan kromatid saudari. Setiap kromatid dianggap sebagai kromosom lengkap. Kromatid saudari yang pada awalnya menyatu, mulai berpisah ke arah kutub sel yang berlawanan ketika mikrotubula kinetokornya memendek. Seiring Bergeraknya kromatid melalui sitosol yang kental, lengannya bergerak lambat di belakang sentromernya. Setelah itu, mitosis memasuki tahap telofase. Masing-masing set dari kromatid-kromatid yang memisah, berkumpul pada kedua kutub sel. Kromatid-kromatid mulai membuka kumparannya dan kembali ke keadaan interfase. Gelendong berdegenerasi, membran nukleus terbentuk kembali, dan sitoplasma membelah (sitokinesis). (Campbell *dkk.* 2002: 225, Elrod & Stansfield 2007: 6).

Gambar 2.2.2.(2). merupakan tahapan yang terjadi pada pembelahan sel meiosis. Meiosis melibatkan replikasi sebuah DNA tunggal dan dua pembelahan sitoplasma. Pembelahan meiosis pertama (meiosis I) adalah pembelahan reduksional yang menghasilkan dua sel haploid dari satu sel diploid. Pembelahan kedua (meiosis II) adalah pembelahan berimbang. Masing-masing pembelahan (meiosis I dan II) terdiri atas empat fase utama. Meiosis I : profase I, metafase I, anafase I, dan telofase I. Meiosis II: profase II, metafase II, anafase II, dan telofase II (Elrod & Stansfield 2007: 7).



Gambar 2.2.2.(2). Meiosis pada sel tumbuhan
[Sumber: Elrod & Stansfield 2007: 8.]

Tahapan-tahapan pada pembelahan meiosis I dan II hampir sama dengan tahapan yang terjadi pada pembelahan mitosis, terutama meiosis II. Perbedaannya terdapat pada profase I dan anafase I. Kromosom pada profase I mengalami sinapsis. Saat sinapsis, kromatid-kromatid dapat berpindah silang dan bertukar materi genetik dalam sebuah proses yang disebut pindah silang (*crossing over*) dan rekombinasi. Pada anafase I, sentromer-sentromer tidak memisah, melainkan

menyatukan kromatid-kromatid saudara. Berbeda dengan anafase pada mitosis, kromatid pada anafase I tidak memisah melainkan tetap menyatu dalam bentuk kromosom utuh yang tertarik pada bidang kutub. Pergerakan tersebut mengurangi jumlah kromosom dari diploid ($2n$) menjadi haploid (n) (Elrod & Stansfield 2007: 7--9).

2.2.3. Variasi Jumlah Kromosom

Masing-masing jenis organisme memiliki jumlah kromosom khas. Sebagian besar organisme tingkat tinggi bersifat diploid, dengan dua set kromosom homolog. Variasi dalam jumlah set kromosom (ploidi) umum ditemukan di alam. Diperkirakan satu pertiga dari angiosperma memiliki lebih dari dua set kromosom (poliploid) (Elrod & Stansfield 2007: 148). Crowder (1993: 294) menyatakan bahwa perubahan jumlah kromosom terjadi akibat penambahan atau pengurangan kromosom-kromosom utuh atau satu set kromosom lengkap.

Berdasarkan variasi jumlah kromosomnya, dikenal istilah euploidi dan aneuploidi. Euploidi digunakan bagi organisme yang mempunyai jumlah kromosom kelipatan angka dasar (n), sedangkan aneuploidi untuk jumlah kromosom yang bukan kelipatan dari n . Euploidi terdiri dari beberapa macam, yaitu monoploid (n), diploid ($2n$), dan poliploid (kelipatan angka dasar lebih dari $2n$, seperti triploid ($3n$) dan tetraploid ($4n$)) (Elrod & Stansfield 2007: 148--150). Tanaman-tanaman yang memiliki jumlah kromosom monoploid terjadi secara spontan dari perkembangan sel telur tanpa pembuahan. Penyerbukan yang terlambat kadang-kadang menyebabkan sel telur berkembang sebelum bersatu dengan inti sperma dari gametofit jantan. Selain itu, kultur anter (kepala sari) pada medium yang sesuai merupakan suatu cara yang sering digunakan untuk memperoleh tanaman monoploid, namun sterilitas biasanya terjadi pada tanaman-tanaman monoploid karena tidak terdapat kromosom homolog sehingga proses meiosis tidak teratur (Crowder 1993: 296).

Poliploid merupakan istilah yang digunakan pada suatu individu yang memiliki jumlah kromosom lebih dari dua set kromosom ($2n$) (Elrod & Stansfield

2007: 149). Terdapat dua tipe pada poliploidi yaitu autopoliploid dan allopoliploidi. Autopoliploid merupakan peningkatan jumlah kromosom homolog. Autopoliploidi dapat terjadi akibat kegagalan mitosis ataupun meiosis, *non-disjunction* atau kegagalan kromosom untuk berpisah pada tahap anafase, mutasi somatik (penggandaan jumlah kromosom disertai dengan pembelahan mitosis dan pembentukan jaringan poliploid), dan penggunaan zat kimia yang dapat menghambat terbentuknya benang spindel seperti kolkisin (Moore 1976: 38, Crowder 1993: 297). Allopoliploidi merupakan peningkatan jumlah kromosom nonhomolog akibat penyatuan gamet-gamet yang belum tereduksi ($2n$) dari jenis diploid yang berbeda (hibridisasi interspesifik) (Elrod & Stansfield 2007: 149).

Peristiwa poliploid biasa terjadi pada tumbuhan. Sejumlah tumbuhan triploid maupun tetraploid menunjukkan fenotipe yang lebih kuat daripada tumbuhan diploid (Elrod & Stansfield 2007: 149). Beberapa tanaman pangan, hortikultura, dan tanaman hias memiliki jumlah kromosom poliploid yang estetik dan bermanfaat bagi manusia. Jagung dengan jumlah kromosom tetraploid ($4n$) menghasilkan tepung dengan kandungan vitamin A lebih tinggi, biji semangka triploid ($3n$) menghasilkan semangka yang tidak berbiji, dan bunga *marigold* ($3n$) memiliki bunga yang lebih besar dibandingkan jenisnya yang diploid ($2n$) (Crowder 1993: 295, 300, 303).

Aneuploidi merupakan perubahan jumlah kromosom yang tidak melibatkan seluruh set kromosom, tapi hanya sebagian dari suatu set. Aneuploidi dapat terjadi karena kromosom yang gagal berpisah (*non disjunction*) dari satu pasang kromosom homolog (Crowder 1993: 309). Monosomik ($2n-1$) dapat terjadi karena terdapat kromosom tunggal tanpa pasangannya yang pergi menuju salah satu kutub saat meiosis atau kromosom tunggal tanpa pasangan yang tertinggal saat anafase dan tidak bergabung dengan nukleus manapun. Aneuploidi dapat terjadi monosomik ($2n-1$), trisomik ($2n+1$), tetrasomik ($2n+2$), trisomik ganda ($2n+1+1$), dan nulosomik ($2n-2$) (Elrod & Stansfield 2007: 150).

2.2.4. Pembuatan Sediaan Kromosom

Penghitungan jumlah kromosom umumnya dilakukan pada bagian sel-sel yang sedang aktif membelah, terutama pada tahap pembelahan metafase. Pada tahap metafase, kromosom dalam keadaan terkondensasi maksimal sehingga mudah untuk diamati (Karp 1991: 1, Jong 1997: 4). Sel-sel yang aktif membelah tersebut terdapat pada jaringan yang memiliki kecepatan pembelahan sangat tinggi dan dikenal sebagai jaringan meristematik. Jaringan meristematik pada tumbuhan dapat ditemukan di ujung akar atau pucuk tanaman. Kedua bagian jaringan tanaman ini sering dipergunakan untuk analisis kromosom somatik. Polen atau ovul yang sedang berkembang pada kuncup bunga dipergunakan untuk analisis kromosom gamet (Jong 1997: 4). Ujung akar yang digunakan dalam keadaan segar dan berwarna putih cerah, yang merupakan ciri sel-sel yang aktif membelah (meristematik) (Karp 1991: 4).

Teknik pembuatan sediaan kromosom tumbuhan terdiri atas metode yaitu sayatan melintang parafin (Sass 1958: 108) dan metode *squash* (Jong 1997: 3). Metode *squash* lebih umum digunakan untuk membuat sediaan kromosom karena relatif lebih cepat dan akurat (Jong 1997: 3). Secara umum metode *squash* untuk analisis kromosom tanaman terdiri dari beberapa tahapan. Tahapan tersebut meliputi pengumpulan akar, perlakuan awal (*pre-treatment*), fiksasi, hidrolisis, dan pewarnaan (Karp 1991: 1). Pada penelitian ini pengumpulan akar dari tanaman hasil kultur jaringan dilakukan pada akar yang tumbuh menancap dalam media agar. Tanaman yang sudah diambil akarnya segera ditanam kembali (subkultur) pada waktu yang sama (Karp 1991: 4).

Perlakuan awal (*pre-treatment*) diperlukan untuk memperbanyak jumlah sel yang berada pada tahap metafase. Tahap tersebut menggunakan senyawa kimia sebagai penghambat pembentukan benang-benang *spindle*. Senyawa kimia yang biasa digunakan adalah 8-hidroksi quinolin (OQ), kolkisin, dan paradiklorobenzen (PDB). Tahapan selanjutnya adalah fiksasi. Fiksasi dilakukan untuk mematikan dan mempertahankan struktur sel menggunakan larutan kimia. Larutan kimia yang biasa digunakan untuk metode *squash* berbahan dasar alkohol. Larutan yang umum digunakan adalah larutan Farmer (etanol : asam

asetat glasial = 3: 1) atau larutan Carnoy (etanol : asam asetat glasial : formalin = 2:1:1) (Jong 1997: 5--6).

Tahapan selanjutnya adalah hidrolisis. Tujuan hidrolisis adalah untuk memutuskan lamella tengah antar sel sehingga sel mudah menyebar ketika di-*squash* sehingga sel tidak bertumpuk (Jong 1997: 33). Hidrolisis biasa dilakukan menggunakan larutan HCl. Tahapan akhir adalah pewarnaan dengan tujuan untuk mewarnai kromosom sehingga mudah diamati. Pewarna yang umumnya digunakan pada metode tersebut adalah aseto-orcein, aseto-carmin, dan Feulgen (Jong 1997: 6--7).

2.3. Regenerasi Tanaman dengan Teknik Kultur Jaringan

2.3.1. Kultur Jaringan

Kultur jaringan merupakan suatu teknik mengembangbiakkan bagian tanaman dalam suatu lingkungan yang terkendali dan aseptik (bebas mikroorganisme). Tujuan kultur jaringan diantaranya untuk konservasi, produksi bibit unggul seperti tanaman bebas penyakit, konservasi tanaman atau studi produksi metabolit sekunder (Santoso & Nursandi 2003: 141).

Murashige (1974) (*lihat Jha & Ghosha 2005: 50*) menyatakan bahwa terdapat 3 tahap dalam kultur jaringan yaitu upaya menciptakan kondisi kultur yang aseptik, perbanyakan propagul, dan persiapan propagul untuk dipindahkan ke lapangan. Debergh dan Maene (1981) (*lihat Jha & Ghosha 2005: 50*) menyatakan bahwa seleksi tanaman induk dan persiapan tanaman stok adalah tahapan yang terpisah.

George & Sherrington (1984) menyatakan bahwa pada umumnya terdapat 5 tahapan dalam kultur jaringan, yang dimulai dengan Tahap 0 yaitu: seleksi tanaman induk. Sebelum dipergunakan sebagai bahan kultur jaringan, tanaman harus diseleksi terlebih dahulu. Tanaman yang akan dipergunakan harus dalam keadaan sehat. Selanjutnya Tahap I adalah menciptakan kondisi kultur yang aseptik. Tanaman yang tumbuh di alam berinteraksi dengan berbagai mikroba, oleh karena itu diperlukan sterilisasi permukaan eksplan (bahan tanaman). Tahap

II adalah perbanyakan propagul. Propagul merupakan organ yang diperbanyak, seperti meristem, tunas aksilar, nodus dan lain-lain. Metode yang digunakan antara lain perbanyakan tunas baru dari tunas aksilar, kultur nodus, atau organogenesis langsung dan tidak langsung. Tahap III diawali dari pengakaran tunas untuk persiapan aklimatisasi. Tunas yang diperbanyak pada tahap II berukuran kecil (tunas mikro). Pada tahap III, tunas mikro mengalami pertumbuhan dan pengakaran. Tahap IV adalah pemindahan tanaman *in vitro* ke lapangan. Tanaman yang hidup dalam botol, diberi perlakuan agar dapat bertahan hidup di lapangan. Tanaman harus dapat bertahan hidup tanpa pemberian sumber karbon dengan kelembaban yang rendah dan intensitas cahaya yang tinggi (George & Sherrington 1984: 44--48; Jha & Ghosha 2005: 50--52).

2.3.2. Metode Perbanyakan Tanaman dengan Teknik Kultur Jaringan

Beberapa metode perbanyakan tanaman meliputi perbanyakan tunas baru dari tunas aksilar; dan pembentukan tunas adventif dan embrio somatik adventif. Perbanyakan tunas baru dari tunas aksilar dapat diawali dari kultur meristem, kultur tunas, dan mikrostek. Perbanyakan dapat dilakukan langsung melalui perbanyakan tunas atau melalui pembentukan embrio somatik. Pembentukan tunas adventif dan embrio somatik adventif dapat dilakukan melalui morfogenesis langsung ataupun tidak langsung. Morfogenesis atau organogenesis langsung dapat membentuk tunas secara langsung dari eksplan. Morfogenesis tidak langsung melalui pembentukan kalus terlebih dahulu sebelum membentuk tunas atau embrio somatik. Metode perbanyakan secara tidak langsung biasanya tidak digunakan untuk mikropropagasi karena kurangnya stabilitas genetik yang dihasilkan (Santoso & Nursandi 2003: 146, Jha & Ghosha 2005: 51).

2.3.3. Variasi Genetik dalam Kultur Jaringan

Variasi genetik merupakan salah satu fenomena yang terjadi pada kultur jaringan. Penyebab terjadinya variasi genetik antara lain:

1. Subkultur yang berulang

Variasi genetik dapat terjadi akibat subkultur yang terus menerus berulang. Kalus yang lebih sering disubkultur mengalami stabilitas genetik yang lebih terganggu. Constantin *dkk.* (1978) lihat George & Sherrington (1984: 78) melaporkan bahwa kultur kalus pada tembakau dalam jangka waktu yang lama mengalami perubahan secara morfologi dan tanaman hasil regenerasinya tidak menghasilkan biji. Hal tersebut berbeda dengan tembakau yang hanya dua kali mengalami subkultur.

2. Penggunaan bahan kimia.

Penggunaan bahan kimia pada kadar tertentu dapat menyebabkan tanaman mengalami mutagenesis. Misalnya, penggunaan zat pengatur tumbuh 2, 4-D dengan konsentrasi tinggi dan penggunaan kolkisin. Jha & Roy (1982) lihat George & Sherrington (1984: 76) melaporkan bahwa jumlah kromosom *Vigna sinensis* saat dikultur menggunakan NAA (*Naphtalene Acetic Acid*) mencapai jumlah kromosom sextaploid, sementara saat dikultur menggunakan 2,4-D mencapai jumlah kromosom oktaploid.

3. Penggunaan teknik kultur tertentu

Penggunaan teknik kultur menjadi salah satu faktor adanya variasi genetik. Variasi tersebut terjadi akibat mutasi gen. Misalnya, poliploidi meningkat pada kultur suspensi sel *Hevea*, tetapi menurun ketika *Hevea* dikulturkan kembali dalam bentuk kalus pada medium padat (Wilson *dkk.* 1976 lihat George & Sherrington 1984: 77).

(George & Sherrington 1984: 74--78, Santoso & Nursandi 2003: 175).

Beberapa penelitian telah dilakukan untuk mengetahui variasi dan stabilitas kromosom dengan berbagai teknik kultur jaringan. Ermayanti *dkk.* (1993: 375) melaporkan bahwa pada sel kultur akar *Swainsona galegifolia* lebih dari 90% jumlah kromosomnya sama dengan tanaman induk, sedangkan akar hasil regenerasi kalus hanya 15% jumlah kromosomnya sama dengan tanaman induk. Selain itu, Ermayanti *dkk.* (2002: 127) melaporkan bahwa terdapat variasi jumlah kromosom kultur akar pada tanaman *Artemisia cina* yang ditransformasi menggunakan *Agrobacterium rhizogenes* strain ATCC-8196, 07-20001, ATCC-15834, A4, dan *Agrobacterium tumefeciens* R1000.

Variasi genetik umum terjadi pada kultur kalus dan suspensi sel karena munculnya sifat instabilitas kromosom yang mungkin terjadi akibat teknis kultur, media, atau hormon. Instabilitas kromosom yang terjadi meliputi perubahan struktur dan jumlah kromosom. Variasi genetik dapat terjadi akibat adanya endomitosis, euploidisasi, dan aneuploidisasi. Endomitosis adalah proses pembelahan inti tanpa pembelahan dinding sel. Euploidisasi adalah proses variasi sejumlah set dasar kromosom (genom). Aneuploidisasi adalah proses variasi jumlah kromosom akibat adanya pengurangan atau penambahan sejumlah kromosom (Santoso & Nursandi 2003: 175--176).



BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1. Lokasi dan Waktu

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biak Sel dan Jaringan Tanaman, Pusat Penelitian Bioteknologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Cibinong, Jawa Barat mulai bulan September 2010 hingga Februari 2012.

3.2. Alat

3.2.1. Peralatan Kultur Jaringan

Alat yang digunakan dalam pengerjaan kultur jaringan adalah *Laminar Air Flow Cabinet* [Aneka Lab Type H.S. 079S], timbangan digital analitik [Precisa 303 A], pH meter [Eutech Instruments pH 510], pemanas listrik (*Hot plate-magnetic stirrer*) [Thermolyne Chimarec], autoklaf [Everlight TA-630], oven [Jouan], rak kultur, pipet volumetrik [Din], dan *Sprayer*.

3.2.2. Peralatan Analisis Jumlah Kromosom

Peralatan yang digunakan untuk analisis jumlah kromosom adalah mikroskop cahaya [Will Wetzlar], pinset, cawan petri, skalpel, pipet tetes, bunsen, corong, “*hand counter*”, dan alat tulis.

3.3. Bahan

3.3.1. Bahan Kultur Jaringan

3.3.1.1. Bahan Perbanyak Tunas

Bahan yang digunakan untuk perbanyak tunas adalah tanaman (planlet) *Taraxacum officinale* hasil regenerasi *in vitro* yang berasal dari eksplan akar, helai daun, dan tangkai daun; dan medium MS (Murashige & Skoog, 1962) (Lampiran 1) dengan penambahan 0,5 dan 1,0 mg/L BAP (Benzil Amino Purin).

3.3.1.2. Bahan Perakaran

Bahan yang digunakan untuk perakaran adalah tunas *Taraxacum officinale* hasil regenerasi *in vitro* (perbanyak tunas) yang berasal dari eksplan akar, helai daun, dan tangkai daun; dan medium MS (Murashige & Skoog, 1962) yang mengandung unsur hara makro 1/2 konsentrasi normalnya (1/2 MS). Sebagai kontrol adalah biji tanaman *Taraxacum officinale* yang telah dikedambahkan pada cawan petri beralaskan kertas saring selama 3 hingga 7 hari.

3.3.1.3. Bahan Habis Pakai

Bahan habis pakai yang digunakan untuk kultur jaringan adalah spatula, botol bekas selai dengan tutupnya, botol penyimpan larutan stok, Erlenmeyer [Schott Duran & Iwaki Pyrex], gelas ukur [Vit Lab & Plasti Brand], mata pisau [General care no.11 & GEA Medical no. 21], botol vial, kaca objek, kaca penutup, silet, sarung tangan, dan masker.

3.3.2. Bahan Analisis Jumlah Kromosom

3.3.2.1. Bahan Tanaman

Bahan tanaman yang digunakan untuk analisis jumlah kromosom adalah akar dari kecambah *Taraxacum officinale* (kontrol); dan akar tanaman (planlet) hasil regenerasi *in vitro* yang berasal dari eksplan akar, helai daun, dan tangkai daun yang ditanam pada medium 1/2 MS. Akar yang dipilih adalah akar yang segar dengan ujung akar berwarna putih bening.

3.3.2.2. Bahan Kimia

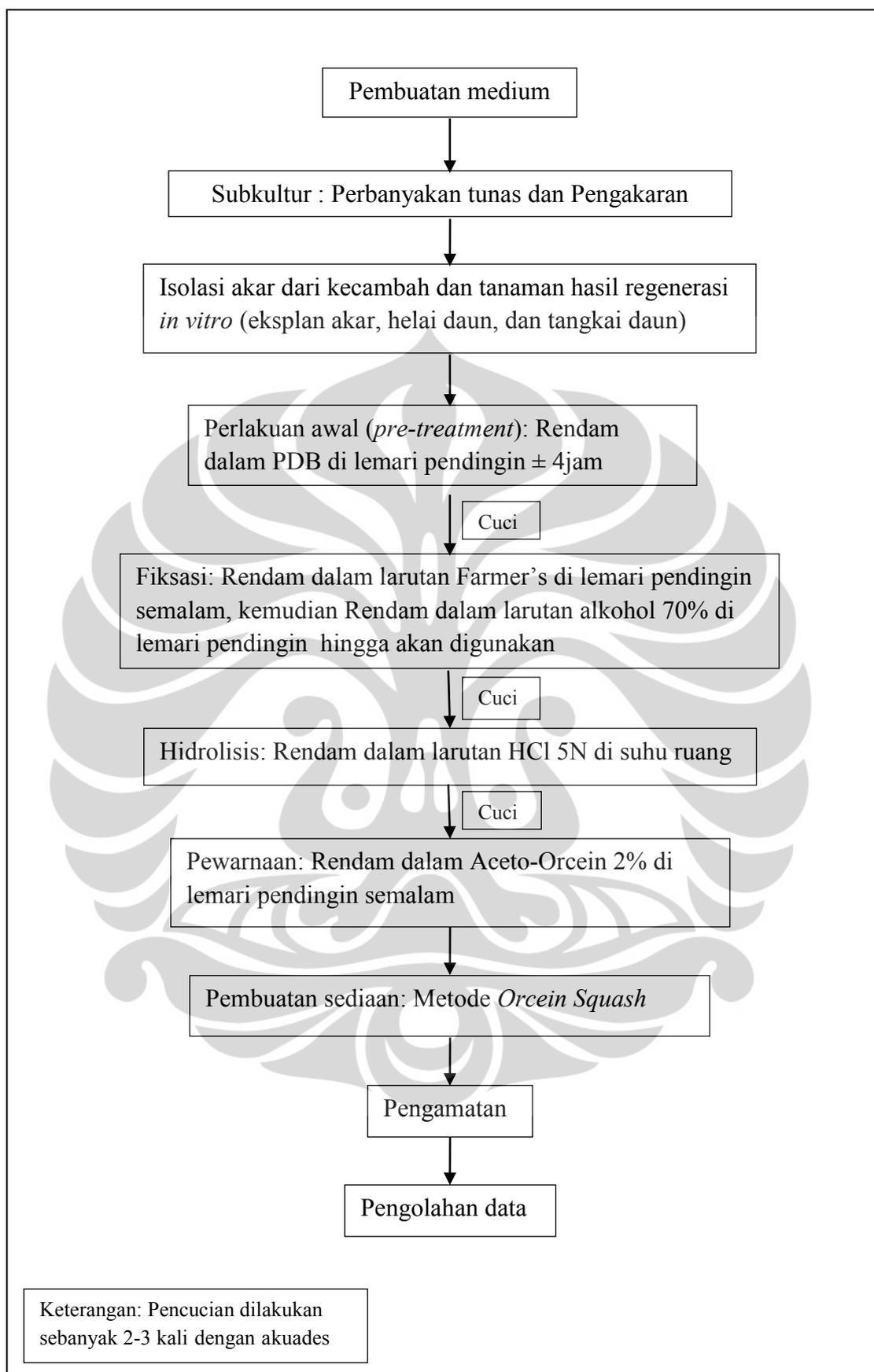
Bahan kimia yang digunakan untuk analisis jumlah kromosom adalah Orcein (Merck); minyak imersi (Merck); Etanol (Merck); HCl (Merck); CH₃COOH (Merck); PDB (Paradiklorobenzen); akuades; dan spirtus.

3.3.2.3. Bahan Habis Pakai

Bahan habis pakai yang digunakan untuk analisis jumlah kromosom adalah kertas tisu, kertas isap, kertas lensa, kertas saring, kertas alumunium (*alumunium foil*), kertas label [Tom & Jerry], isolasi bening (1 cm), cat kuku, korek api.

3.4. CARA KERJA

Skema cara kerja dapat dilihat pada Gambar 3.4.



Gambar 3.4. Skema cara kerja secara umum

3.4.1. Kultur Jaringan

3.4.1.1. Pembuatan Medium

Medium yang digunakan dalam penelitian adalah medium MS dengan penambahan 0,5 mg/L BAP (1/2 B) dan 1,0 mg/L BAP (1 B) untuk perbanyak tunas; dan 1/2 MS (Murashige & Skoog, 1962) untuk perakaran.

Pembuatan medium 1/2 MS sebanyak 1000 ml diawali dengan mempersiapkan alat dan bahan yang akan digunakan. Gula (20 gr), agar (9 gr), dan mio-inositol (0,1 gr) ditimbang. Setelah itu, disiapkan Erlenmeyer 1000 ml, kemudian ke dalam Erlenmeyer dituang secara berturut-turut 800 ml akuades, larutan stok hara makro (25 ml), hara mikro (2 ml), NaFeEDTA (5 ml), dan vitamin (5 ml). Kemudian, gula dan mio-inositol dimasukkan ke dalam Erlenmeyer tersebut. Larutan tersebut diaduk menggunakan *Magnetic Stirrer* hingga larut semua. Setelah larutan tersebut homogen, sambil diaduk, pH medium diatur hingga 5,8 dengan menambahkan HCl 2 M. Setelah itu, medium ditambah dengan agar, selanjutnya akuades hingga volumenya mencapai 1000 ml, kemudian larutan diaduk dan dipanaskan dengan menggunakan *Hot Plate-Magnetic Stirrer*. Setelah mendidih, larutan tersebut dituang ke dalam botol bekas selai. Selanjutnya, botol tersebut ditutup dengan menggunakan tutup botol plastik, diberi label dengan menuliskan nama medium dan disterilkan dalam autoklaf 1 atm selama 20 menit.

Pembuatan medium 1/2 B dan 1 B hampir sama dengan pembuatan medium 1/2 MS, namun unsur hara makro yang digunakan sebanyak 50 ml. Selain itu, ditambahkan 0,5 mg/L BAP untuk medium 1/2 B dan 1,0 mg/L BAP untuk medium 1 B.

3.4.1.2. Subkultur untuk Induksi Akar

Subkultur dilakukan dengan memindahkan tunas hasil regenerasi dari eksplan akar, helai daun, dan tangkai daun yang sudah ditanam pada medium 1/2 B dan 1 B ke dalam medium 1/2 MS di dalam *Laminar Air Flow Cabinet*.

Pertama-tama alkohol 70% disemprotkan pada bagian dalam *Laminar Air Flow Cabinet*, alat dan bahan yang akan digunakan sebelum dimasukkan ke dalam *Laminar Air Flow Cabinet*. Pinset, mata pisau, dan bagian botol kultur yang berisi tanaman (1/2 B dan 1 B) dilewatkan di atas bunsen. Setelah itu, tutup botol dibuka dan mulut botol dilewatkan di atas bunsen, satu rumpun tanaman diambil dan dipindahkan ke dalam cawan petri yang beralaskan tisu dengan menggunakan pinset steril. Bagian tanaman yang rusak seperti daun yang menguning dipotong dan dibuang. Kemudian, setiap tanaman dalam satu rumpun dipilah dan dipisahkan untuk ditanam kembali dalam botol berisi medium 1/2 MS. Setiap botol kultur diisi 4 tanaman dengan jarak tanam masing-masing tanaman hampir sama. Botol kultur ditutup setelah mulut botol dilewatkan di atas bunsen. Setelah itu, botol kultur diberi label dengan menuliskan data asal eksplan, medium yang digunakan, dan tanggal penanaman.

3.4.2. Analisis Jumlah Kromosom

3.4.2.1. Pembuatan Larutan Stok Pewarna Aceto-Orcein 2%

Larutan pewarna Aceto-orcein 2% dibuat dengan cara melarutkan 2 gr orcein ke dalam 100 ml larutan asam asetat 45%. Larutan tersebut kemudian dipanaskan sambil diaduk selama 30 menit dengan *Hot Plate-Magnetic Stirrer*. Setelah 30 menit dan tercampur rata, larutan didinginkan. Setelah dingin, larutan disaring dengan kertas saring. Larutan pewarna Aceto-orcein disimpan dalam lemari pendingin hingga saat digunakan (Jong 1997: 61).

3.4.2.2. Persiapan Analisis Sitologi pada Tanaman Hasil Regenerasi *In Vitro*

Analisis sitologi yang dilakukan dalam penelitian untuk menghitung jumlah kromosom dengan cara pengumpulan akar, perlakuan awal (*pretreatment*), fiksasi, hidrolisis, pewarnaan, dan pembuatan preparat kromosom. Metode yang digunakan adalah modifikasi Karp (1991) dan Jong (1997).

Persiapan awal analisis sitologi adalah pengumpulan akar (isolasi akar). Isolasi akar tanaman hasil regenerasi *in vitro* dilakukan di dalam *Laminar Air Flow Cabinet*. Tanaman yang sudah berakar dikumpulkan dan dipilih. Akar yang diisolasi adalah akar yang segar dan memiliki ujung berwarna putih bening. Setelah alat dan bahan dipersiapkan, alkohol 70% disemprotkan di bagian dalam *Laminar Air Flow Cabinet*, alat, dan bahan yang akan dimasukan kedalamnya.

Pinset, mata pisau, dan tutup botol kultur dilewatkan di atas api bunsen. Setelah tutup botol kultur dibuka, mulut botol tersebut dilewatkan pula di atas api Bunsen, kemudian, tanaman yang berakar dikeluarkan dari botol menggunakan pinset steril lalu diletakkan di atas cawan petri beralaskan tisu. Akar tanaman tersebut dipotong menggunakan pisau steril pada bagian pangkalnya. Panjang akar yang diambil sekitar 0,1 cm hingga 8,0 cm. Setelah itu, akar dimasukkan ke dalam cawan petri berisi akuades selama kurang dari satu menit. Tanaman yang akarnya sudah diambil, ditanam kembali ke dalam botol kultur berisi medium 1/2 MS.

Akar yang telah diisolasi tersebut kemudian dimasukkan ke dalam botol vial berisi PDB (Paradiklorobenzen) jenuh sebagai perlakuan awal (*pretreatment*). Akar yang berasal dari satu tanaman disimpan dalam satu botol vial, dipisahkan dengan tanaman lain. Botol vial tersebut diberi label dengan menuliskan data asal eksplan, umur tanaman, dan waktu pengambilan akar.

Tahap fiksasi dilakukan setelah akar direndam dalam PDB selama 4 jam dalam lemari pendingin. Sementara akar direndam, larutan fiksasi Farmer (Jong 1997: 6) disiapkan. Larutan fiksasi terdiri dari 3 bagian etanol dan 1 bagian asam asetat glasial. Kedua bahan larutan tersebut dicampurkan sesaat sebelum dimasukkan ke dalam botol vial. Sebelum akar direndam dalam larutan fiksasi, akar dicuci terlebih dahulu dengan menggunakan akuades sebanyak 2--3 kali.

Pencucian akar dengan akuades selalu dilakukan setiap pergantian larutan. Larutan yang terdapat di dalam botol vial dibuang. Setelah itu, akuades dimasukkan secara langsung ataupun menggunakan pipet tetes ke dalam botol vial. Setelah kurang lebih satu menit, akuades dalam botol vial dibuang. Hal ini dilakukan sebanyak 2--3 kali.

Perendaman akar dalam larutan fiksasi Farmer dilakukan selama semalam dalam lemari pendingin, setelah itu larutan fiksasi diganti, akar dicuci terlebih dahulu sebanyak 2--3 kali lalu dimasukkan dalam alkohol 70%. Selanjutnya akar disimpan dalam lemari pendingin hingga akan digunakan dalam pembuatan preparat kromosom.

3.4.2.3. Persiapan Analisis Sitologi pada Kecambah (kontrol)

Tahapan yang dilakukan dalam pengambilan akar dari kecambah biji (kontrol) hampir sama dengan tahapan dalam pengambilan akar tanaman hasil regenerasi *in vitro*. Perbedaannya terletak pada tahap isolasi akar kecambah biji tidak dilakukan di dalam *Laminar Air Flow Cabinet*. Biji dibersihkan, kemudian dikecambahkan di atas cawan petri beralaskan kertas tisu, dalam cawan petri. Satu cawan petri berisi sekitar 20 biji hingga 25 biji. Setelah biji-biji tersebut diatur, ditetaskan air ke dalam cawan petri hingga lembab. Biji dikecambahkan pada suhu ruang selama 3 hingga 7 hari.

Ujung akar kecambah yang berwarna putih bening dan dalam kondisi segar dimasukkan ke dalam botol vial berisi PDB (Paradiklorobenzen). Kemudian botol berisi akar tersebut diberi label dan disimpan dalam lemari pendingin selama kurang lebih 4 jam, setelah itu, akar dicuci dengan akuades sebelum direndam dengan larutan fiksasi Farmer. Setelah akar direndam selama semalam dalam lemari pendingin, akar dicuci dan direndam dengan alkohol 70%. Akar tersebut disimpan dalam lemari pendingin hingga akan digunakan.

3.4.2.4. Pembuatan Sediaan Kromosom

Pembuatan sediaan kromosom pada akar dari kecambah (kontrol) dan akar dari tanaman hasil regenerasi *in vitro* memiliki tahapan dan metode yang sama. Pembuatan sediaan kromosom diawali dengan tahap hidrolisis.

Tahap hidrolisis dilakukan terhadap akar yang akan digunakan untuk membuat sediaan kromosom. Pertama-tama, alat dan bahan dipersiapkan, akar yang akan digunakan dipilih dan dicuci terlebih dahulu sebanyak 2--3 kali dengan

akuades. Larutan hidrolisis adalah asam klorida (HCl) dengan konsentrasi 5N. Setelah dicuci, akar direndam dalam larutan hidrolisis selama kurang lebih 15 menit dalam suhu ruang.

Pewarnaan dilakukan dengan menggunakan larutan pewarna Aceto-orcein 2%. Setelah dihidrolisis, akar dicuci dengan akuades sebanyak 2--3 kali, kemudian akar direndam dalam larutan pewarna Aceto-orcein selama semalam dalam lemari pendingin. Setelah itu, dibuat preparat kromosom.

Metode yang digunakan dalam pembuatan preparat kromosom adalah modifikasi metode *Orcein Squash* yang mengacu pada Karp (1991). Akar yang sudah direndam orcein semalam, dituangkan ke dalam cawan petri kecil. Kemudian, kaca objek dibersihkan menggunakan tisu yang sudah dibasahi dengan alkohol 70%. Asam asetat 45% diteteskan di atas kaca objek lalu akar diletakkan di atasnya. Setelah itu, tudung akar dibuang dan ujung akar dipotong sekitar 1--2 mm. Ujung akar ditutup dengan kaca penutup. Pewarna dan larutan yang berlebih kemudian diserap dengan kertas tisu, kemudian bagian tepi kaca penutup ditekan dan diketuk-ketuk dengan menggunakan ujung batang korek api agar sel-sel ujung akar tampak menyebar. Pengetukan dilakukan dengan hati-hati agar kaca penutup tidak bergeser.

Sediaan kemudian diletakkan di bawah lipatan kertas tisu untuk di *squash* dengan menekan sediaan menggunakan ibu jari secara perlahan. Sediaan tersebut kemudian dilapisi setiap sisi kaca penutupnya dengan cat kuku agar tidak ada udara masuk. Setelah itu, sediaan diberi label dengan menuliskan data asal eksplan, waktu pengambilan akar, nomor akar, umur tanaman, dan tanggal pembuatan sediaan. Sediaan yang sudah diberi label siap diamati di bawah mikroskop cahaya.

3.4.2.5. Pengamatan

Pengamatan dilakukan di bawah mikroskop cahaya yang disambungkan dengan monitor komputer. Sediaan diamati dengan perbesaran 400x, dicari bagian meristem akar yang ditandai dengan struktur sel yang relatif sama dan sedang aktif membelah. Kemudian, diamati sel dalam tahap profase akhir

ataupun metafase yang masih utuh dengan kromosom yang menyebar sehingga dapat dihitung. Setelah menemukan sel dengan penyebaran kromosom yang jelas, sediaan ditetesi dengan minyak imersi dalam lensa dan dipindahkan pada perbesaran 800x. Setelah itu, dilakukan penghitungan jumlah kromosom pada setiap selnya dengan menggunakan “*hand counter*”. Penghitungan dilakukan minimal terhadap 20 tanaman untuk masing-masing eksplan dengan jumlah sel yang dihitung paling banyak 10 sel terbaik yang mengandung kromosom menyebar. Untuk satu sel, penghitungan dilakukan sebanyak 2--3 kali, kemudian dicatat dalam tabel dan dihitung persentasenya terhadap total sel yang diperoleh. Pengambilan gambar dilakukan pada sel yang memiliki kromosom dengan sebaran terbaik. Penghitungan tidak dilakukan pada sel yang rusak ataupun kromosom yang tumpang tindih.

3.4.2.6. Pengolahan Data

Data yang diperoleh ditampilkan dalam bentuk “*bar chart*” (grafik), tabel dan matrik yang memperlihatkan distribusi jumlah kromosom pada masing-masing eksplan dari hasil regenerasi *in vitro* maupun kecambah (kontrol).

BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 HASIL

4.1.1. Jumlah Kromosom pada Tanaman Hasil Regenerasi *In Vitro* dan Kecambah *Taraxacum officinale*

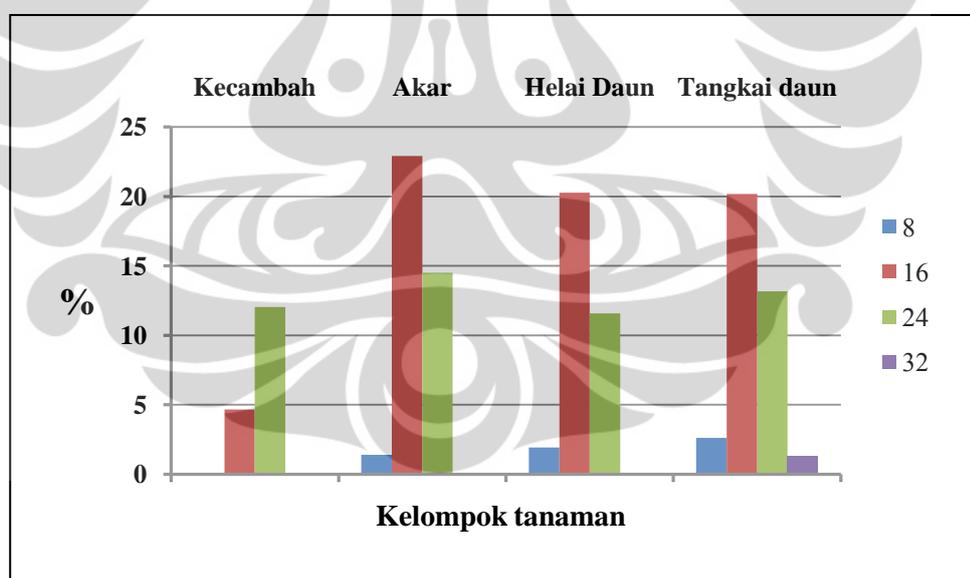
Hasil pengamatan jumlah kromosom planlet *Taraxacum officinale* hasil regenerasi *in vitro* dari eksplan akar, helai daun, tangkai daun, dan kecambah (kontrol) ditampilkan dalam Tabel 4.1.1. yang memperlihatkan variasi jumlah kromosom dari berbagai sumber akar. Variasi jumlah kromosom masing-masing tanaman hasil regenerasi maupun kecambah ditampilkan dari kisaran jumlah kromosom terkecil hingga jumlah kromosom terbesar.

Tabel 4.1.1. Distribusi jumlah kromosom dari planlet hasil regenerasi *in vitro* dan kecambah *Taraxacum officinale*

Akar tanaman regenerasi dari	Distribusi kromosom (2n)								Kisaran jumlah kromosom
	8 (%)	9--15 (%)	16 (%)	17--23 (%)	24 (%)	25--31 (%)	32 (%)	>32 (%)	
Akar	3 (1,40)	30 (14)	49 (22,90)	91 (42,52)	31 (14,49)	9 (4,20)	0	1 (0,47)	8--39
Helai Daun	6 (1,93)	63 (20,26)	63 (20,26)	114 (36,66)	36 (11,58)	26 (8,36)	0	3 (0,96)	8--39
Tangkai daun	6 (2,63)	38 (16,67)	46 (20,18)	89 (39,04)	30 (13,16)	15 (6,58)	3 (1,32)	1 (0,44)	8--39
Kecambah (Kontrol)	0	29 (4,36)	31 (4,66)	382 (57,44)	80 (12,03)	139 (20,90)	0	4 (0,60)	10--38

Akar planlet *T. officinale* hasil regenerasi dari akar, helai daun, dan tangkai daun memiliki kisaran jumlah kromosom yang sama, yaitu 8--39, perbedaannya hanya pada persentase jumlah kromosom pada masing-masing tanaman hasil regenerasi organ yang berbeda. Akar kecambah *T. officinale* (kontrol) memiliki kisaran jumlah kromosom yang sedikit berbeda dari akar tanaman regenerasi yaitu 10--38.

Distribusi kromosom dari ketiga kelompok tanaman (regeneran) *T. officinale* memiliki pola yang hampir sama (Gambar 4.1.1.). Hal tersebut dilihat dari sebaran sel-sel diploid; haploid; triploid; dan tetraploidnya. Persentase sel-sel diploid ($2n = 2x = 16$) dari ketiga kelompok tanaman dan kecambah kurang dari 25%. Jumlah munculnya sel-sel diploid pada akar tanaman hasil regenerasi lebih besar dibandingkan dengan sel-sel pada akar kecambah (kontrol). Persentase sel-sel diploid tertinggi dicapai oleh akar tanaman hasil regenerasi dari akar (22,90%) dan terendah oleh akar dari kecambah (kontrol) (4.66%). Persentase sel-sel triploid ($2n = 3x = 24$) dari ketiga kelompok tanaman dan akar kecambah tersebut tidak jauh berbeda yaitu berkisar antara 11,58%--14,49% . Pada semua kelompok akar tanaman hasil regenerasi ditemukan sel dengan jumlah kromosom sama dengan jumlah kromosom haploidnya ($2n = x = 8$), kecuali pada akar yang berasal dari kecambah (kontrol). Hanya tanaman hasil regenerasi dari tangkai daun yang memiliki sel dengan jumlah kromosom sama dengan jumlah kromosom tetraploidnya ($2n = 4x = 32$). Akar kecambah hanya memiliki jumlah kromosom $2n = 2x = 16$ dan $2n = 3x = 24$.

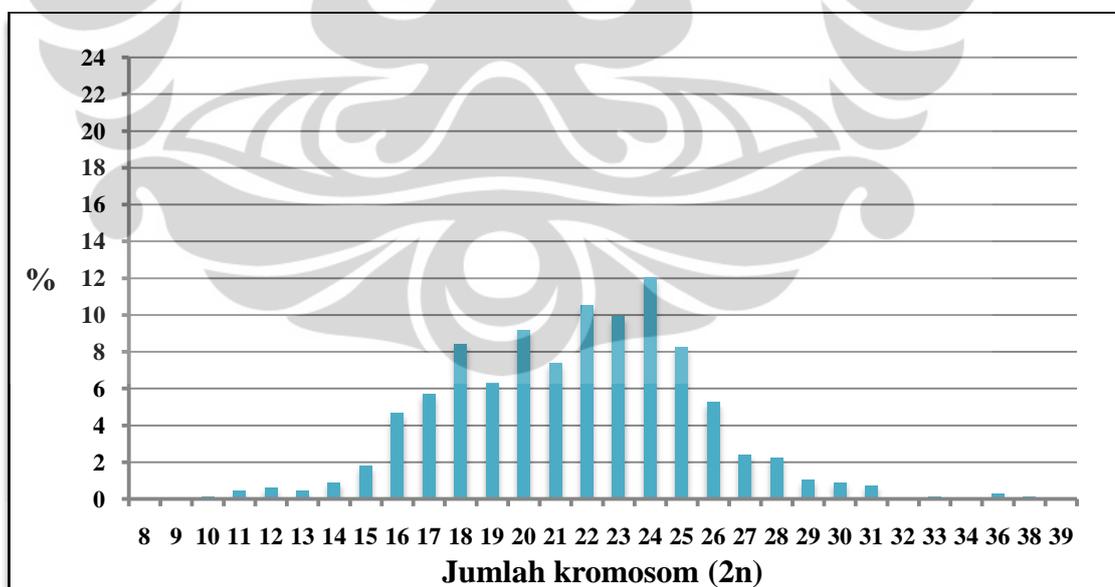


Gambar 4.1.1. Grafik perbandingan sel-sel euploid pada tanaman hasil regenerasi *in vitro* dan kecambah (kontrol) *Taraxacum officinale*

4.1.2. Deskripsi Sebaran Jumlah Kromosom pada Kecambah (Kontrol)

Taraxacum officinale Weber ex F.H. Wigg

Jumlah kromosom dari akar kecambah *T. officinale* berkisar antara 10--38 (Gambar 4.1.2.). Sel-sel dengan jumlah kromosom $2n = 10$ --31 setidaknya ditemukan pada 1 sel untuk masing-masing jumlah kromosom. Sementara sel-sel dengan jumlah kromosom $2n = 16$ --26, masing-masing ditemukan pada lebih dari 30 sel dan memiliki sebaran yang padat dengan nilai persentase lebih dari 4,5% jika dibandingkan dengan nilai persentase jumlah kromosom lainnya ($2n = 10$ --15 dan 29--38) yang kurang dari 2%. Sel dengan jumlah kromosom triploid ($2n = 3x = 24$) merupakan sel terbanyak yaitu 80 sel dari 55 akar (12,03%) diikuti oleh sel-sel dengan jumlah kromosom $2n = 2x+6 = 22$ sebanyak 70 sel (10,53%) dari 43 akar dan sel-sel $2n = 2x+7 = 23$ sebanyak 66 sel (9,92%) dari 42 akar. Sel dengan jumlah kromosom haploid ($2n = x = 8$) dan tetraploid ($2n = 4x = 32$) tidak ditemukan pada kecambah (kontrol), namun, ditemukan 2 sel dengan jumlah kromosom $2n = 4x+2 = 36$ serta 1 sel dengan jumlah kromosom $2n = 4x+1 = 33$ dan $2n = 4x+6 = 38$ (Lampiran 2).

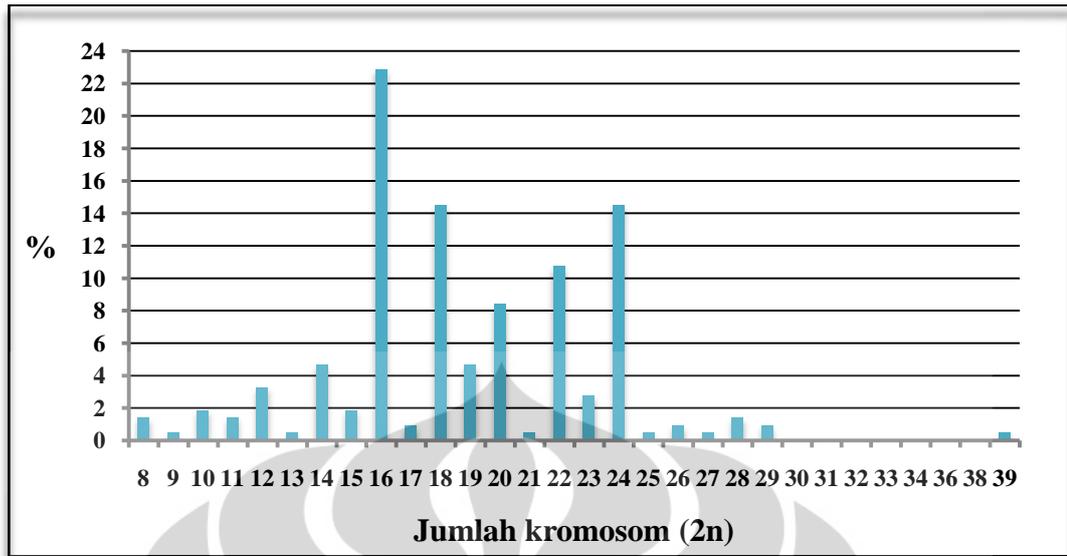


Gambar 4.1.2. Persentase jumlah kromosom pada kecambah (kontrol) tanaman *Taraxacum officinale*

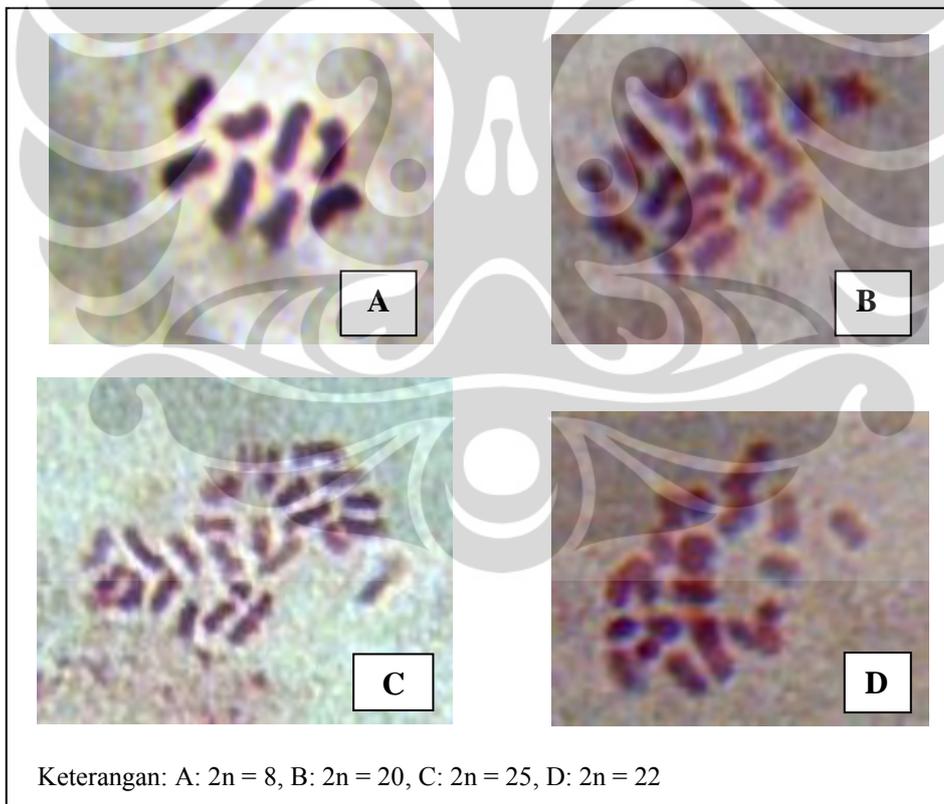
4.1.3. Deskripsi Sebaran Jumlah Kromosom pada Tanaman *Taraxacum officinale* Weber ex F.H. Wigg Hasil Regenerasi Akar

Total sel yang diamati pada tanaman hasil regenerasi akar *T. officinale* adalah sebanyak 214 sel dari 40 akar. Setidaknya terdapat satu sel untuk masing-masing jumlah kromosom pada tanaman hasil regenerasi akar yang mempunyai jumlah kromosom $2n = 8-29$. Sel dengan jumlah kromosom $2n = 30-38$ tidak ditemukan dan hanya terdapat satu sel dengan jumlah kromosom $2n = 39$. Sel-sel dengan jumlah kromosom $2n = 2x = 16$ terdapat dalam jumlah sel terbanyak yaitu 49 sel dari 15 (22,9%) tanaman diikuti sel dengan jumlah kromosom $2n = 2x+2 = 18$ dan $2n = 3x = 24$. Pada tanaman regenerasi dari akar, terdapat 31 sel (14,49%) memiliki kromosom $2n = 2x+2 = 18$ dan $2n = 3x = 24$ (Lampiran 3).

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa tanaman hasil regenerasi dari akar memiliki sel-sel dengan jumlah kromosom yang bervariasi. Terdapat sel-sel dengan jumlah kromosom haploid ($2n = 8$), diploid ($2n = 16$), triploid ($2n = 24$), dan aneuploid. Sel-sel dengan jumlah kromosom haploid memiliki nilai lebih dari 1%, sel-sel diploid memiliki nilai persentase tertinggi (22,9%) diikuti oleh sel-sel triploid dan sel-sel aneuploid ($2n = 2x+2 = 18$) yang memiliki persentase sama (14,49%), namun tanaman hasil regenerasi dari akar tersebut tidak memiliki sel-sel tetraploid ($2n = 4x = 32$) (Gambar 4.1.3(1)). Selain itu, hasil pengamatan juga menunjukkan bahwa sebagian besar sel yang terdapat pada tanaman hasil regenerasi dari akar adalah sel-sel diploid, triploid, dan sel-sel dengan jumlah kromosom $2n = 2x+2 = 18$. Beberapa contoh foto hasil pengamatan kromosom dengan jumlah yang berbeda-beda pada tanaman hasil regenerasi akar ditampilkan pada Gambar 4.1.3.(2).



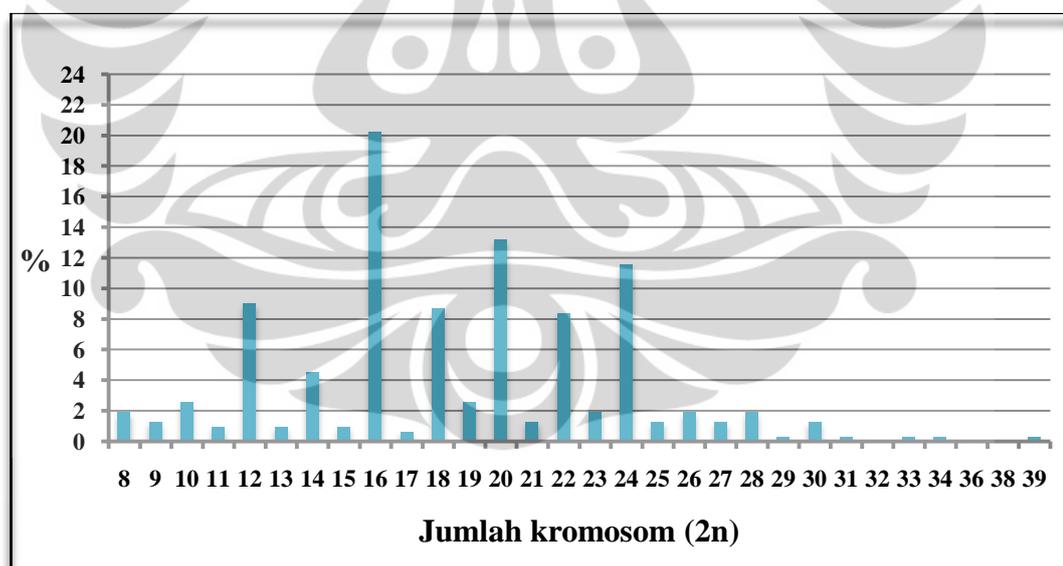
Gambar 4.1.3.(1). Persentase jumlah kromosom pada tanaman *Taraxacum officinale* hasil regenerasi *in vitro* dengan sumber eksplan akar



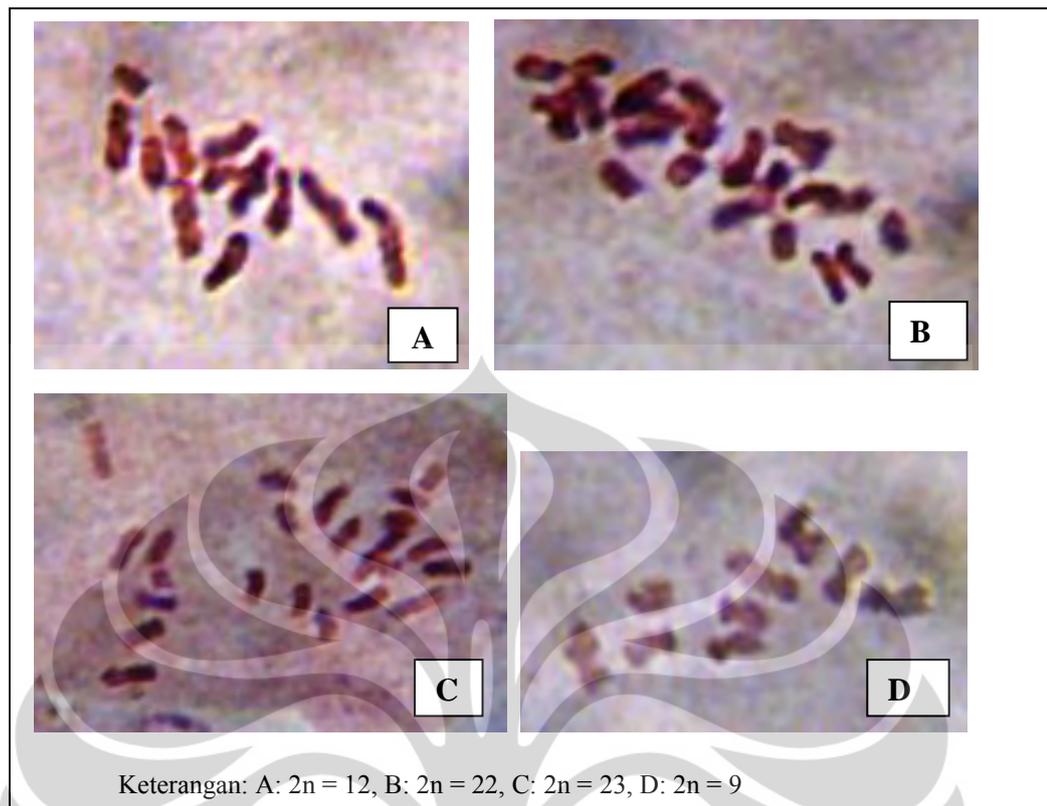
Gambar 4.1.3.(2). Beberapa contoh foto hasil pengamatan jumlah kromosom pada tanaman *Taraxacum officinale* hasil regenerasi *in vitro* dari eksplan akar

4.1.4. Deskripsi Sebaran Jumlah Kromosom pada Tanaman *Taraxacum officinale* Weber ex F.H. Wigg Hasil Regenerasi Helai Daun

Kisaran jumlah kromosom *Taraxacum officinale* hasil regenerasi eksplan helai daun yaitu $2n = 8-39$. (Gambar 4.1.4.(1)). Terdapat setidaknya satu sel dengan jumlah kromosom $2n = 8-31, 33, 34, 39$, namun tidak ada satu sel pun yang memiliki jumlah kromosom $2n = 32, 36, 38$. Kromosom dengan jumlah $2n = 2x = 16$ ditemukan pada 63 sel dari 22 tanaman dan merupakan persentase tertinggi (20,26%) diikuti oleh sel-sel dengan jumlah kromosom $2n = 2x+4 = 20$ (41 sel dari 16 tanaman; 13,18%) dan sel-sel dengan jumlah kromosom $2n = 3x = 24$ (36 sel dari 13 tanaman; 11,58%). Selain itu, sel-sel dengan jumlah kromosom $2n = x+4 = 12$, $2n = 2x+2 = 18$, dan $2n = 2x+6 = 22$ memiliki nilai persentase yang tidak jauh berbeda (8--9%), dan sel-sel haploid ($2n = x = 8$) memiliki nilai persentase hampir mencapai 2%. (Lampiran 4). Beberapa contoh foto kromosom dengan jumlah yang berbeda-beda hasil pengamatan kromosom pada tanaman hasil regenerasi helai daun ditampilkan pada gambar 4.1.4.(2).



Gambar 4.1.4.(1). Persentase jumlah kromosom pada tanaman *Taraxacum officinale* hasil regenerasi *in vitro* dengan sumber eksplan helai daun



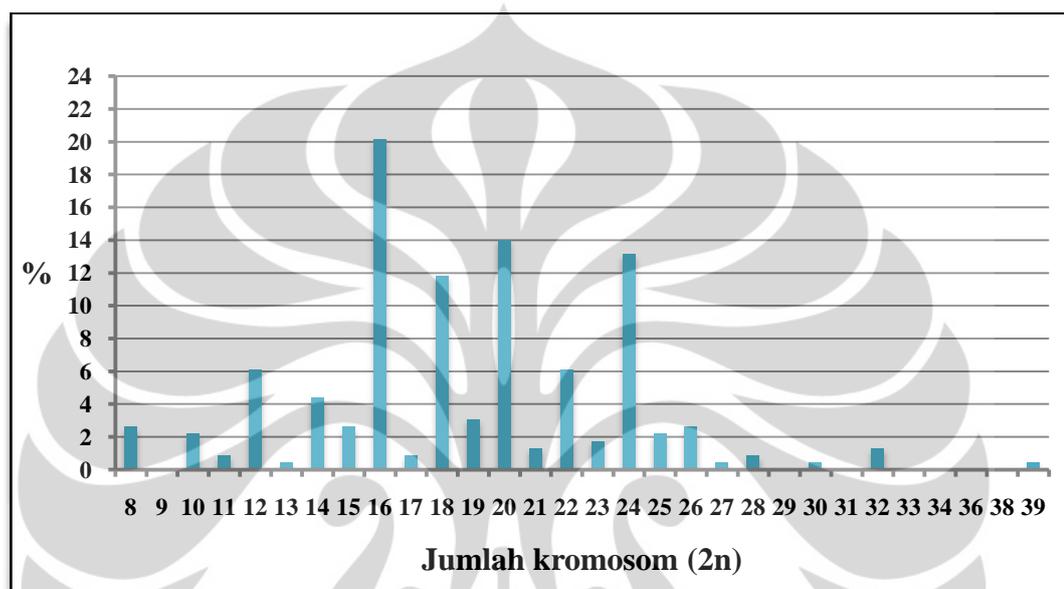
Gambar 4.1.4.(2). Beberapa contoh foto hasil pengamatan jumlah kromosom pada tanaman *Taraxacum officinale* hasil regenerasi *in vitro* dari eksplan helai daun

4.1.5. Deskripsi Sebaran Jumlah Kromosom pada Tanaman *Taraxacum officinale* Weber ex F.H. Wigg Hasil Regenerasi Tangkai Daun

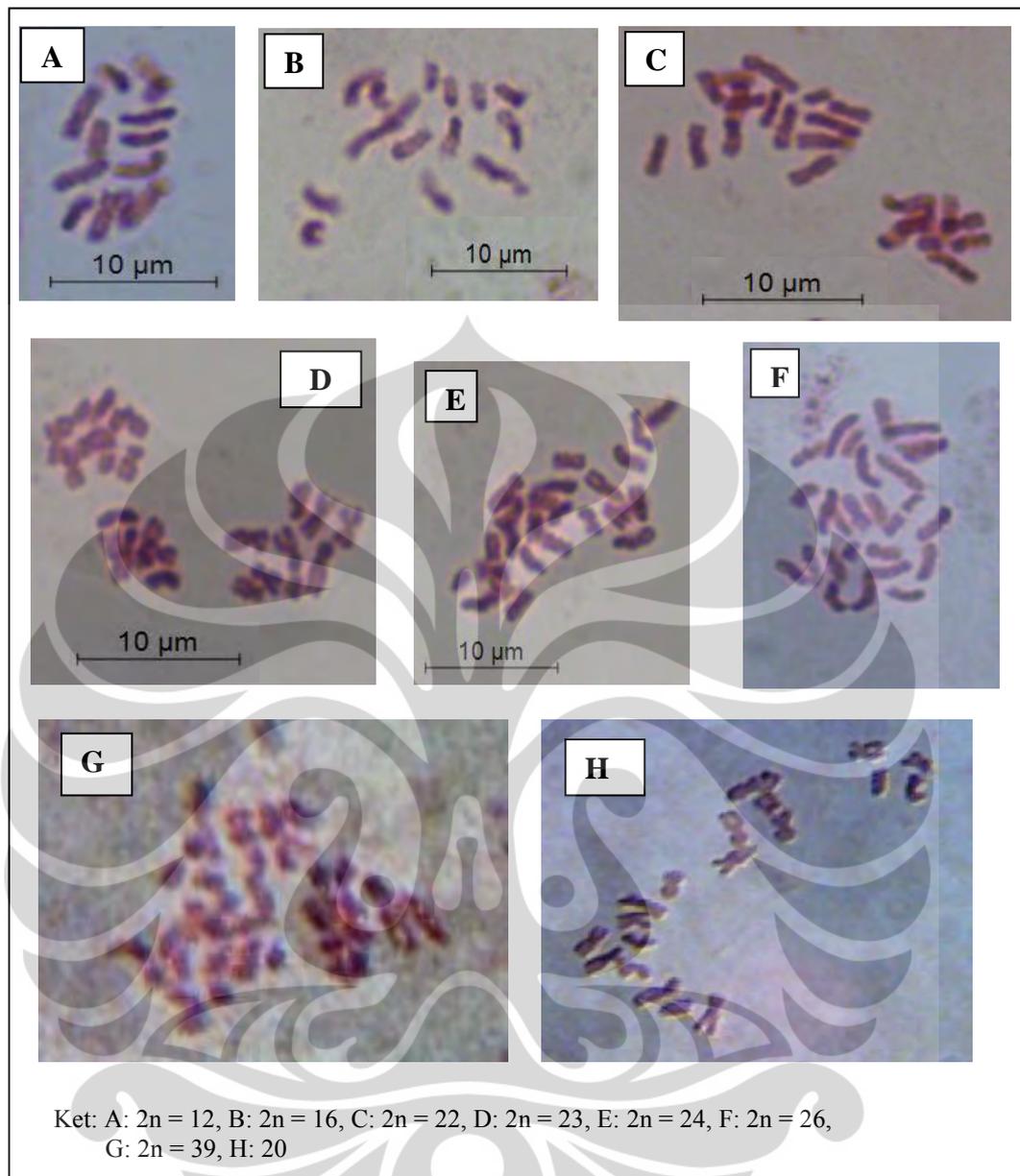
Gambar 4.1.5.(1) menunjukkan sebaran jumlah kromosom dari akar tanaman hasil regenerasi tangkai daun. Pengamatan jumlah kromosom tanaman hasil regenerasi eksplan tangkai daun menggunakan 21 tanaman. Total sel yang berhasil diamati adalah sebanyak 228 sel dari 37 akar. Kisaran jumlah kromosom pada kelompok tanaman tersebut adalah $2n = 8$ --39, namun tidak terdapat sel dengan jumlah kromosom $2n = 9, 29, 31, 33$ --38. Sel yang paling banyak dimiliki oleh tanaman hasil regenerasi dari tangkai daun adalah sel-sel dengan jumlah kromosom diploidnya ($2n = 2x = 16$) yaitu 46 sel dari 16 tanaman (20,18%), diikuti oleh sel aneuploid ($2n = 2x+4 = 20$) sebanyak 32 sel dari 13 tanaman (14,04%) dan sel-sel triploidnya ($2n = 3x = 24$) sebanyak 30 sel dari 12 tanaman

(13,16%). Sel-sel dengan jumlah kromosom $2n = x+4 = 12$ dan $2n = 2x+6 = 22$ memiliki nilai persentase yang sama (6,14%). Selain itu, sel-sel haploid ($2n = x = 8$) ditemukan pada 6 sel dari 4 tanaman (2,63%) dan sel-sel tetraploid ($2n = 4x = 32$) pada 3 sel dari 1 tanaman (1.32%) (Lampiran 5 dan Gambar 4.1.5.(1)).

Beberapa contoh foto hasil pengamatan jumlah kromosom yang berbeda-beda pada tanaman hasil regenerasi helai daun ditampilkan pada gambar 4.1.5.(2).



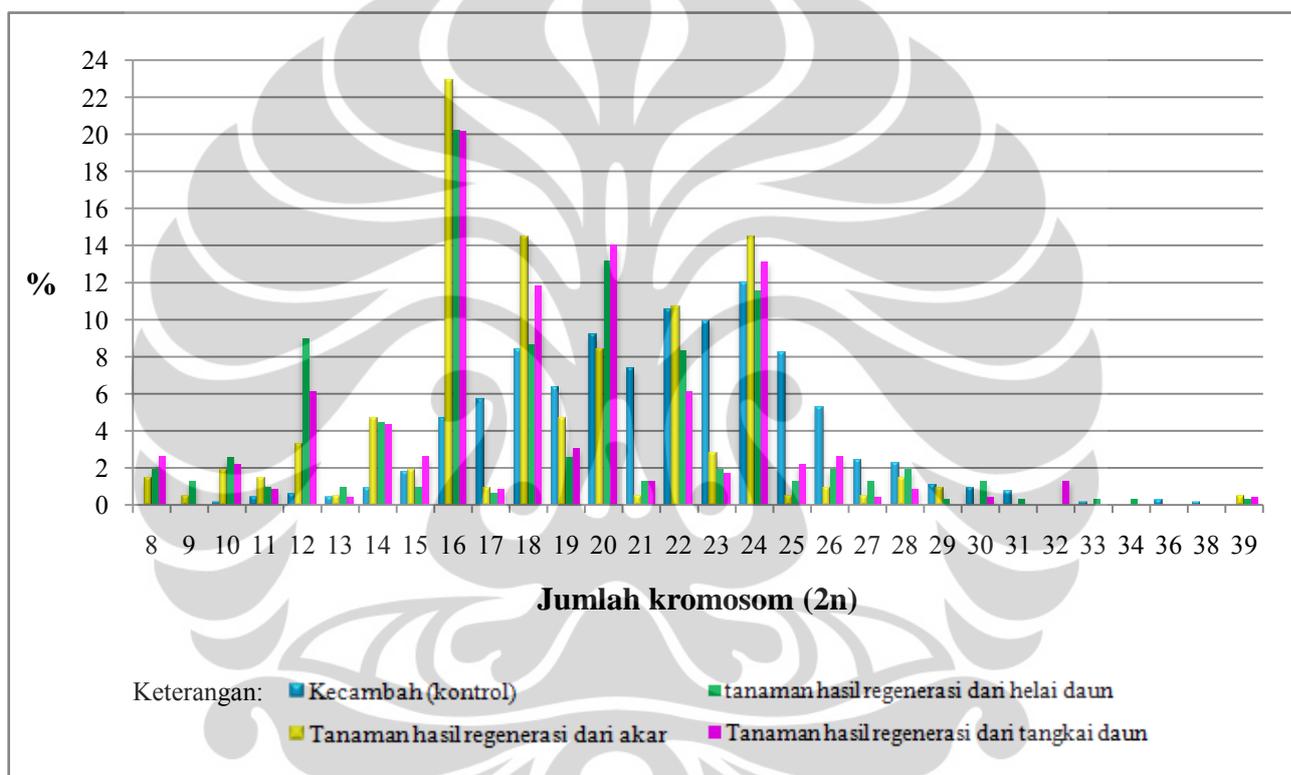
Gambar 4.1.5.(1). Persentase jumlah kromosom pada tanaman *Taraxacum officinale* hasil regenerasi *in vitro* dengan sumber eksplan tangkai daun



Gambar 4.1.5.(2). Beberapa contoh foto hasil pengamatan jumlah kromosom pada tanaman *Taraxacum officinale* hasil regenerasi *in vitro* dari eksplan tangkai daun

4.2. PEMBAHASAN

Penelitian untuk mengetahui jumlah kromosom tanaman *T. officinale* hasil regenerasi *in vitro* dari eksplan akar, helai daun, dan tangkai daun telah dilakukan. Kromosom dari akar tanaman hasil regenerasi maupun kecambah dapat dihitung karena sediaan kromosom tersebar dengan baik (Gambar 4.1.3.(2); 4.1.4.(2) dan 4.1.5.(2)). Distribusi seluruh kromosom pada tanaman hasil regenerasi dan kecambah ditampilkan pada Gambar 4.2.



Gambar 4.2. Persentase jumlah kromosom tanaman *Taraxacum officinale* hasil regenerasi *in vitro* (akar, helai daun, dan tangkai daun) dan kecambah (kontrol)

Berdasarkan Gambar 4.2., tanaman hasil regenerasi *in vitro* memiliki jumlah kromosom yang bervariasi ke arah aneuploid (hipoploid dan hiperploidi) dan euploid (haploid, diploid, triploid, dan tetraploid) dengan kisaran jumlah kromosom $2n = 8-39$. Variasi yang ditemukan pada tanaman hasil regenerasi lebih disebabkan oleh adanya variasi yang diturunkan oleh tanaman induk. Hal

ini terlihat pada kisaran jumlah kromosom yang hampir sama pada kecambah (kontrol), yaitu $2n = 10\text{--}38$.

Persentase sel-sel aneuploid pada tanaman hasil regenerasi maupun kecambah (kontrol) jauh lebih besar dibandingkan sel-sel euploidnya, dimana ditemukan sel dengan jumlah kromosom $2n = 9\text{--}15, 17\text{--}23, 25\text{--}31, 33, 34, 36, 38, 39$, dengan persentase sekitar 65% dan 83,3%. Hasil yang sama dilaporkan pada penelitian Richards (1970: 767) terhadap beberapa jenis tanaman dari marga *Taraxacum*. Pada penelitian Richards ditemukan sel-sel dengan jumlah kromosom aneuploid ($2n = 17, 18, 20, 22, 23, 25, 26, 27, 28, 29$). Hal tersebut menunjukkan bahwa fenomena aneuploid umum terjadi pada marga *Taraxacum*.

Aneuploid merupakan variasi jumlah kromosom akibat penambahan atau pengurangan jumlah kromosom. Perubahan dalam jumlah kromosom tersebut tidak melibatkan seluruh set kromosom, tapi hanya sebagian dari suatu set. Aneuploidi dapat terjadi karena delesi, aberasi, gagalnya duplikasi kromosom, dan gagalnya pemisahan kromosom (*non-disjunction*) (Elrod & Stansfield 2007: 148--150). Hilangnya sebagian kromosom atau kromatid menyebabkan tidak seimbangya distribusi kromosom ke kutub-kutub sel yang berlawanan, sehingga dihasilkan sel-sel yang jumlah kromosomnya hipoploid seperti $2n-1, 4n-1$ atau hiperploid seperti $2n+1, 4n+1$ (Suryo 1995 lihat Hastuti 2004: 42).

Mekanisme apomiksis pada *Taraxacum* meliputi 3 tahap dasar. Pertama, tidak terjadinya meiosis secara sempurna sehingga menghasilkan kantung embrio yang tidak tereduksi. Kedua, berkembangnya embrio tanpa fertilisasi. Ketiga, berkembangnya endosperma secara autonom (Záveský dkk. 2007: 148). Salah satu atau lebih tahap mekanisme tersebut mungkin terjadi pada tanaman *T. officinale* yang digunakan dalam penelitian ini sehingga mengakibatkan terbentuknya sel-sel aneuploid.

Pengamatan jumlah kromosom euploid pada penelitian menunjukkan bahwa tanaman hasil regenerasi *in vitro* memiliki pola sebaran kromosom yang berbeda dengan kecambah (kontrol). Sel-sel dengan kromosom haploid, diploid, triploid dan tetraploid ditemukan pada tanaman hasil regenerasi, sedangkan pada kecambah hanya ditemukan sel-sel diploid dan triploid. Jumlah sel-sel dengan kromosom euploid pada tanaman hasil regenerasi juga lebih banyak dibandingkan

pada kecambah (kontrol). Hasil ini menunjukkan bahwa sel-sel yang terbentuk pada tanaman hasil regenerasi cenderung kearah euploid. Hasil ini juga didukung dengan terjadinya pengurangan jumlah sel aneuploid pada kecambah (kontrol) sebesar 83,3% menjadi sekitar 65%, dan sebaliknya terjadi peningkatan jumlah sel-sel euploid dari 16,69% pada kecambah (kontrol) menjadi sekitar 35%. Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa tanaman hasil regenerasi cenderung menghasilkan sel-sel diploid sementara kecambah (kontrol) menghasilkan sel-sel triploid. Perbedaan sel yang terbentuk pada tanaman hasil regenerasi *in vitro* dan kecambah (kontrol) tersebut mungkin diakibatkan oleh lingkungan tempat tumbuh yang berbeda. Biji yang digunakan dalam penelitian sebagai kontrol diambil dari alam, sedangkan tanaman hasil regenerasi yang digunakan dalam penelitian diambil dari hasil perbanyakan tunas melalui teknik kultur *in vitro*. Akar kecambah biji (kontrol) yang diambil dari tanaman di alam mungkin mengalami peristiwa apomiksis sebagai bentuk adaptasi untuk mempertahankan jenis sehingga jumlah kromosomnya lebih mengarah pada jumlah kromosom triploid. Sedangkan tanaman hasil regenerasi *in vitro* hidup pada kondisi yang terkendali sehingga tidak membutuhkan pertahanan diri (apomiksis). Penelitian yang dilakukan Brutovská *dkk.* (1998: 24) terhadap tanaman *Hypericum* menunjukkan bahwa tanaman hasil regenerasi *in vitro* cenderung membentuk sel-sel euploid.

Fenomena lain yang diamati adalah kemunculan sel-sel dengan jumlah kromosom di atas 4% pada keempat kelompok tanaman. Sel-sel dengan jumlah kromosom yang memiliki nilai persentase di atas 4% pada kecambah (kontrol) yaitu $2n = 16-26$; tanaman hasil regenerasi akar yaitu $2n = 14, 16, 18, 19, 20, 22, 24$; tanaman hasil regenerasi helai daun yaitu $2n = 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24$; tanaman hasil regenerasi tangkai daun yaitu $2n = 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24$. Hal tersebut menunjukkan bahwa distribusi jumlah kromosom dari kecambah (kontrol) dengan nilai di atas 4% lebih bervariasi dibandingkan tanaman hasil regenerasi yang cenderung menghasilkan jumlah kromosom genap (kelipatan 2). Drummond & Vellend (2012: 7) menyatakan bahwa keragaman genetik pada *T. officinale* dapat terjadi karena frekuensi gangguan pada lingkungan tempat tanaman tersebut tumbuh, seperti adanya pembangunan, pencemaran lahan, dan aktivitas manusia.

Jumlah kromosom tanaman *T. officinale* hasil regenerasi dan kecambah (kontrol) sama-sama bervariasi, namun, pola variasi dan jumlah sel terbanyak yang terbentuk pada kedua kelompok tanaman tersebut berbeda. Pada dasarnya, jumlah kromosom *T. officinale* yang ada di alam memang bervariasi. Variasi tersebut disebabkan karena sifat unik yang dimiliki oleh *T. officinale* dalam pertahanan jenisnya yaitu apomiksis. Apomiksis merupakan reproduksi aseksual dimana ovul berkembang menjadi biji tanpa melibatkan proses meiosis dan fertilisasi. Oleh karena itu, tanaman yang mengalami peristiwa apomiksis memiliki jumlah kromosom yang bervariasi (Bhat *dkk.* 2005: 1879).

Hasil penelitian Ermayanti *dkk.* (2011: 52) menunjukkan bahwa tanaman hasil kultur jaringan mempunyai aktivitas antioksidan yang berbeda pada setiap individu, dan aktivitas antioksidan terbaik didapat dari tunas hasil regenerasi akar. Aktivitas antioksidan yang berbeda tersebut menunjukkan bahwa tanaman hasil regenerasi *in vitro* mempunyai kadar atau konsentrasi metabolit sekunder yang berbeda. Variasi jumlah kromosom yang diamati pada tanaman hasil regenerasi yang cenderung berbeda dengan kecambah (kontrol) pada penelitian ini menjadi sangat menarik untuk dijadikan sebagai acuan dalam mendapatkan bibit tanaman yang dapat dikelompokkan untuk produksi metabolit sekunder. Oleh karena itu perlu dilakukan seleksi tanaman hasil regenerasi berdasarkan jumlah kromosomnya untuk mendapatkan bibit tanaman yang mempunyai kadar metabolit sekunder yang tinggi.

BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

1. Jumlah kromosom tanaman *Taraxacum officinale* hasil regenerasi *in vitro* bervariasi ($2n = 8-39$) dan sel yang memiliki jumlah terbanyak dari ketiga planlet (berasal dari eksplan akar, helai daun, dan tangkai daun) adalah sel diploidnya ($2n = 16$).
2. Jumlah kromosom kecambah *Taraxacum officinale* berkisar antara 10--38 dan sel yang paling banyak ditemukan adalah sel dengan jumlah kromosom triploid ($2n = 24$).
3. Variasi jumlah kromosom yang terdapat pada tanaman hasil regenerasi disebabkan sifat apomiksis yang diturunkan oleh tanaman induk.

5.2. Saran

1. Perlu dilakukan pengecekan jumlah kromosom tanaman hasil regenerasi yang sudah diaklimatisasi.
2. Perlu dilakukan deteksi kandungan metabolit sekunder dari bibit tanaman dengan jumlah kromosom berbeda.

DAFTAR REFERENSI

- Al-Hafiizh, E., D. R. Wulandari & T. M. Ermayanti. 2010. Seleksi media dan perbanyak tunas *Taraxacum officinale* Weber ex F. H. Wigg melalui regenerasi spontan secara in vitro untuk penyediaan bibit berkualitas. *Berkala Penelitian Hayati Edisi Khusus* **4A**: 91--98.
- Alternative Medicine Review. 1999. *Monograph*: *Taraxacum officinale*. Thorne Research, Inc. **4**(2): 112--114.
- Berg, O. C & C. F. Schmidt. 1986. *Asteraceae-Taraxacum officinale*. 1 Mei 2011: 1 hlm. Leipzig, Arhtur Felix [1858-1863] edisi ke-1. www.meemelink.com, 1 Mei 2011, pk. 14.00.
- Bhat, V., K. K. Dwivedi, J. P. Khurana & S. K. Sopory. 2005. Apomixis: An enigma with potential applications. *Current Science* **89** (11): 1879--1893.
- Booth, A. & R. Satchuthananthavale. 1974. Regeneration in root cutting of *Taraxacum officinale* II: effects of exogenous hormones on root segments and root callus cultures. *New Phytology* **73**: 453--460.
- Bowes, B. G. 1970. Preliminary observation on organogenesis in *Taraxacum officinale* tissue cultures. *Protoplasma* **71**: 197--202.
- Brutovská, R., E. Čellárová, & J. Doležel. 1998. Cytogenetic variability of *in vitro* regenerated *Hypericum perforatum* L. plants and their seed progenies. *Plant Science* **133**(1998): 221--229.
- Campbell, N. A., J. B. Reece, & L. G. Mitchell. 2002. *Biologi*. edisi ke-5, jilid 1. Erlangga, Jakarta: xxi+438 hlm.
- Chatterjee, T., & A. K. Sharma. 1969. Cytotaxonomy of cichorieae. *Genetica* **40**: 577--590.
- Chuakul, W. *Taraxacum officinale* Weber ex F. H. Wigg. *Dalam*: de Padua, L. S., N. B. Praphatsara & R. H. M. J. Lemmens (eds.). 1999. *Prosea: Medical and Poisonous Plants I*. Prosea Foundation, Bogor **12**(1): 475--479.
- Crowder, L. V. 1993. *Genetika Tumbuhan*. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta: vi+178 hlm.

- Darrigues, A., J. Daub, K. McCord, C. Rasmussen, & J. Rouse. 2003. Genetic analysis of apomixis. 16 Juni 2012: 13 hlm.
<http://www.public.iastate.edu/~mbhattac/bhattacharyya/Genetics.pdf>,
 16 Juni 2012, pk. 15.00.
- de Kovel, C. G. F. & G. de Jong. 2001. The effect of intra-specific competition on seedlings of sexual and apomictic *Taraxacum officinale*. *OIKOS* **95**: 25--30.
- Drummond, E. B. M. & M. Vellend. 2012. Genotypic diversity effects on the performance of *Taraxacum officinale* populations increase with time and environmental favorability. *PloS ONE* **7**(2): 1--9.
- Elrod, S., & W. Stansfield. 2007. Schaum's Outlines: Teori dan soal-soal genetika. Edisi ke-4. Terj. dari *Schaum's outline of theory and problems of genetics* oleh Damaring T. 4th ed. Erlangga, Jakarta: viii+328 hlm.
- Ermayanti, T. M., A. F. Martin, N. Artanti & Megawati. 2011. Aktivitas antioksidan ekstrak metanol kultur jaringan jombang (*Taraxacum officinale* Weber ex F. H. Wigg). *Prosiding Seminar Nasional Kimia Terapan Indonesia* 48--53.
- Ermayanti, T. M., J. A. Mc Comb, & P. A. O'brien. 1993. Cytological analysis of seedling roots, transformed root cultures, and roots regenerated from callus of *Swainsona galegifolia* (Andr.) R. Br. *Journal of Experimental Botany*, **44** (259): 375--380.
- Ermayanti, T. M., L. Sari & E. Al-Hafiizh. 2002. Cytological analysis of *Artemisia cina* and *Artemisia annua* in untransformed and transformed root cultures. *Preceedings of The 2nd Indonesian Biotechnology Conference 2001* :127--133.
- Gandhi, K. N., R. D. Thomas, & S. L. Hatch. 1989. *Asteraceae of Louisiana*. Brit Press, Texas: 202 hlm.
- George, E. F. & P. D. Sherrington. 1984. *Plant Propagation by Tissue Culture: Handbook and Directory of Commercial Laboratories*. Exegetic Limited, Basingstokes: vii+709 hlm.
- Gunawan, L. W. 1987. *Teknik kultur jaringan*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Bogor: v+252 hlm.

- Hartzler, B. 2002. Weed science: Adaptation in weed-Dandelion. 27 Juni 2012: 1hlm. <http://www.weeds.iastate.edu/mgmt/2002/dandelion.htm>. 27 Juni 2012, pk. 17.00.
- Hastuti, D. 2004. *Stabilitas dan variasi jumlah kromosom pada kultur akar rambut Morus Macroura Miq.* Skripsi Program Studi Biologi FMIPA Universitas Pakuan. Bogor: xv+61 hlm.
- Hilty, J. 2012. Dandelion: *Taraxacum officinale*. 27 Juni 2012: 1hlm. <http://www.Illinoiswindflowers.info/weeds/plants/dandelion.htm>. 27 Juni 2012, pk. 17.15.
- Jha, T. B., & B. Ghosha. 2005. *Plant tissue culture: basic and applied*. Universities Press, India: x+216 hlm.
- Jones, S. M. Jr. & A. E. Luchsinger. 1979. *Plant systematics*. 2nd ed. McGraw-Hill Book Co. Singapore: xi+512 hlm.
- Jong, K. 1997. *Laboratory manual of plant cytological techniques*. Royal Botanic Garden, Edinburgh: vi+86 hlm.
- Karp, A. 1991. Cytological techniques. *Plant Cell Cultures Manual C4*: 1--13.
- Kemper, K. J. 1999. Dandelion: *Taraxacum officinalis*. 1hlm. Longwood Herbal Task Force: www.mcp.edu. Revised November 1, 1999.
- Martin, A. F. & T. M. Ermayanti. 2010. Pengaruh *Benzil Amino Purin* (BAP) dan *Naphtalene Acetic Acid* (NAA) terhadap regenerasi spontan *Taraxacum officinale* Weber ex. F. H. Wigg dari eksplan helai daun, tangkai daun, dan akar. *Prosiding Seminar Nasional XIII* (105): 767--774.
- McPeck, T. M. & X. Wang. 2007. Reproduction of Dandelion (*Taraxacum officinale*) in a higher CO₂ environment. *Weed Science* **55**: 334--340.
- Moore, D. M. 1976. *Plant cytogenetics*. John and Wiley Sons, Inc., New York: 64 hlm.
- Murashige, T. & F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and biassay with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum* **15**: 473--497.
- Richards, A. J. 1970. Eutriploid facultative agamospermy in *Taraxacum*. *New Phytology* **69**: 761--774.

- Santoso, U., & F. Nursandi. 2003. *Kultur jaringan tanaman*. UMM Press: viii + 191 hlm.
- Sass, J. E. 1958. *Botanical microtechnique*. Edisi ke-3. The Iowa State University Press, Iowa: xi+228 hlm.
- Simon, J. E., A. F. Chadwick & L. E. Craker. 1984. Herbs: An Indexed Bibliography, 1971--1980. *The Scientific Literature on Selected Herbs and Aromatic and Medical Plants of The Temperature Zone*. Archon Books: 770 hlm.
- Smith, E. B. 1965. A reversion in *Taraxacum officinale*. *Transaction of the Kansas Academy of Science* **68** (2): 266--268.
- Suryo. 2004. *Genetika strata I*. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta: xvi + 344 hlm.
- Tas, I. C. Q & P. J. van Dijk. 1999. Crosses between sexual and apomictic dandelions (*Taraxacum*): the inheritance of apomixis. *Heredity* **83** (1999): 707--714.
- van Dijk, P. J., & T. B. Schotman. 2004. Formation of unreduced megaspores (Diplospory) in apomictic dandelions (*Taraxacum officinale, s.l.*) is controlled by a sex-specific dominant locus. *Genetics* **166**: 483--492.
- Vavrek, M. C., J. B. McGraw, & H. S. Yang. 1996. Within-population variation in demography of *Taraxacum officinale*: Maintenance of genetic diversity. *Ecology* **77** (7): 2098--2107.
- Williams, C. A., F. Goldstone & J. Greenham. 1996. Flavonoids, cinnamic acids and coumarins from the different tissues and medicinal preparations of *Taraxacum officinale*. *Phytochemistry* **42** (1): 121--127.
- Záveský, L., V. Jarolímová, & J. Štěpánek. 2007. Apomixis in *Taraxacum paludosum* (section *Palustria*, *Asteraceae*): recombinations of apomixis elements in inter-sectional crosses. *Plant Systematics and Evolution* **265**: 147--163.

Lampiran 1

Komposisi bahan dasar larutan stok medium MS (Murashige & Skoog, 1962)
modifikasi serta komposisi dan volume larutan stok.

No	Komposisi	Konsentrasi pada resep (mg l ⁻¹)	Bilangan pengali	Berat zat kimia yang ditimbang (mg)	Volume akhir (ml)	Volume yang dibutuhkan untuk 1L medium (ml)
1	Makro					
	NH ₄ NO ₃	1.650		33000		
	KNO ₃	1.900		38000		
	CaCl ₂ .2H ₂ O	440	20 X	8800	1000	50
	MgSO ₄ .7H ₂ O	370		7400		
	KH ₂ PO ₄	170		3400		
2	Mikro					
	KI	0,83		415		
	H ₃ BO ₃	6,2		3100		
	MnSO ₄ .H ₂ O	16,9		8450	1000	2
	ZnSO ₄ .7H ₂ O	8,6	500 X	4300		
	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,25		125		
	CuSO ₄ .5H ₂ O	0,025		12,5		
CoCl ₂ .6H ₂ O	0,025		12,5			
3	NaFeEDTA	36,7	200 X	3,67	500	5
4	Vitamin					
	Asam nikotinat	0,5		50		
	Asam piridoksin	0,5	200 X	50	500	5
	Tiamin-HCl	0,1		10		
	Glisin	2,0		200		

Lampiran 2.

Matriks penyebaran jumlah kromosom pada kecambah *Taraxacum officinale* (kontrol)

No. Akar	Jumlah kromosom (2n) dalam sel <i>Taraxacum officinale</i> Weber ex F. H. Wigg																								Total sel per akar	
	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	33	36		38
1							2	5	1	1		1	2			1								1		14
2							2		2	1	2	2		4	1											14
3																1		1		1	1					4
4							1	2	4		1	4	2		1											15
5									1	4	3	3				2	1		1							15
6													1				1						1			3
7						1	1																			2
8						1		3	3	3	3		1													14
9						1		1		1	1	1		1	1	2	1		1			1				12
10						1			1	3						1										6
11						1	3	3			2		2		1		1									13
12				1							1	1														3
13												1	5	3	2											11
14									1						1											2
15										1			3						1							5
16	1	3	2	1				1				1	1		1											11
17																			1							1
18										1	1															2
19									1		1		1		1					1			1			6
20			1			1			1																	3

Lampiran 3.

Matriks penyebaran jumlah kromosom pada akar tanaman *Taraxacum officinale* hasil regenerasi *in vitro* dengan sumber eksplan akar

No. Tanaman	No. Akar	Jumlah kromosom (2n) dalam sel <i>Taraxacum officinale</i> Weber ex F. H. Wigg																										Total sel per akar
		8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	39	
1	1			1	1	2				1	3		1		1												10	
2	2									1																	1	
3	3									1	1		2		2		1										7	
4	4					1		1			1																3	
5	5									2																	2	
6	6										1	1			1												3	
7	7											1															1	
8	8									1																	1	
9	9							1																			1	
10	10																1										1	
11	11							1			2		1														4	
12	12									2	2																4	
	13									5	1						4										10	
13	14									5	3		1		1												10	
	15				1					1	1	1	2		1	1	2										10	
	16					1				4	1				1		3										10	
	17							1	2	3	1	1			1		1										10	
	18									2		1			1		2	1									7	
	19		1			1		1		2							1										6	
	20			1	1		1									1											4	
	21									1																	1	
14	22	1																									1	
	23									1		3															4	

Lampiran 4.

Matriks penyebaran jumlah kromosom pada akar tanaman *Taraxacum officinale* hasil regenerasi *in vitro* dengan sumber eksplan helai daun

No. Tanaman	No. Akar	Jumlah kromosom (2n) dalam sel <i>Taraxacum officinale</i> Weber ex F. H. Wigg																												Total sel per akar
		8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	39	
1	1										1																		1	
	2			2		2					1					1	2												8	
	3									2	1				1														4	
2	4			1			1			2																			4	
	5					1		3		1			1			1	1	1											9	
3	6					1		1		2			1																5	
4	7									3			3	1		1		2											10	
	8													1															1	
	9					1																							1	
5	10	1								3																			4	
6	11			1						3		1	2			1													8	
7	12					1							1				1												3	
	13									1			1				1												3	
	14			1								2	1				2				1	1							8	
	15															1													1	
	16																											1	1	
8	17					1				4		2			1		2												10	
9	18					1				4		2	1				1												9	
10	19									3																			3	
	20											1	4																5	
	21									6		1	1	1	1														10	
11	22									3		1			1		1												6	
	23									1		1	4														1		7	
	24											1	1	4			1			1									8	

Lampiran 5.

Matriks penyebaran jumlah kromosom pada akar tanaman *Taraxacum officinale* hasil regenerasi *in vitro* dengan sumber eksplan tangkai daun

No. Tanaman	No. Akar	Jumlah kromosom (2n) dalam sel <i>Taraxacum officinale</i> Weber ex F. H. Wigg																										Total sel per akar	
		8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	39		
1	1			1				2		3		1		2				1										10	
2	2	1				2			1	2	1							1										8	
3	3					1				2																		3	
4	4			1		2				2																		5	
5	5									3																		3	
	6								1																			1	
	7	1				1								1														3	
	8	1				2		1		1																		5	
6	9							1		3																		4	
	10					1			1			1																3	
7	11									1									2									3	
	12									1		1						2	1	1				1		1		8	
	13													2				2								2		6	
8	14						1	1		2					1	2		1										8	
	15									3		2		2		1		1				1						10	
	16					1				2		2	1	1		1		2										10	
9	17											1				1											1	3	
10	18									1		1		3		1												6	
	19			1		1				2		1		5														10	
11	20			1								1	1			1												4	
	21								1			1																	2
12	22							1		3		2	1					1										8	
	23												1			1													2

