

**Efektivitas Beberapa Metode dalam Analisis Kromosom Tanaman Lai durian (*Durio zibethinus x kutejensis*) Asal Kalimantan Timur**

***Effectiveness of Several Methods in Chromosome Analysis of the Lai durian (*Durio zibethinus x kutejensis*) originated East Kalimantan***

Article Submitted : 2023-06-09

Article Accepted : 2023-12-12

Khairunnisa Azizah Salsabila<sup>1</sup>, Muktirianur<sup>1</sup>, Widi Sunaryo<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Agroecotechnology Department, Faculty of Agriculture, Mulawarman University, Samarinda, East Kalimantan, Indonesia  
kazizasalsabila@gmail.com

**ABSTRACT**

East Kalimantan is one the centers of *Durio* diversity in the world. The high diversity of *durio* species is a very important breeding program to select and assemble new superior varieties. The study of the genetic/genomic status of *Durio* species, especially the unidentified endemic plant like lai durian, is very important. This study was conducted to find out an effective method for analyzing lai durian (*Durio zibethinus x kutejensis*) chromosomes in an effort to determine the genome status of the lai durian. This study was conducted at the Laboratory of Biotechnology, Faculty of Agriculture, Mulawarman University from April to December 2020. Chromosome analysis used roots and shoots sample to observe chromosome profiles. The treatment of sampling time, time for pre-treatment, fixation, maceration and staining as well as the concentration of the respective solution treatment were applied to the samples. The cell, mitotic stages, and chromosome profiles were observed under a binocular microscope. This study showed in the method root-tips and shoot-tips are collected at 11.00 am, pretreated in 0.002 M 8-hydroxyquinoline in refrigerator for 4 hours, fixed in ethanol:glacial acetic acid (v/v 3:1), macerated in 5 N hydrochloric acid at 65°C for 40 minutes, stained in 2% aceto-orcein for 1.5 hours and squashed in 2% aceto-orcein produced the best cell profile. Chromosomes profiles showing dividing cells can be observed in specimens taken from the root-tips and shoot-tips. Prophase, telophase, and cytokinesis stages can also be observed and are most commonly found in root and shoot tip specimens.

*Keyword: analisis kromosom, profil kromosom, lai durian.*

**PENDAHULUAN**

Indonesia merupakan salah satu dari 8 pusat keanekaragaman genetik khususnya jenis buah-buahan tropis yang salah satunya adalah durian. Ada sekitar 30 jenis durian di seluruh dunia dan sebagian besar masih tumbuh liar di hutan. Marga *Durio* dikelompokkan ke dalam suku *Bombacaceae*. Kurang lebih 21 dari 30 jenis anggota marga *Durio* ditemukan di pulau Kalimantan sehingga Kalimantan merupakan salah satu pusat keanekaragaman durian di dunia (Mansur, 2007).

Durian (*Durio zibethinus*) merupakan tanaman buah tropis eksotik yang mempunyai rasa dan aroma yang unik. Buah durian disebut juga the king of fruit yang sangat digemari oleh berbagai kalangan karena rasanya yang khas (Lestari et al., 2011). Lai masih berkerabat dekat dengan durian (*Durio zibethinus*) dan durian adalah spesies *Durio* yang paling populer dan sudah banyak dikembangkan di Indonesia. Lai memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai buah tropika unggul pendamping durian karena memiliki sifat-sifat unik dan menarik (Santoso 2010). Lai durian adalah tumbuhan endemik yang berasal dari Kalimantan Timur. Berdasarkan identifikasi secara morfologi,

lai-durian adalah buah hasil silangan alami antara durian dan lai sehingga disebut sebagai *Durio zibethinus-kutejensis*. Walau demikian klasifikasi, taksonomi, serta identitas tanaman lai-durian masih belum jelas, sehingga terkadang masyarakat menggolongkan sebagai durian (dinamakan Durian Lai) dan di tempat lain tergolong sebagai lai (lai durian) (Sunaryo et al., 2015). Lai durian merupakan tanaman yang memiliki kualitas dan bernilai ekonomi tinggi (Sunaryo et al., 2019).

Kromosom adalah pembawa bahan keturunan (Crowder 1986). Dalam pemuliaan tanaman, keberadaan kromosom serta identitasnya dapat digunakan untuk menentukan identitas tanaman baik dalam skala species, kultivar ataupun varietas. Analisis jumlah dan struktur kromosom dapat menentukan ciri serta identitas tanaman tersebut selanjutnya juga bisa menentukan asal-usul dan tingkat kekerabatannya (Stace, 1989). Namun demikian metode analisis kromosom pada setiap tanaman berbeda-beda, sehingga untuk tanaman yang jarang atau belum pernah dilakukan analisis kromosomnya memerlukan optimasi metode agar kromosom bisa diamati, dianalisis dan digunakan

untuk identifikasi tanaman, analisis keragaman dan juga analisis kekerabatan.

Suatu metode analisis kromosom yang efisien di aplikasikan ke suatu tanaman tertentu belum tentu dapat diaplikasikan ke tanaman yang lain, sehingga dibutuhkan optimasi metode untuk mendapatkan metode yang efektif dalam analisis kromosom lai durian sebagai upaya untuk mengetahui informasi identitas, kekerabatan dan keragaman tanaman lai durian. Keberadaan informasi identitas kromosom pada lai durian yang masih belum diketahui akan sangat membantu program pengembangan tanaman lai durian di masa mendatang.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bioteknologi, Fakultas Pertanian Universitas Mulawarman. Penelitian ini dilaksanakan selama 9 bulan dimulai dari bulan April 2020 sampai dengan Desember 2020.

Alat yang digunakan yaitu polybag, timbangan analitik, cawan petri, gelas ukur, pipet, *Erlenmeyer*, pinset, *scalpel*, spatula kaca, lemari pendingin, *waterbath*, *tube Eppendorf*, kaca preparat, kaca penutup, mikroskop Olympus CX 21, Optilab, software optilab, dan laptop.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanah, kapas, biji tanaman lai, durian, dan lai durian, bawang merah, 0,002 M 8-*hidroxyquinoline*, etanol absolut, HCl, HCl, aquades, *aceto orcein* 2%, dan asam asetat glasial.

Akar dan pucuk dipotong 1 cm., selanjutnya perlakuan pengamatan kromosom meliputi praperlakuan dengan menggunakan 0,002 M 8-*hidroxyquinoline*, fiksasi menggunakan larutan carnoy yaitu asam asetat glasial dan etanol (3:1), dan maserasi dengan merendam ujung akar dengan HCl di dalam tube dan direndam dalam *waterbath*. Selanjutnya preparat dilakukan pewarnaan dengan direndam *aceto orcein* 2%, dan pemencetan. Pemencetan dilakukan dengan meletakkan bagian ujung akar di atas *object glass* lalu dipotong  $\pm 1$  mm menggunakan silet. Preparat diteteskan orcein kembali lalu ditutup dengan *cover glass* dan dipencet dengan ibu jari. Selanjutnya, preparat diamati di bawah mikroskop.

Hasil percobaan yang diperoleh dianalisa secara deskriptif berdasarkan pengamatan gambar

kromosom hasil dari pemotretan yang diolah menggunakan aplikasi optilab.

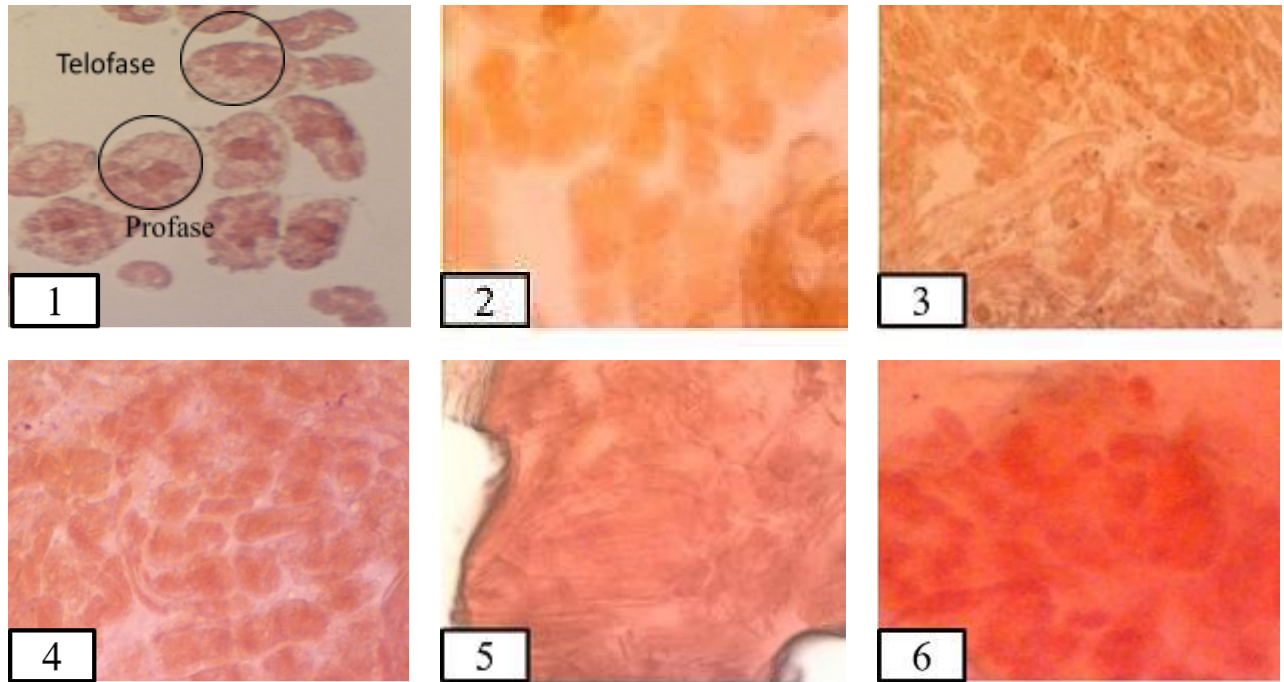
## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil

Pengamatan kromosom pada tanaman lai-durian dilakukan menggunakan sampel akar dan pucuk. Sampel akar yang digunakan adalah bagian root tip sedangkan pada pucuk adalah bagian shoot tip. Pada penelitian ini, menggunakan metode perlakuan waktu pengambilan akar, pra perlakuan, fiksasi, maserasi dan pewarnaan yang berbeda-beda, karena waktu pengambilan akar dan lamanya perendaman bahan kimia dapat berpengaruh terhadap profil kromosom yang didapatkan.

Pada akar tanaman lai durian, tahap maserasi dengan HCl 5N pada suhu 65°C selama 40 menit; 1 jam; dan 2 jam dapat melunakkan sampel akar lebih baik yaitu perendaman selama 2 jam namun masih sering didapatkan sampel akar yang masih keras. Pada tahap pewarnaan selama 1 jam; 1,5 jam; dan 2 jam, larutan *aceto orcein* 2% dapat mewarnai kromosom (Tabel 1).

Pengamatan akar tanaman lai durian, metode waktu pengambilan akar jam 10.00; pra-perlakuan selama 2 jam; fiksasi selama 1 jam; maserasi menggunakan larutan HCl 5N dengan suhu 65°C selama 2 jam; dan pewarnaan selama 1,5 jam akan memberikan hasil yang kurang baik, jaringan akar masih terlihat tebal (Gambar 1.5, Tabel 1). Sedangkan pada metode yang menggunakan dengan perlakuan waktu pengambilan akar jam 11.00; pra-perlakuan selama 4 jam; fiksasi selama 24 jam; maserasi menggunakan larutan HCl 5N dengan suhu 65°C selama 40 menit; dan pewarnaan selama 1 jam dapat memberikan hasil yang cukup baik, sel terlihat berada pada fase profase dan telofase namun kromosom tidak dapat dihitung (Gambar 1.1, Tabel 1). Adapun penggunaan metode ini pada tanaman lai durian dapat memberikan hasil yang lebih jelas diduga disebabkan oleh penambahan waktu pra-perlakuan. Pada Gambar 1.2, 1.3, dan 1.4 sel sudah terlihat jelas namun kromosom tidak terlihat karena tidak ditemukan sel yang mengalami pembelahan.



Gambar 1. Pengamatan kromosom pada akar tanaman Lai durian dengan perbesaran 40x

Tabel 1. Pengamatan kromosom pada akar Lai durian (*Durio zibethinus x kutejensis*)

Gambar No.	Waktu Pengambilan Akar	Metode				Hasil Pengamatan
		Pra-Perlakuan	Fiksasi	Maserasi	Pewarnaan	
1.1	11.00	4 jam	24 jam	40 menit (HCl 5N 65°C)	1 jam	Pembelahan mitosis pada tahap profase dan telofase.
1.2	10.00	2 jam	1 jam	1 jam (HCl 5N 65°C)	2 jam	Sel sudah terlihat jelas namun kromosom tidak terlihat karena tidak ditemukan sel yang mengalami pembelahan.
1.3	10.30	2 jam	1 jam	1 jam (HCl 5N 65°C)	2 jam	Sel tidak terlihat jelas, ada jaringan yang masih menumpuk.
1.4	10.00	2 jam	2 jam	1 jam (HCl 5N 65°C)	1,5 jam	Sel sudah terlihat jelas namun kromosom tidak terlihat karena tidak ditemukan sel yang mengalami pembelahan.
1.5	10.00	2 jam	1 jam	2 jam (HCl 5N 65°C)	1,5 jam	Kromosom dan sel tidak terlihat, karena jaringan akar masih tebal. Hal ini diduga karena akar yang diamati memiliki komposisi yang sulit lunak saat dimaserasi.
1.6	10.00	4 jam	24 jam	2 jam (HCl 5N 65°C)	1 jam	Sel sudah terlihat jelas namun kromosom tidak terlihat karena tidak ditemukan sel yang mengalami pembelahan.

Pengamatan juga dilakukan pada pucuk tanaman lai durian dengan hipotesis bahwa sediaan yang didapat akan lebih mudah diamati. Pucuk merupakan bagian tanaman yang aktif membelah (merismatis). Dalam pengamatan ini metode yang digunakan berbeda-beda hal ini dikarenakan untuk mendapatkan metode terbaik pada analisis kromosom pucuk tanaman lai durian.

Hasil yang diperoleh dalam penelitian ini pada sampel pucuk Lai durian didapatkan sel yang berada pada tahap profase dan sedang dalam tahap telofase (Gambar 2.2, Tabel 2). Kromosom sedang berada pada fase sitokinesis ditandai dengan sel induk yang sudah terbelah menjadi dua sel dan sel terlihat berpasangan sehingga diasumsikan sel telah membelah, hasil pengamatan ini menggunakan

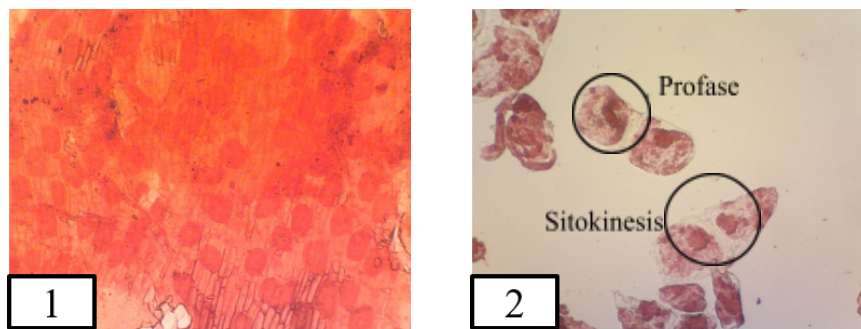
metode pengambilan pucuk pukul 11.00, pra-perlakuan selama 4 jam; fiksasi selama 24 jam;

suhu 60°C selama 40 menit; dan pewarnaan selama 1 jam.

Tabel 2. Pengamatan kromosom pada akar Lai durian (*Durio zibethinus x kutejensis*)

Gambar No.	Waktu Pengambilan Akar	Metode				Hasil Pengamatan
		Pra-Perlakuan	Fiksasi	Maserasi	Pewarnaan	
2.1	10.00	4 jam	24 jam	40 menit (HCl 5N 65°C)	1 jam	Sel terlihat tetapi kromosom tidak terlihat.
2.2	11.00	4 jam	24 jam	40 menit (HCl 5N 65°C)	1 jam	Sel terlihat jelas berada pada fase profase dan sitokinesis. Namun kromosom belum dapat diamati.

maserasi menggunakan larutan HCl 5N dengan



Gambar 2. Pengamatan kromosom tanaman lai durian menggunakan pucuk dengan perbesaran 40x.

## Pembahasan

Bagian terkecil dari makhluk hidup adalah sel. Di dalam sel dari kebanyakan makhluk terdapat kromosom. Kromosom dapat dilihat dengan menggunakan mikroskop biasa pada sel yang sedang membelah (Suryo 1996). Secara umum tahapan untuk mendapatkan kromosom ada 5, antara lain melalui tahap pra-perlakuan, fiksasi, hidrolisis (maserasi), pewarnaan dan yang terakhir adalah pemencetan (squashing). Pada penelitian ini, pengamatan terhadap kromosom berhasil dilakukan pada tanaman lai durian. Pengamatan dilakukan baik menggunakan akar maupun pucuk dari berbagai macam perlakuan baik waktu pengambilan sampel, pra perlakuan, fiksasi, maserasi, dan pewarnaan. Waktu pengambilan akar harus sangat diperhatikan, karena setiap tanaman memiliki waktu pembelahan sel yang berbeda-beda.

Pembuatan sediaan diawali dengan pemotongan ujung akar yang dilakukan saat jam biologi yang mengatur waktu optimum pembelahan mitosis. Umumnya tumbuhan melakukan pembelahan sel pada pagi hari.

Preparat dengan sel-sel paling banyak berada dalam kondisi aktif membelah mewakili waktu

optimum pembelahan sel (De Robertis 1976). Dalam penelitian ini, sampel tanaman yaitu akar

dan pucuk Lai-Durian diambil pada pukul 08.00-11.00 WITA, dengan interval waktu 30 menit, yaitu diambil pada pukul 10.00, 10,30 dan 11.00.

Pra-perlakuan merupakan suatu metode untuk menjernihkan sitoplasma, melunakkan tisu, menguraikan bagian-bagian yang lebih menggumpal sehingga memungkinkan untuk dapat mengamati kromosom (Suntoro 1983). Hydroxyquinoline selain dapat meningkatkan viskositas sitoplasma juga dapat meningkatkan kekontrasan kromosom, serta menyebabkan inaktivasi benang-benang spindel (Tjio 1950).

Fiksasi bertujuan untuk mematikan dan menetapkan jaringan pada titik akhir kehidupan sel. Keutuhan struktur kromosom terpelihara pada sel-sel yang mengalami pembelahan prometafase (Suntoro 1983). Berbagai jenis larutan yang digunakan untuk fiksasi dan setiap larutan fiksatif mempunyai efektifitas yang berbeda terhadap setiap jenis jaringan.

Hidrolisis dilakukan untuk mendapatkan sel-sel yang menyebar dalam pengamatan kromosom. Penyebaran sel merupakan akibat dari lamela tengah yang larut pada jaringan meristem yang belum kuat. Asam klorida dan enzim hidrolase dapat digunakan untuk proses hidrolisis. Hidrolisis yang terlalu lama dapat mengurangi afinitas pewarna terhadap kromosom dan menyebabkan

kromosom terurai karena denaturasi protein dan asam nukleat. Pencucian dilakukan untuk menghilangkan pengaruh perlakuan sebelumnya dan mengembalikan bahan pada suhu kamar sebelum diberi perlakuan lagi. Pencucian dilakukan dengan aquades sebanyak 3 kali. Aquades dipilih karena aquades merupakan bahan pelarut dari semua kemikalia yang digunakan (De Robertis 1976).

Pewarnaan kromosom dilakukan dengan aceto-orcein. Orcein merupakan pewarna berwarna merah ungu yang digunakan untuk mewarnai jaringan meristem ujung akar dan jaringan yang lunak. Hasil pewarnaannya adalah kromosom berwarna merah (Suntoro 1983). Kromosom setiap jenis tumbuhan mempunyai perbedaan tanggapan terhadap reaksi warna. Lama perendaman dalam zat pewarna dipengaruhi ukuran bahan dan kesegaran pewarna (De Robertis 1976). Pada penelitian ini, kromosom yang didapat kurang dapat diamati karena masih belum terlihat jelas kromosomnya. Hal ini dapat disebabkan oleh banyak faktor. Faktor tersebut antara lain waktu pemotongan yang kurang tepat, lama perendaman bahan kimia yang tidak sesuai, dan komposisi sampel yang sangat keras dan padat sehingga sangat sulit untuk mendapatkan hasil yang tipis.

Kromosom-kromosom hanya akan tampak jelas selama pembelahan sel terjadi. Pembelahan sel dibedakan menjadi dua yaitu pembelahan mitosis dan meiosis (Suryo 1996). Pembelahan mitosis merupakan pembelahan duplikasi dimana sel mereproduksi dirinya sendiri dengan jumlah kromosom sel anak sama dengan induknya. Mitosis berlangsung dalam beberapa fase yaitu interfase, profase, metafase anafase dan telofase. Kromosom akan dapat dihitung jika pembelahan sedang berada pada fase metafase.

Hasil pengamatan kromosom akar dan pucuk lai durian yang dilakukan dibawah mikroskop terdapat hasil yang kurang optimal, sehingga masih terlihat kurang jelas (Gambar 1 dan 2). Hal ini diduga terjadi karena saat metode pemencetan, sampel akar yang telah dimaserasi masih cukup keras. Sehingga sediaan yang didapat cukup tebal dan sel kurang dapat teramati. Kemudian setelah waktu maserasi ditambah, konsentrasi larutan dan suhu ditingkatkan, jaringan akar menjadi lebih lunak dan sediaan akar yang tipis bisa didapatkan yaitu pada tahap maserasi dengan menggunakan HCl 5N pada suhu 65°C. Lama waktu perendaman pada prosedur kerja selalu ditingkatkan dan dikombinasikan agar mendapatkan hasil yang maksimal. Apabila metode perlakuan telah cocok terhadap sampel akar, maka akan didapat hasil yang lebih jelas sehingga kromosom dapat teramati.

Hasil yang lebih jelas dapat terlihat pada akar tanaman lai durian (Gambar 1.1) dan pucuk lai durian (Gambar 2.1) ketika memasuki tahap profase. Pada fase ini terjadi penebalan kromosom

dimana inti sel terlihat bulat, membesar dan gelap. Pada fase ini kromosom tidak dapat dihitung karena tahap mitosis tidak berada pada tahap metafase.

Tahap terakhir pada pembelahan mitosis yaitu telofase yang dapat terlihat jelas pada akar tanaman lai durian dan pucuk lai durian. Pada fase ini setiap kutub sel terbentuk stel kromosom yang identik. Serabut gelendong inti lenyap dan dinding inti terbentuk. Kemudian plasma sel terbagi menjadi dua bagian yang disebut sitokinesis. Sitokinesis pada tumbuhan ditandai dengan terbentuknya dinding pemisah di tengah-tengah sel, tahap ini bisa dilihat pada hasil pengamatan pada akar tanaman Lai durian.

## KESIMPULAN

Metode analisis kromosom tanaman lai durian dengan pengambilan sampel pukul 11.00, pra-perlakuan selama 4 jam; fiksasi selama 24 jam; maserasi menggunakan larutan HCl 5N dengan suhu 60°C selama 40 menit; dan pewarnaan 2% selama 1 jam menghasilkan profil kromosom terbaik. Metode ini tidak hanya efektif pada sampel akar namun juga efektif pada sampel pucuk, hal ini didukung oleh fase profase dan telofase yang didapatkan dari kedua jenis sampel.

Struktur dan jumlah kromosom tidak dapat diamati karena tidak ditemukan pembelahan sel yang berada pada tahap metafase. Hasil pengamatan yang diperoleh menunjukkan bahwa akar tanaman lai durian lebih sulit untuk diamati dibandingkan dengan pucuk Lai durian. Hal ini diduga karena komposisi akar lai durian lebih keras yang menyebabkan kromosom pada akar tanaman lai durian sulit diamati,

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Laboratorium Bioteknologi Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Mulawarman yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk melakukan penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Crowder, L. V. 1986. *Genetika Tumbuhan*. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- De Robertis, E. D. P., Nowinski, W. W., and Saez, F. A., 1976. *Cell Biology*. W.B. Saunders Company, Philadelphia.
- Lestari, S., Fitmawati, Wahibah, & Nihayatul, N. 2011. Keanekaragaman Durian (*Durio zibethinus* Murr.) Di Pulau Bengkalis Berdasarkan Karakteristik Morfologi. *Buletin Kebun Raya*, 14(2), 29–44.
- Mansur, M. 2007. Penelitian ekologi jenis durian (*Durio spp.*) di Desa Intuh Lingau, Kalimantan Timur. *J. Tek. Ling.*, 8(3),

211–216.

- Santoso, P.J. 2010. Lai, durian berwarna daging atraktif : potensi ekspor. *Iptek Hortikultura*, 6 :36-41
- Stace, C. A. 1989. *Plant Taxonomy & biosystematics* (p. 252).
- Sunaryo, W., Hendra, M., Rudarmono, Suprpto, H., Pratama, A. N., & Rahman. 2015. Exploration and identification of Lai durian, new highly economic potential cultivars derived from natural crossing between Durio zibethinus and Durio kutejensis in East Kalimantan. *Asian Journal of Microbiology, Biotechnology and Environmental Sciences*, 17(2), 365–371.
- Sunaryo, W., Pranoto, H., Nurhasanah, & Rahman. 2019. Interspecific grafting to solve the rootstock shortage in vegetative propagation of Lai-durian (Durio zibethinus × kutejensis) originated from East Kalimantan. *Australian Journal of Crop Science*, 13(4), 642–648. <https://doi.org/10.21475/ajcs.19.13.04.p1845>
- Suntoro, S. H. 1983. *Metode Pewarnaan (Histologi dan Histokimia)*. Bhatara Karya Aksara. Jakarta.
- Suryo, 1996. *Sitogenetika*. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Tjio, J. H. and Levan, A. 1950. The use of hydroxyquinoline in chromosome analysis. - *Anales de Estacion Experimental de Aula Dei*, 2: 21-64.