



Siam Pontianak Tipe Baru: Pengaruh Colchicine pada Media Embryogenesis

Induksi keragaman oleh colchicine pada kalus embrionik siam Pontianak pada perkembangan embriogenesis menyebabkan perubahan morfologi dan genetik siam Pontianak. Pengamatan pada tanaman berumur 9 tahun menunjukkan perbedaan morfologi vegetatif daun, buah, kimia buah, dan keragaman genetik tanaman colchiploid dibandingkan induknya. Perubahan positif ini membuka peluang pemanfaatan VUB tipe baru siam Pontianak di kawasan produksi jeruk.

Siam Pontianak, dilepas pada tahun 2003 berdasarkan Keputusan Menteri Pertanian No.466/Kpts/PD.210/9/2003. Jeruk ini memiliki tipe buah yang disukai konsumen buah segar Indonesia. Buah jeruk siam memiliki kulit licin seperti berminyak berbentuk bulat dengan ujung buah tumpul datar. Saat matang kulit buah berwarna hijau kekuningan. Buah berkulit tipis (1–1,5 mm), menempel agak erat dengan segmen buah. Albedo kulitnya tipis dan cukup rapuh sehingga seringkali menempel pada segmen buah (Gambar 1). Kondisi kulit buah ini menyebabkan buah siam lebih sulit dibuka dan dibelah seperti jeruk keprok. Ketika dibelah, aroma buah jeruk siam sangat khas. Rasa buah manis segar dengan kandungan brix berkisar 12,5 dan kadar asam 5,6%.

Karakter daun siam Pontianak adalah *sessile* (tanpa petiole) dan daun tunggal tanpa petiole (Gambar 2A). Rasio daun umumnya 2:1 dengan panjang daun 6,5 cm dan lebar 3,0 cm, dengan panjang tangkai daun (petiole) 1–1,3 cm.

Bagi petani, jeruk siam memiliki daya tarik yang cukup tinggi. Umur panen pertama relatif muda, produktivitas buah tinggi sepanjang tahun, dan adaptasi yang luas dari dataran rendah hingga tinggi pada berbagai jenis tanah. Dari dataran kering hingga daerah pasang surut. Minat petani atas jeruk siam tergambar dari luas panen (ha) setiap tahunnya. Kementerian Pertanian menginformasikan luas areal tanam jeruk siam pada tahun 2014 di tiga daerah sentra jeruk siam, yaitu Jawa Timur (14.480 ha), Kalimantan Barat (6.926 ha), dan Kalimantan Selatan (3.393 ha).

Peningkatan Kualitas Jeruk Siam Pontianak

Kualitas genetika jeruk siam Pontianak harus ditingkatkan untuk meningkatkan daya saingnya sebagai buah segar dan olahan. Peningkatan kualitas meliputi karakter komersial dalam penampilan fisik, kenyamanan konsumsi, daya simpan, kandungan bahan aktif, dan ketahanan terhadap organisme pengganggu tanaman.

Peningkatan kualitas jeruk siam Pontianak diawali dengan induksi keragaman genetik.



Gambar 1. Karakter buah siam Pontianak saat masak



Gambar 2. Karakter daun siam Pontianak induk (A) dan colchiploid

Colchicine adalah bahan aktif kimia untuk polyploidisasi dan *mutagenic agent* (Bragal 1955) yang digunakan pada berbagai spesies seperti pisang (Bakry *et al.* 2007), anggur (Yang *et al.* 2006), sawit (Samala & Te-chato 2012), kentang (Barandalla *et al.* 2006), *Plantanus acerifolia* (Liu *et al.* 2007), *Alstroemeria aurea* × *Alstroemeria caryophyllaea* (Lu & Bridgen 1997), *Alocasia micholitziana* (Thao *et al.* 2003), *Miscanthus sinensis* dan *Miscanthus x giganteus* (Głowacka *et al.* 2010), dan jeruk tangor citrus (Wu & Mooney 2002). Sejak ditemukan tahun 1930-an, colchicine memang banyak digunakan untuk menghasilkan keragaman baru sebagai sumber gen atau langsung menjadi varietas komersial (Eeckhaut *et al.* 2004).

Secara alami colchicine memengaruhi level ploidi dan genetik, yang berimbas kepada perubahan morfologi dan anatomi karakter vegetatif dan generatif. Colchicine menyebabkan kenaikan jumlah dan ukuran daun tanaman sesame (Nura *et al.* 2013) dan ukuran tanaman yang lebih tinggi (Hoballah 1999). Perubahan karakter lain seperti ketebalan daun (*leaves thickness*), warna dan ukuran daun lebih besar, rangkaian bunga yang lebih besar, rasio panjang dan lebar daun, ukuran stomata,

jumlah kloroplas, ukuran bunga dan teksturnya, pemanjangan periode berbunga, diameter polen, ukuran buah lebih besar, kenaikan hasil panen (Gao *et al.* 1996, Shao *et al.* 2003, Urwin *et al.* 2007, Predieri 2001, Gu *et al.* 2005, Thao *et al.* 2003, Beck *et al.* 2003, Xu *et al.* 2010), produksi metabolit sekunder (Dhawan & Lavania 1996), dan asam amino yang lebih tinggi pada sorgum (Luo *et al.* 1992). Perubahan ini tergantung kepada genotipe tanaman (Głowacka *et al.* 2010).

Secara umum colchicine diaplikasikan pada bagian ruas tanaman yang tumbuh di nurseri atau lapang. Cara ini memberi berbagai keuntungan dan kerugian. Kelemahannya adalah mutan yang dihasilkan banyak memiliki kimera. Seleksi organ mutan dari kimera memerlukan durasi waktu dan biaya. Perubahan sel, jaringan, dan organ yang menyeluruh lebih diinginkan oleh pemulia. Oleh karena itu, aplikasi colchicine pada level sel tunggal yang tumbuh pada media *in vitro* kultur jaringan pada dekade terakhir lebih diminati dan terbukti efisien, serta murah dalam menghasilkan *solid mutant* (Shao *et al.* 2003). Pemberian colchicine pada konsentrasi 0,05; 0,1; dan 0,15% pada media tumbuh kalus embriogenik siam Pontianak selama 5, 7, dan 10 hari diikuti dengan tahapan embriogenesis, pembentukan tunas, dan mini *grafting* tanpa perlakuan ulang colchicines, memberikan pengaruh signifikan terhadap perubahan genetik dan level ploidi jeruk dewasa yang diamati.

Berbagai perubahan terjadi pada morfologi vegetatif dan generatif jeruk siam Pontianak. Pengamatan pada pohon dewasa berumur 9 tahun pada musim buah 2014 dan 2015 menunjukkan perubahan besar pada bentuk dan komposisi daun, warna kulit buah, tebal kulit, kandungan gula dan asam (*Brix acidity ratio*), kelengketan kulit buah, dan segmen buah, ketebalan albedo dan daya tahan buah pada ruang terbuka. Perubahan ini homogen pada setiap pohon yang diamati, menunjukkan bahwa tunas siam Pontianak colchiploid yang di-*grafting*-kan berasal dari sel tunggal mutan yang berkembang melalui embriogenesis dan beregenerasi menjadi planlet. Hipotesis yang mensinyalir bahwa penerapan colchicine pada tahap *single cell* dapat menghindari pembentukan kimera tampaknya berlaku efisien pada jeruk siam Pontianak ini. Keragaman ditemukan antarindividu, bukan

keragaman antarcabang utama dan ranting di dalam pohon yang sama.

Pengamatan pada buah colchiploid siam Pontianak (Gambar 3) menunjukkan bahwa kulit buah merata berukuran 5–7 mm, mudah dikupas dan dibelah. Brix antara 10–14, sedangkan keasaman 3–5%. Rasio BA yang tinggi ini dijumpai pada berbagai nomor menyebabkan rasa manis dominan seperti siam Madu dan jeruk Manis. Persentase ampas rendah, menandakan sebagian besar segmen buah dan *juice* dapat dikonsumsi. Organ albedo yang sering menempel pada segmen buah relatif sedikit karena albedo menempel relatif erat pada kulit buah. Karakter ini meningkatkan kenyamanan konsumsi buah segar, berbeda sekali dengan jeruk siam Pontianak dan tipe siam lainnya (Gambar 1). Beberapa aksesi colchiploid memiliki total performa yang berbeda, membuat penikmat buah colchiploid merasakan sensasi rasa jeruk manis dan kenyamanan keprok pada siam Pontianak tipe baru ini.

Fenomena rasa buah siam Pontianak colchiploid ini mungkin berhubungan dengan perubahan ukuran dan komposisi daunnya. Gambar 2 memperlihatkan perbedaan daun siam Pontianak induk yang berbentuk *sessile* dan colchiploid yang berbentuk *brevipetiolate* dengan daun petiole yang lebih pendek daripada lamina. Perubahan genetik dan level ploidi membuat daun lebih besar dan memiliki daun petiole. Ini memberikan pengaruh yang besar dalam peningkatan kapasitas fotosintesis tanaman karena pertukaran gas yang efektif (Lockhart *et al.* 1996). Peningkatan ukuran mungkin juga karena aktivitas hormonal tanaman terutama sitokinin

dipengaruhi juga oleh mutagenesis. Sitokinin penting sekali untuk proses perkembangan, pembelahan, dan morfogenesis (Mok & Mok 2001). Ukuran buah colchiploid yang lebih besar dan relatif bersih dari serangan OPT diyakini berkaitan dengan perubahan genetik dan level ploidi. Gambar 4 berikut ini memperlihatkan perbandingan tipe buah original dan colchiploid yang dipanen pada musim panas 2015. Buah dipanen dari areal penanaman yang sama, yaitu dalam kawasan 50–70 m², namun memiliki tingkat kerusakan OPT yang berbeda.

Perubahan morfologi siam Pontianak colchiploid ini telah dikonfirmasi oleh analisis genetik. Beberapa primer ISSR-5 yang dibuat dari sekuen gen tanaman jeruk dijadikan *template* pada program amplifikasi sampel daun siam Pontianak colchiploid. Hasilnya adalah keragaman yang relatif tinggi antara siam Pontianak induk dengan colchiploid. Gambar 5 memperlihatkan dendrogram yang membedakan siam Pontianak induk dan turunannya yang diperlakukan dengan colchicine.

Potensi Masa Datang dan Fokus Persiapan

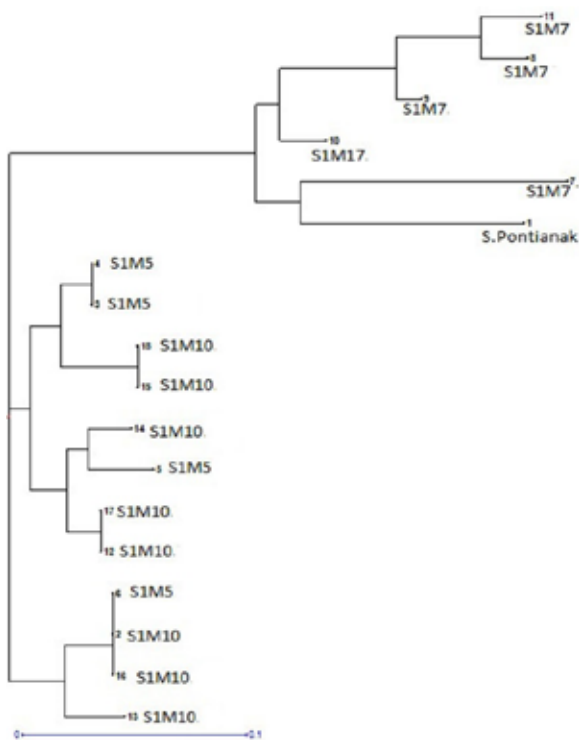
Penampilan morfologi, kimia colchiploid, dan konfirmasi marka DNA memberi pesan genotipe baru sudah hadir dan peluang dikembangkannya tipe baru siam Pontianak menggantikan tipe masa lalu. Kenyamanan konsumsi buah segar yang dimilikinya mesti dilengkapi dengan data potensi biokimia *juice*, biji, dan kulit buah. Informasi yang cukup akan memberikan informasi pengembangan kawasan produksi yang benar. Penanaman jeruk pada kawasan yang luas sebagai buah segar atau



Gambar 3. Karakter buah siam Pontianak colchiploid saat masak



Gambar 4. Perbandingan ukuran buah siam Pontianak colchiploid dibandingkan tetua siam Pontianak



Gambar 5. Keragaman genetik siam Pontianak colchipooid dibandingkan dengan tetua siam Pontianak

olahan memungkinkan pesan *zero waste* dari sebuah produk hortikultura dapat diterapkan. Biji colchipooid yang relatif besar dan banyak, kulit buah yang tebal adalah sumber bahan aktif potensial untuk diolah sebagai produk sampingan *juice* yang diyakini lebih rendah kadar tanninnya.

Observasi kompatibilitas siam Pontianak dengan batang bawah sudah dilaporkan untuk optimalisasi produksi. Informasi pengaruh batang bawah terhadap keragaman kandungan metabolit tanaman *scion* dan buah masih harus dilakukan. Pendalaman informasi genetik, biokimia colchipooid ini harus didampingi dengan kesesuaiannya dengan batang bawah untuk kepentingan produksi buah segar dan buah olahan yang kaya metabolit sekunder. Daya saing colchipooid yang baru diamati dua musim produksi ini masih harus digali untuk menyiapkannya sebagai varietas unggul baru dengan daya saing tinggi di pasaran lokal dan regional.

KESIMPULAN

Keragaman genetik siam Pontianak hasil perlakuan colchicines telah diamati pada fase

awal karakterisasi morfologi dan genetik. Tipe baru memiliki karakter buah yang lebih komersial dibandingkan tipe asli siam Pontianak. Berbagai pengamatan dan percobaan masih harus dilakukan untuk menggali potensi dan memaksimalkan ekspresi genetiknya di dataran tinggi dan rendah

DAFTAR PUSTAKA

1. Bakry, F, De-La-Reberdiere, NP, Pichot, S & Jenny, C 2007, 'In liquid medium colchicine treatment induces nonchimerical doubled diploids in a wide range of mono and interspecific diploid banana clones', *Fruits*, no. 62, pp. 3-12.
2. Barandalla, L, Ritter, E & De-Galarreta, JIR 2006, 'Oryzalin treatment of potato diploids yields tetraploid and chimeric plants from which euploids could be derived by callus induction', *Potato Research*, no. 49, pp. 143-54.
3. Beck, SL, Dunlop, RW & Fossey, A 2003, 'Stomatal length and frequency as a measure of ploidy level in black wattle, *Acacia mearnsii* (De Wild.)', *Botanical Journal of the Linnean Society*, no. 141, pp. 177-81.
4. Bragal, M 1955, 'Production of polyploids by colchicine', *Euphytica*, no. 4, pp. 76-82.
5. Dhawan, OP & Lavania, UC 1996, 'Enhancing the productivity of secondary metabolites via induced polyploidy: A review', *Euphytica*, no. 87, pp. 81-9.
6. Eeckhaut, TGR, Werbouck, SPO, Leus, LWH, Van-Bockstaele, EJ & Deberrgh, PC 2004, 'Chemically induced polyploidization in *Spathiphyllum wallisii* Regel through somatic embryogenesis', *Plant Cell Tissue Organ Culture*, no. 78, pp. 241-6.
7. Gao, SL, Zhu, DN, Cai, ZH & Xu, DR 1996, 'Autotetraploid plants from colchicine treated bud culture of *Salvia miltiorrhiza* Bge', *Plant Cell Tissue Organ Culture*, no. 47, pp. 73-7.
8. Głowacka, K, Jeżowski, S & Kaczmarek, Z 2010, 'Impact of colchicine application during callus induction and shoot regeneration on micropropagation and polyploidisation rates in two *Miscanthus* species', *In Vitro Cell Developmental Biology Plant*, no. 46, pp. 161-71.
9. Gu, XF, Yang, AF, Meng, H & Zhang, JR 2005, 'In vitro induction of tetraploid plants from diploid *Zizyphus jujyba* Mill. cv. Zhanhua', *Plant Cell Reports*, no. 24, pp. 671-6.

10. Hoballah, AA 1999, 'Selection and agronomic evaluation of induced mutant lines of sesame. Induced Mutations for Sesame Improvement', *IAEA- TECDOC*, pp. 71-84.
11. Liu, G, Li, Z & Bao, M 2007, 'Colchicine-induced chromosome doubling in *Platanus acerifolia* and its effect on plant morphology', *Euphytica*, no. 157, pp. 145-54.
12. Lockhart, PJ, Steel, MA & Larkum, AWD 1996, 'Gene duplication and the evolution of photosynthetic reaction centre proteins', *FEBS Lett*, no. 385, pp. 193-6.
13. Lu, Ch & Bridgen, MP 1997, 'Chromosome doubling and fertility study of *Alstroemeria aurea* × *A. caryophyllaea*', *Euphytica*, no. 94, pp. 75-81.
14. Luo, YW, Yen, XC, Zhang, GY & Liang, GH 1992, 'Agronomic traits and chromosome behaviour of autotetraploid sorghums', *Plant Breeding*, no. 109, pp. 46-53.
15. Mok, DW & Mok, MC 2001, 'Cytokinin metabolism and action', *Annual Review Microbiology Plant Physiology Molecular Biology*, no. 52, pp. 89-118.
16. Nura, S, Adamu, AK, Mu'Azuz, S, Dangora, DB & Fagwalawa, LD 2013, 'Morphological characterization of colchicine-induced mutants in Sesame (*Sesamum indicum* L.)', *Journal of Biological Sciences*, no. 13, pp. 277-82.
17. Predieri, S 2001, 'Mutation induction and tissue culture in improving fruits', *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, no. 64, pp. 185-210.
18. Samala, S & Te-chato, S 2012, 'Ploidy induction through secondary somatic embryo (SSE) of oil palm by colchicine treatment', *Journal of Agricultural Technology*, no. 8, pp. 337-52.
19. Shao, J, Chen, C & Deng, X 2003, 'In vitro induction of tetraploid in pomegranate (*Punica granatum*)', *Plant Cell Tissue Organ Culture*, no. 75, pp. 241-6.
20. Thao, NTP, Ureshino, K, Miyajima, I, Ozaki, Y & Okubo, H 2003, 'Induction of tetraploids in ornamental *Alocasia* through colchicine and oryzalin treatments', *Plant Cell Tissue Organ Culture*, no. 72, pp. 19-25.
21. Urwin, NAR, Horsnell, J & Moon, T 2007, 'Generation and characterization of colchicine-induced autotetraploid *Lavandula angustifolia*', *Euphytica*, no. 156, pp. 257-66.
22. Wu, JH & Mooney, P 2002, 'Autotetraploid tangor plant regeneration from in vitro citrus somatic embryogenic callus treated with colchicine', *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, no. 70, pp. 99-104.
23. Xu, L, Najeeb, U, Naeem, MS, Daud, MK, Cao, JS, Gong, HJ, Shen, WQ & Zhou, WJ 2010, 'Induction of tetraploidy in *Juncus effusus* by colchicine', *Biologia Plantarum*, no. 54, pp. 659-3.
24. Yang, XM, Cao, ZY, An, LZ, Wang, YM & Fang, XW 2006, 'In vitro tetraploid induction via colchicine treatment from diploid somatic embryos in grapevine (*Vitis vinifera* L.)', *Euphytica*, no. 152, pp. 217-4.

Dita Agisimanto dan Farida Yulianti

Balai Penelitian Tanaman Jeruk
dan Buah Subtropika
Jln. Raya Tlekung no. 1, Junrejo,
Kotak Pos 22, Kota Batu, Jawa Timur 65301
E-mail: agisimanto@gmail.com