

**Pengaruh Pemaparan Kolkhisin Terhadap Terbentuknya Jumlah
DNA dan Viabilitas *Saccharomyces cerevisiae***

**The Effect of Colchine Exposure on the Formation of amount of DNA
and *Saccharomyces cerevisiae* Viability**

Muhammad Thamrin Hidayat*

Universitas Nahdlatul Ulama Surabaya

*m.thamrin@unusa.ac.id

diterima : 12 Februari 2021; dipublikasi : 31 Maret 2021

DOI: 10.32528/bioma.v6i1.4820

ABSTRAK

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris. Tujuan penelitian untuk melihat pengaruh pemaparan kolkhisin terhadap terbentuknya jumlah DNA dan viabilitas *Saccharomyces cerevisiae*. Konsentrasi kolkhisin yang digunakan adalah 0 ppm, 1ppm, 2 ppm, dan 3 ppm, sedang waktu lama pemaparan tiap kelompok 48 jam, 72 jam, dan 96 jam. Untuk menghitung jumlah sel *Saccharomyces cerevisiae* baik yang terpapar kolkhisin maupun tidak terpapar dengan menggunakan mikroskop cahaya biasa. Hasilnya jumlah sel *Saccharomyces cerevisiae* tidak berbeda nyata. Sedangkan untuk melihat adanya pertambahan jumlah DNA dengan menggunakan *spektrofotometry* UV. Hasilnya pada perendaman 2 ppm dengan lama waktu 48 jam menunjukkan peningkatan terbentuknya jumlah DNA. Kesimpulan hasil penelitian ini bahwa tidak ada pengaruh lama perendaman terhadap viabilitas sel *Saccharomyces cerevisiae* dan perendaman sel *Saccharomyces cerevisiae* menyebabkan terjadinya jumlah DNA bertambah atau juga di sebut terjadi poliploidisasi.

Kata Kunci: poliploid, *Saccharomyces cerevisiae*, kolkhisin

ABSTRACT

This research is an experimental laboratory research. The aim of this research was to see the effect of colchicine exposure on the formation of the amount of DNA and the viability of *Saccharomyces cerevisiae*. The concentrations of colchicine used were 0 ppm, 1ppm, 2 ppm, and 3 ppm, while the length of exposure for each group was 48 hours, 72 hours, and 96 hours. To see the number of *Saccharomyces cerevisiae* cells properly exposed to colchicine and using a normal light microscope. The result was that the number of *Saccharomyces cerevisiae* cells was not significantly different. Meanwhile, to see the increase in the amount of DNA using UV spectrophotometry. The results at 2 ppm immersion for 48 hours showed an increase in the formation of the amount of DNA. The conclusion of the results of this study is that there is no effect of immersion time on the viability of *Saccharomyces cerevisiae* cells and immersion of *Saccharomyces cerevisiae* cells which causes the amount of DNA to increase or it is also called polyploidization.

Keywords: polyploidization, *Saccharomyces cerevisiae*, colchicine

PENDAHULUAN

Untuk membuat organisme menjadi lebih unggul atau memiliki kelebihan dari organisme aslinya dibuatnya organisme tersebut menjadi poliploid. Bahkan untuk pemuliaan organisme dapat juga dilakukan dengan dilakukan mutasi baik secara fisika maupun kimia. Mutasi secara fisika biasanya dengan menggunakan iradiasi sinar Gamma (Martin *et al*, 2013), atau dengan dilakukan fusi protoplas (Martin *et al*, 2015), sedangkan dengan menggunakan zat kimia dapat dilakukan melalui induksi poliploidi tanaman. Induksi poliploidi pada tanaman telah banyak dilakukan dengan tujuan untuk menghasilkan set kromosom (genom) lebih dari sepasang (Arumingtyas, 2016).

Tanaman atau mikroorganisme menjadi mutan unggul, ada beberapa cara di antaranya dengan membuat sel menjadi poliploid. Membuat organisme menjadi poliploidi, ada beberapa cara yaitu dengan cara menginduksi menggunakan nitrogen-oksida, pemberian panas yang berlebih, maupun menggunakan kolkhisin. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa, yang paling efektif adalah dengan menggunakan kolkhisin (Ajijah, 2003). Dari hasil penelitian Ajijah (2003) penggunaan kolkhisin terhadap tanaman kencur (*Kaemferia galangan* Linn), diperoleh jumlah rumpun lebih banyak, ukuran lebih besar, dan diameter rimpang lebih besar dibandingkan kontrol.

Tanaman poliploid dapat tumbuh lebih pesat dibandingkan individu diploid maupun haploid. Individu triploid memiliki sifat steril, sedangkan individu tetraploid bersifat fertil (Sistina, 2000). Perlakuan dengan kolkhisin dalam jangka waktu lama biasanya menghasilkan pertambahan genom seperti deret ukur yaitu $4n$, $8n$, $16n$, dan seterusnya (Brewbaker, 1983, dalam Ajijah, 2003). Individu diploid yang menghasilkan mutan gamet haploid ($1n$) biasanya berumur pendek (Adisoemarto, 1988,1-11). Cara induksi untuk mendapatkan tanaman poliploidi telah banyak dilakukan dengan tujuan antara lain sebagai tetua, dan juga menghasilkan tanaman triploid yang mempunyai sifat tanpa biji serta diikuti peningkatan kualitas buah seperti pada jeruk mandarin, buah semangka (Aleza et al. 2009).

Aklimatisasi planlet talas poliploid menunjukkan 100% planlet mampu bertahan hidup. Planlet heksaploid dan oktaploid mampu tumbuh namun lebih lambat dibandingkan planlet diploid dan tetraploid. Dalam beberapa penelitian menyebutkan tanaman atau organisme poliploid ada yang menguntungkan bagi pembudidaya ada

pula merugikan, misalnya pertumbuhan lambat, dan tidak dapat melakukan reproduksi lebih lanjut atau yang disebut mandul. Apakah hal demikian juga terjadi pada organisme ragi atau yang sering disebut dengan *yeast*. Ragi oleh beberapa kalangan dipergunakan sebagai pembuat tape, tempe, kecap, , hal ini menurut Nuraida *et al.* (2014), dalam bukunya *Lactic Vegetable and Fruit Fermentations. In: J.D. Owens (Ed.), Indigenous Fermented Foods of Southeast Asia.*, karena ragi aman, efektif. Kegiatan ini merupakan bidang bioteknologi sederhana. Menurut Bartholomaeus *et al.* (2013), di bidang bioteknologi ini diharapkan mampu meningkatkan nilai guna dan manfaat dari berbagai jenis bahan pangan untuk memenuhi kebutuhan manusia.

Pada industri besar ragi digunakan untuk membuat alkohol atau ethanol. Ragi menjadi potensi yang sangat penting untuk menghasilkan etanol sebagai biofuel melalui proses fermentasinya. Biofuel bahan dasarnya adalah etanol, dan sampai saat ini memiliki kontribusi untuk pengganti energi fosil karena ramah lingkungan (Farrell *et al.*, 2006).

Sejauh ini belum ada peneliti membuat ragi menjadi poliploid. Menjadi pertanyaan, dapatkah ragi dijadikan organisme poliploid? dan apabila dapat, apakah masih memiliki viabilitas? Berdasarkan pertanyaan tersebut, maka peneliti akan melakukan penelitian dengan judul “Pengaruh Pemaparan Kolkhisin Terhadap Terbentuknya Jumlah DNA dan Viabilitas *Saccharomyces cerevisiae*”

Berdasarkan uraian dan kajian kepustakaan di atas, untuk mendapatkan sel *Saccharomyces cerevisiae* yang jumlah DNA lebih banyak dipengaruhi oleh konsentrasi larutan kolkhisin dan lama waktu pemaparan. Dengan demikian permasalahan di atas yang ingin dicari jawabannya adalah: 1. Apakah *Saccharomyces cerevisiae* yang terpapar kolkhisin memiliki perbedaan viabilitas dengan *Saccharomyces cerevisiae* yang tidak terpapar kolkhisin?, 2. Bagaimana jumlah DNA yang terbentuk dari hasil pemaparan kolkhisin, dan bagaimana pula jumlah DNA *Saccharomyces cerevisiae* tanpa pemaparan kolkhisin?, 3. Berapa konsentrasi kolkhisin sehingga terbentuk *Saccharomyces cerevisiae* jumlah DNA yang lebih banyak? 4. Berapa lama pemaparan kolkhisin yang efektif dapat menggandakan DNA? Tujuan umum penelitian yang akan dilakukan adalah untuk mendapatkan sel *Saccharomyces cerevisiae* memiliki jumlah DNA yang lebih banyak (poliploid). Ingin mengetahui berapa lama pemaparan

kolkhisin yang paling efektif hingga terjadinya ragi yang poliploid, dan apakah ragi yang poliploid masih memiliki kemampuan dalam viabilitasnya?

METODE

Saccharomyces cerevisiae yang digunakan dalam penelitian ini adalah biakan murni yang diperoleh dari laboratorium mikrobiologi Universitas Brawijaya Malang, larutan kolkhisin, medium YEPD (Stansfield, 2007). Sedangkan bahan-bahan lain yang digunakan diantaranya *Pepton Patato Glucosa* produk *Marck*, glukosa, alkohol, spiritus, korek api, aluminium foil, kapas non absorbent, metanol, diklorometan, akuabides, etanol dan kertas saring Whitman no. 40, millipore ukuran 0,22 μm . Bahan dalam KIT berupa buffer PL1, PW, PW1, PW2, PC, kolom ring warna violet, dan kolom ring warna hijau. Selain bahan yang digunakan juga di perlukan alat-alat berupa gelas kimia 50 ml dan 100 ml dan 250 ml, erlenmeyer, gelas ukur, tabung reaksi, kaca pengaduk, botol fermentasi, corong gelas, botol vial, pipet ukur 1 ml, labu ukur 10 ml, gelas obyek, dan *cover glass*, lampu spiritus, dan lampu ultra violet (UV) 16watt. Alat-alat lain yang digunakan penelitian ini yaitu: neraca, autoklav, inkubator, *laminar airflow cabinet*, saringan, mikropipet, mikroskop, presto, *magnetic stirrer motor* dan *stir bar*, mikroskop cahaya, *refrigerated sentrifuge*. Alat *shaker* (penggoyang) untuk mencegah sel ragi menggumpal. Perangkat kromatografi tipe Hewlett Packard tipe HP-6890 series Packed GC System serial US 00024079, pinjam di laboratorium Unair Untuk melihat kepadatan sel dengan menggunakan hemositometer spesifikasi ukuran *Depth* (kedalaman) 100 mm dan luas 0,0025 mm²

Jenis penelitian yang dilakukan ini adalah jenis penelitian eksperimental laboratoris. Dalam penelitian ini bertujuan untuk membuktikan kemampuan kolkhisin dalam berbagai konsentrasi dan lama pemaparan menjadikan sel *Saccharomyces cerevisiae* DNA nya berlipat (poliploid), dan untuk mengetahui kemampuan sel *Saccharomyces cerevisiae* yang telah terpapar kolkhisin memiliki viabilitas. Untuk melihat viabilitas sel *Saccharomyces cerevisiae* perlunya diamati jumlah kepadatan awal sel *Saccharomyces cerevisiae* hingga akhir perlakuan. Untuk mengetahui ada tidaknya pertambahan jumlah DNA perlu diadakan analisis jumlah DNA yang terkandung antara sel *Saccharomyces cerevisiae* yang terpapar larutan berbagai konsentrasi kolkhisin maupun yang tidak terpapar larutan kolkhisin. Pemaparan sel

Saccharomyces cerevisiae dengan kolkhisin berbagai konsentarsi yatiu: 0 ppm, 1 ppm, 2 ppm, dan 3 ppm, dan lama waktu pemaparan dengan kolkhisin 48 jam, 72 jam, dan 96 jam. Konsentrasi kolkhisin dan lama pemaparan merupakan variabel bebas (*variabel dependent*). Untuk variabel terikat/tergantung (*independent variable*) adalah jumlah DNA dan viabilitas ragi. Untuk mengetahui apakah ada pengaruh pemaparan kokhisin terhadap viabilitas sel *Saccharomyces cerevisiae* perlu juga diamati dan juga di hitung dengan menggunakan statistika.

Sel *Saccharomyces cerevisiae* yang akan diperlakukan diremajakan pada medium *Potato Dextrose Agar* (PDA) selama 48 jam. Setelah 48 jam berakhir, *Saccharomyces cerevisiae* diambil dengan satu ose steril diperbanyak ke dalam medium cair YEPD selama 24 jam. Untuk mencegah penggumpalan sel maka medium yang telah mengandung kultur *Saccharomyces cerevisiae* dilakukan dengan menggunakan penggoyang (*Shaker*). Setelah 24 jam inkubasi dilakukan penghitungan kepadatan kultur *Saccharomyces cerevisiae* dengan menggunakan *haemositometer*. Dengan mengambil 4 ml biakan kemudian ditambah 1 ml akuabides dan pada untuk pemaparan kolkhisin penambahan larutan kolkhisin 1 ml. Setelah itu biakan sel *Saccharomyces cerevisiae* ditetaskan pada hemositometer, kemudian dihitung 16 kotak sel *Saccharomyces cerevisiae* dengan menggunakan mikroskop cahaya. Perhitungan dilakukan sebanyak dua kali ulangan, kemudian dihitung rata-ratanya. Untuk memudahkan penghitungan digunakan kamera digital untuk merekam, kemudian ditransfer ke komputer atau dicetak untuk dihitung. Alat *haemositometer* yang digunakan yang mempunyai spesifikasi ukuran *Depth* (kedalaman) 100 mm dan luas $0,0025 \text{ mm}^2$. Dengan demikian jumlah sel *Saccharomyces cerevisiae* terhitung di dalam 16 kotak adalah memiliki jumlah kepadatan sel *Saccharomyces cerevisiae*. Sebagai contoh: bila dalam 16 kotak dihitung sel *Saccharomyces cerevisiae* berjumlah 244 sel, maka jumlah sel *Saccharomyces cerevisiae* $244 \text{ sel}/0,25 \text{ mm}^3$.

Setelah ditemukan kepadatan sel *Saccharomyces cerevisiae*, maka dapat ditentukan berapa kepadatan awal yang ada pada medium YEPD sebagai obyek percobaan. Demikian pula untuk melihat kepadatan akhir perlakuan dilakukan pengamatan serupa dengan jalan menghitung kembali.

Larutan Kolkhisin yang digunakan dalam penelitian ada berbagai macam konsentrasi. Penyiapan larutan kolkhisin yaitu dengan mencampurkan *powder* kolkhisin murni buatan SIGMA *approx* 95 % (HPLC) dengan akuabides sehingga mendapat konsentrasi 1 ppm, 2ppm dan 3ppm. Untuk 0 ppm digunakan hanya akuabides.

Kultur *Saccharomyces cerevisiae* dengan kepadatan tertentu diambil, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi ukuran 16 ml. Kemudian setiap tabung reaksi ditambahkan larutan kolkhisin hingga memiliki konsentrasi kolkhisin sesuai yang diperlukan yaitu 0 ppm, 1 ppm, 2 ppm, dan 3 ppm. Delapan tabung reaksi untuk pemaparan kolkhisin dengan lama 48 jam, delapan tabung reaksi untuk pengamatan kolkhisin dengan lama pemaparan 72 jam, dan delapan tabung reaksi untuk pengamatan kolkhisin dengan lama pemaparan 96 jam.

Sejak awal perlakuan jumlah sel dihitung kemudian pada akhir pemaparan yaitu: 48 jam, 72 jam, dan 96 jam, di hitung dengan jalan pengamatan dengan mikroskop, untuk melihat kepadatan sel dengan menggunakan hemositometer. Suhu pemaparan yang digunakan adalah suhu kamar yaitu antara 28⁰ C hingga 31⁰. Agar sel tidak mengendap selama pemaparan dilakukan dua sampai tiga kali penggojokan dengan vortex.

Saccharomyces cerevisiae yang telah dikultur ke dalam 100 ml medium YEPD selama 24 jam, diamati jumlah kepadatannya. Setelah itu, disiapkan 8 tabung reaksi kemudian diambil 4 ml dari kultur induk dan dimasukkan masing-masing ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan akuades yang memiliki sebagai konsentrasi 0 ppm (akuabides) kolkhisin, ditambahkan kolkhisin hingga memiliki konsentrasi 1 ppm, ditambahkan kolkhisin hingga memiliki konsentrasi 2 ppm, dan ditambahkan kolkhisin hingga memiliki konsentrasi 3 ppm. Kemudian diambil satu tetes untuk dilihat dengan mikroskop jumlah kepadatan dalam tabung reaksi untuk melihat kepadatan awal sel. Akhir pemaparan dengan kolkhisin diambil satu tetes dan diteteskan pada haemositometer. Dengan mikroskop kepadatan akhir pemaparan dan dihitung jumlah sel. Hasilnya antara awal perlakuan dengan akhir perlakuan dibandingkan. Dengan demikian dapat dilihat perbedaan kepadatan awal dan akhir, bila tidak ada penambahan pada perlakuan tertentu maka terjadinya hambatan viabilitas oleh perlakuan kolkhisin.

Untuk melihat apakah *Saccharomyces cerevisiae* terjadi perubahan jumlah DNA atau tidak, perlu analisis DNA. Analisis DNA ini untuk mengetahui kromosom *Saccharomyces cerevisiae* hasil pengaruh pemaparan kolkhisin pada berbagai konsentrasi dan lama waktu pemaparan. Untuk mendapatkan DNA *Saccharomyces cerevisiae* dilakukan isolasi DNA dengan menggunakan bahan dari KIT produk MACHERY-NAGEL (MN). Prosedur kerja KIT MN untuk melihat jumlah pertambahan DNA yeast dengan langkah-langkah sebagai berikut.

1. Yeast yang diuji DNA nya yang ada dalam tabung reaksi dipisahkan dengan medium yang ada dengan dilakukan sentrifuse.
2. Pellet yang dihasilkan dipindahkan ke dalam tabung ependrof ukuran 1,5 ml, kemudian ditambah 200 µl buffer PL1
3. Setelah itu dilakukan vortek dengan tujuan agar yeast dan buffer PL1 bercampur rata.
4. Kemudian ditambahkan lagi buffer PL1 sebanyak 100 µl.
5. Untuk mencampur yeast dengan buffer lebih merata dilakukan dengan jalan melakukan vortek.
6. Kemudian diinkubasi pada penangas air (*waterbath*) dengan suhu 65⁰ C selama 10 menit.
7. Setelah diinkubasi ditambahkan 100 µl kloroform dan kemudian divortek atau dikocok dengan pipet perlahan-lahan (*pipeting*)
8. Untuk mendapatkan supernatan dilakukan sentrifus selama 15 menit dengan kecepatan 12.000 g. Setelah disentrifus akan didapatkan dua bagian yang terpisah bagian bawah berisi cairan bening dan bagian tengah terdapat lapisan pellet yeast menyerupai plat/lapisan pipih dan bagian atas lapisan pipih terdapat cairan bening (supernatan).
9. Cairan bening di bagian atas pelet diambil dengan pipet secara hati-hati untuk dipindahkan ke dalam ependrof baru ukuran 1,5 ml. bagian atas eppendrof diletakkan kolom ring berwarna violet/ungu. Posisi kolom ring dapat masuk ke dalam ependrof tetapi tidak sampai ke dasar.
10. Ependrof dan ring violet yang telah berisi cairan bening dilakukan sentrifus selama 2 menit dengan kecepatan 11.000 g.

11. Filtrat hasil sentrifus ditambahkan 450 ml buffer PC, kemudian dipipeting setelah itu dipindahkan ke dalam kolom ring hijau di mana kolom ring hijau berada pada ependrof.
12. Setelah itu disentrifus selama 1 menit dengan kecepatan 11.000 g. Filtrat yang ada hasil sentrifus di ependrof dibuang.
13. Ke dalam kolom ring hijau ditambahkan 400 µl buffer PW1, setelah itu dilakukan sentrifus selama 1 menit dengan kecepatan 11.000 g. Filtrat hasil sentrifuse dibuang.
14. Ke dalam kolom ring hijau ditambahkan buffer PW2 sebanyak 400 µl. Kemudian filtrat yang dihasilkan dari kolom ring hijau didapatkan cairan bening yang mengandung DNA.
15. Cairan yang mengandung DNA diukur dengan *spektrofotometry* UV dengan serapan λ 260 nm. Hasilnya tertera di layar *spektrofotometry*, selanjutnya dihitung bahwa 1 OD setara dengan 50 µg/ml.

Analisis data menggunakan analisa kuantitatif untuk (1) mengetahui beda viabilitas sel *Saccharomyces cerevisiae* sebelum dan sesudah terpapar kolkhisin. (2) memastikan pengaruh konsentrasi kolkhisin terhadap peningkatan DNA, (3) memastikan pengaruh lama pemaparan kolkhisin terhadap jumlah DNA, Untuk mengetahui hubungan beberapa variabel digunakan statistik SPSS, agar hasilnya dapat di simpulkan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini adalah bertujuan untuk menguji pengaruh kolkhisin dari berbagai konsentrasi dan berbagai lama pemaparan pada sel *Saccharomyces cerevisiae* terhadap penggandaan jumlah DNA, serta menguji kemampuan sel *Saccharomyces cerevisiae* yang telah terpapar kolkhisin terhadap daya viabilitasnya. Hasilnya pengamatan pertama kepadatan awal yaitu 236 dan 253 sel bila dirata-rata kedua pengamatan tersebut kepadatannya 244 sel.

Dari hasil pengamatan tidak ada kultur sel *Saccharomyces cerevisiea* yang tidak bertambah, dalam hal ini dapat dilihat kepadatan rata-rata awal 244 sel dan kepadatan akhir lebih dari jumlah rata dari jumlah sel awal, namun ada beberapa kenaikannya

tidak begitu banyak. Walaupun ada beberapa yaitu lama paparan 96 jam dapat mencapai lebih dari 300 sel yaitu mencapai 346 sel.

Hasil Viabilitas Sel *Saccharomyces cerevisiae*

Hasil analisis varian ganda variabel konsentrasi dan lama paparan terhadap viabilitas, ringkasannya seperti pada Tabel 1

Tabel 1. Ringkasan Hasil Analisis Varian Ganda Viabilitas pada Konsentrasi dan Lama Paparan

Tests of Between-Subjects Effects					
Dependent Variable: Arcsin viabilitas sel					
Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1832,419 ^a	11	166,584	1,364	,300
Intercept	13212,043	1	13212,043	108,174	,000
KONSEN	741,242	3	247,081	2,023	,164
LPAPAR	785,184	2	392,592	3,214	,076
KONSEN * LPAPAR	305,994	6	50,999	,418	,854
Error	1465,641	12	122,137		
Total	16510,103	24			
Corrected Total	3298,060	23			

a. R Squared = ,556 (Adjusted R Squared = ,148)

Pada Tabel 1 tampak bahwa menunjukkan bahwa nilai F-hitung X1 (konsentrasi), F-hitung X2 (lama paparan), dan F-hitung interaksi diperoleh nilai signifikansi lebih besar daripada $\alpha = 0,05$ (sig. > 0,05), hal ini menunjukkan bahwa hipotesis nihil diterima dan hipotesis penelitian ditolak. Viabilitas sel tidak berbeda pada antar konsentrasi kolkhisin. Viabilitas sel tidak berbeda pada antar Lama paparan. Viabilitas sel tidak berbeda pada konsentrasi dan lama paparan yang berbeda.

Untuk mengetahui besarnya rerata antar taraf perlakuan pada masing-masing konsentrasi, lama paparan, dan kombinasi konsentrasi dan lama paparan seperti pada Tabel 2, Tabel3, dan Tabel 4

Tabel 2. Rerata Viabilitas Sel pada Beberapa Konsentrasi

KONSEN	PVIABIL	AVIABIL
2	9,0242	16,2983
3	16,4420	22,2963
1	19,4525	23,3770
0	28,6092	31,8796

Pada Tabel 2 tampak bahwa taraf konsentrasi 0 ppm menghasilkan rerata viabilitas sel yang paling besar yaitu 28,61% tetapi tidak berbeda nyata dengan

konsentrasi lainnya. Dari nilai rerata viabilitas sel pada masing-masing konsentrasi menunjukkan bahwa ada penurunan viabilitas sel dari konsentrasi 0 ppm, kemudian konsentrasi 1 ppm, 3 ppm, dan selanjutnya konsentrasi 2 ppm.

Tabel 3 Rerata Viabilitas Sel pada Beberapa Lama Pemaparan

LPAPAR	PVIABIL	AVIABIL
72	12,2544	19,4045
48	12,8758	19,4321
96	30,0157	31,5518

Pada Tabel 3 tampak bahwa taraf waktu pemaparan 96 jam menghasilkan rerata viabilitas sel yang paling besar yaitu 30,02% tetapi tidak berbeda nyata dengan lama pemaparan lainnya yaitu 48 jam dan 72 jam. Dari nilai rerata viabilitas sel pada masing-masing lama pemaparan menunjukkan bahwa pada lama pemaparan 96 jam reratanya cukup berbeda dengan dengan lama pemaparan 48 dan 72 jam tetapi secara statistika tidak berbeda.

Tabel 4. Rerata Viabilitas Sel pada Konsentrasi dan Lama Pemaparan

KONSENT	LPAPAR	CODE	PVIABIL	ABIABIL
1	48	4	10,3529	15,8027
2	48	7	7,5258	15,8765
3	72	11	9,2366	16,2581
2	96	9	10,1126	16,4023
3	48	10	8,5299	16,4615
2	72	8	9,4343	16,6162
1	72	5	11,2556	18,8674
0	72	2	19,0912	25,8763
0	48	1	25,0947	29,5876
3	96	12	31,5595	34,1692
1	96	6	36,7489	35,4608
0	96	3	41,6419	40,1749

Pada Tabel 4 tampak bahwa viabilitas sel yang paling besar adalah pada konsentrasi 0 dengan lama pemaparan 96 jam yaitu 41,64% tetapi viabilitas sel secara statistika tidak berbeda nyata dengan kombinasi lainnya.

Analisa Jumlah DNA Sel *Saccharomyces cerevisiae* Setelah Pemaparan

Hasil analisa DNA sel *Saccharomyces cerevisiae* yang terpapar kolkhisin maupun kontrol bila dirata-rata hasilnya menunjukkan bahwa konsentrasi 2 ppm memiliki jumlah DNA 377,583 pada lama pemaparan 48 jam, 72 jam, dan 96 jam, yang ke dua jumlah 349,791 pada konsentrasi 0 ppm, kemudian jumlah 338,675 pada konsentrasi 2 ppm, dan yang terakhir adalah pada konsentrasi 3 ppm berjumlah 310,958. Hal ini sesuai penelitian (Wulansari, dkk., 2016) bahwa tanaman diploid dikalibrasi mendapatkan puncak *channel* 200, sedangkan tanaman triploid menunjukkan *channel* 400. Kemudian disimpulkan bahwa tingkat poliploid sesuai dengan kelipatan rata-rata kandungan DNA

Untuk mengetahui apakah ada perbedaan konsentrasi kolkhisin, lama pemaparan dengan jumlah DNA yang terbentuk, ini perlu diuji dengan statistik Analisis Varian Ganda dengan variabel konsentrasi dan lama pemaparan, ringkasannya seperti berikut.

Tabel 5. Ringkasan Hasil Analisis Varian Ganda Konsentrasi dan Lama Pemaparan terhadap Jumlah D

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Jumlah DNA-X3

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	127779,167 ^a	11	11616,288	3963,852	,000
Intercept	5732536,333	1	5732536,333	1956126	,000
X1	22900,500	3	7633,500	2604,796	,000
X2	86888,667	2	43444,333	14824,607	,000
X1 * X2	17990,000	6	2998,333	1023,128	,000
Error	105,500	36	2,931		
Total	5860421,000	48			
Corrected Total	127884,667	47			

a. R Squared = ,999 (Adjusted R Squared = ,999)

Pada Tabel 5, tampak bahwa menunjukkan bahwa nilai F-hitung X1 (konsentrasi), F-hitung X2 (lama pemaparan), dan F-hitung interaksi diperoleh nilai signifikansi 0,000 (sig. < 0,05), hal ini menunjukkan bahwa hipotesis nihil ditolak dan hipotesis penelitian diterima. Konsentrasi berpengaruh terhadap jumlah DNA. Lama pemaparan berpengaruh terhadap jumlah DNA. Interaksi konsentrasi dan lama pemaparan berpengaruh terhadap jumlah DNA.

Untuk mengetahui perbedaan rerata antar taraf perlakuan pada masing-masing konsentrasi, lama pemaparan, dan kombinasi konsentrasi dan lama pemaparan dilakukan uji lanjut Beda Nyata Terkecil (BNT). Ringkasan uji BNT seperti pada Tabel 6 (konsentrasi), Tabel 3 (lama pemaparan), Tabel 4 (kombinasi konsentrasi dan lama pemaparan).

Tabel 6. Ringkasan Uji Beda Nyata Terkecil Jumlah DNA akibat Perlakuan Konsentrasi (X3)

LSD Notation

X3	Jumlah	LSD Notation
3	315,1667	a
1	344,4167	b
0	345,8333	b
2	376,9167	c

Pada Tabel 6 tampak bahwa taraf konsentrasi 2 ppm menghasilkan rerata jumlah DNA yang paling besar yaitu 376,9167 tetapi berbeda nyata dengan konsentrasi 0 ppm dan 1 ppm. Dari nilai rerata jumlah DNA pada masing-masing konsentrasi menunjukkan bahwa ada peningkatan jumlah DNA dari konsentrasi 1 ppm, 0 ppm, kemudian 2 ppm, dan setelah konsentrasi 1 ppm yaitu pada konsentrasi 3 ppm mengalami penurunan jumlah DNA. Tapi antara konsentrasi 1 ppm dan 0 ppm tidak berbeda nyata.

Tabel 7 Ringkasan Uji Beda Nyata Terkecil Jumlah DNA akibat Perlakuan Lama Pemaparan (X2)

LSD Notation

X2	Jumlah	LSD Notation
72	315,000	a
96	316,000	a
48	405,750	b

Pada Tabel 7 tampak bahwa taraf waktu pemaparan 48 jam menghasilkan rerata jumlah DNA yang paling besar yaitu 405,750 dan berbeda nyata dengan lama pemaparan lainnya yaitu 72 jam dan 96 jam. Dari nilai rerata jumlah DNA pada masing-masing lama pemaparan menunjukkan bahwa ada penurunan jumlah DNA dari 48 jam,

96 jam, dan 72 jam. Tapi jumlah antara 96 jam dan 72 jam jumlah DNA tidak berbeda nyata.

Tabel 8. Ringkasan Uji Beda Nyata Terkecil Jumlah DNA akibat Perlakuan Konsentrasi dan Lama Pemaparan

Konsent	Lama	CODE	DNA	Notation LSD
3	96	12	265,500	a
0	96	3	300,500	b
1	72	5	303,500	c
1	96	6	313,750	d
2	72	8	314,000	d
3	72	11	314,750	d
0	72	2	327,750	e
3	48	10	365,250	f
2	96	9	384,250	g
0	48	1	409,250	h
1	48	4	416,000	i
2	48	7	432,500	j

Pada Tabel 8 tampak bahwa kombinasi perlakuan konsentrasi 2 ppm dengan lama pemaparan 48 jam menghasilkan jumlah DNA yang paling besar yaitu 432,500 µg/ml. Dari analisis statistik perlakuan konsentrasi 2 ppm dengan lama pemaparan 48 jam hasilnya berbeda nyata dengan kombinasi perlakuan konsentrasi dan lama pemaparan dengan perlakuan lainnya. Hasil analisis regresi untuk menguji hubungan secara bersama-sama (simultan) antara X1 (Konsentrasi-ppm), X2 (lama pemaparan), X3 (jumlah DNA). Dengan demikian pada konsentrasi 2 ppm dengan lama perendaman 48 jam menyebabkan sel *Saccharomyces cerevisiae* menjadi poliploid.

Pengaruh pemaparan kolkhisin oleh berbagai konsentrasi terhadap *Saccharomyces cerevisiae* sebagai organisme bersel satu tidak berpengaruh terhadap viabilitasnya. Hal ini juga diungkapkan oleh beberapa peneliti bahwa perlakuan konsentrasi kolkhisin dan lama perendaman tidak pengaruh nyata terhadap tinggi tanaman dan jumlah daun pada tanaman zaitun, akan tetapi memberikan pengaruh nyata terhadap pertambahan diameter batang (Sirojudin, dkk, 2017, 36-41). Aili (2016, 370-377) mengatakan bahwa perlakuan kolkhisin berpengaruh nyata pada jumlah tanaman yang tumbuh. Dengan demikian bahwa pengaruh kolkhisin terhadap viabilitas organisme pada konsentrasi tertentu tidak menghambat. Bahkan penelitian Aili menghasilkan lingkaran batang, lebar

daun, umur bunga jantan tanaman jagung (*Zea mays*, L) sangat berpengaruh nyata pertumbuhannya.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pengaruh kolkhisin tertentu menyebabkan terjadinya pertambahan DNA yang signifikan. Hal ini juga diperkuat oleh beberapa peneliti (Aili, dkk., 2017), bahwa *Zea mays*, L dengan perendaman kolkhisin menyebabkan daun makin lebar, umur bunga jantan makin bertambah yang berarti bahwa terjadi pertambahan dari DNA *Zea mays*, L. Demikian pula pada penelitian (Wulansari, dkk., 2016) mengungkapkan bahwa pada tanaman tetraploid menunjukkan puncak *channel* 400, yang berarti kandungan DNA merupakan kelipatan dari diploid. Yanpaisan *et al.*, (1999) dan Vrana *et al.* (2014) dalam Wulansari (2016), menyatakan berdasarkan densitas DNA yang dibaca oleh alat *flositometer* dapat mengekspresikan tingkat ploidi suatu tanaman. Berarti bahwa jumlah kromosom yang dapat dikonfirmasi dengan puncak *channel* yang terbaca. Alat *flositometer* ini untuk mengukur kandungan DNA sehingga mempresentasikan tingkat ploidi sel tanaman.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan yang dapat kemukakan dari hasil penelitian ini adalah bahwa kolkhisin tidak mempengaruhi viabilitas *Saccharomyces cerevisiae*. Di samping itu perendaman *Saccharomyces cerevisiae* pada kolkhisin dapat membentuk *Saccharomyces cerevisiae* menjadi poliploid. Sehubungan *Saccharomyces cerevisiae* dari beberapa kegunaannya adalah sebagai organisme fermentasi. Dari penelitian ini dapat disarankan bahwa *Saccharomyces cerevisiae* poliploid dimungkinkan dalam proses fermentasi menghasilkan alkohol yang berlebih.

DAFTAR PUSTAKA

- Wulansari, A., Andri F Martin, & Tri Muji Ermayanti, (2016), Induksi Tanaman Poliploid Talas (*Colocasia esculenta* L.) dengan Perlakuan Orizalin secara In Vitro, *Jurnal Biologi Indonesia* 12 (2): 297-305 (2016)
- Aleza, P., J. Juarez, J. Ollitrault, & L. Navarro. (2009). Production of tetraploid plants of non apomictic citrus genotypes. *Plant Cell Report*. 28:1837-1846.
- Adisoemarto, S. (1988). *Genetika* Jilid 1. Penerbit Erlangga, Jakarta.

- Ajjah Nur, Nurliani Bermawi,. (2003). *Pengaruh Kolkhisin Terhadap Pertumbuhan Dan Produksi Dua Tipe Kencur*, Buletin Tanaman Rempah Obat Volume XIV No 1.
- Arumingtyas, E. L. (2016). *Genetika Mendel: Prinsip Dasar Pemahaman Ilmu Genetika*. Malang : Universitas Brawijaya Press.
- Bartholomaeus A, Parrott W, Bondy, Walker G, Ilsi K. (2013). Committee Task Force on the Use of Mammalian Toxicology Studies in the Safety Assessment of GM Foods. The Use of Whole Food Animal Studies in The Safety Assessment of Genetically Modified Crops: Limitations and Recommendations. *International Food Biotechnology*. 43(2): 1-24.
- Farrell, Alexander E, Richard J. Plevin, Brian T. Turner, Andrew D. Jones, Michael O'Hare, Daniel M. Kammen, (2006). Ethanol Can Contribute to Energy and Environmental, *Scientific Journal, Saccharomyces, Ethanol*, Vol. 311. no. 5760, pp. 506-508.
- Martin, AF., A. Wulansari, BW. Hapsari, & TM. Ermayanti. (2015). Isolasi, purifikasi dan kultur protoplas mesofil daun talas (*Colocasia esculenta* L.). *Seminar Nasional Bioteknologi III. UGM 2015* (Inpress).
- Martin, AF., BW. Hapsari, & TM. Ermayanti. (2013). Penentuan klaster berdasarkan pertumbuhan tunas in vitro talas satoimo (*Colocasia esculenta* L.) hasil iradiasi sinar gamma. *Prosiding Seminar Nasional XXIII "Kimia dalam Industri dan Lingkungan"*. Yogyakarta 13 November 2013. 111.
- Nuraida L, Owens JD, Bakar JA. (2014). Lactic Vegetable and Fruit Fermentations. In: J.D. Owens (Ed.), *Indigenous Fermented Foods of Southeast Asia*. CRC Press. hlm 185–209
- Sistina, Y. (2000). *Biologi Reproduksi*, Fak. Biologi Unsoed, Pasca - Sarjana, Purwokerto : 66 hal
- Sirojuddin, Tintrim Rahayu, Saimul Laili. (2017). Pengaruh Pemberian Berbagai Konsentrasi Kolkisin dan Lama Perendaman terhadap Respon Fenotipik Zaitun (*Olea europaea*), *e-Jurnal Ilmiah BIOSAIN TROPIS (BIOSCIENCE-TROPIC)* Volume 2/ No.: 2 / Halaman 36 - 41/ Januari Tahun 2017 ISSN : 2460-9455 (e) - 2338-2805(p)
- Vrana, J., P. Capal, M. Bednarova, & J. Dolezel. (2014). Flow Cytometry in Plant Research: A Success Story. P. Nick and Z. Opatrny (eds.), *Applied Plant Cell Biology, Plant Cell Monographs*. 22: 395-430. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.