

PENGARUH RADIASI NETRON CEPAT TERHADAP PERUBAHAN ANATOMIS-HISTOLOGIS KALUS DAN SEL EMBRIO *ORYZA SATIVA*.L DARI VARIETAS PELITA 1/I DAN MUDGO

*Rosmiarty.Wahid, **H. Tjaturina

* Pusat Penelitian Teknik Nuklir - Badan Tenaga Atom Nasional

** Institut Teknologi Bandung

ABSTRAK

PENGARUH RADIASI NETRON CEPAT TERHADAP PERUBAHAN ANATOMIS-HISTOLOGIS KALUS DAN SEL EMBRIO *ORYZA SATIVA*.L DARI VARIETAS PELITA 1/I DAN MUDGO. Pengaruh radiasi neutron dosis rendah diamati terhadap kalus dan sel-sel embrio tanaman padi (*O. sativa*.L) varietas Pelita 1/I dan Mudgo yang ditanam secara invitro pada medium agar MS dengan penambahan hormon tumbuh 2-4D sebanyak 6 mg/l. Pengamatan dilakukan terhadap perubahan yang terjadi pada sel-sel dan jaringan secara anatomis dan histologis. Dosis radiasi lebih rendah dari 2 Krad memberikan efek stimulasi terhadap pembentukan sel-sel meristemoid pada epikotil, koleoptil, skutelum dan nodus kotiledon pada jaringan embrio. Terutama pada daerah skutelum yaitu dengan terbentuknya jaringan kalus lebih awal. Akan tetapi tidak ditemui perubahan pada sel-sel kalus dan inti selnya. Pembentukan sel-sel kalus sangat terangsang dengan dosis rendah (0,5 dan 1 Krad) pada nodus kotiledon, sedangkan pada sel-sel skutelum, epikotil dan koleoptil penampilan pembentukan kalus yang terbaik adalah pada dosis radiasi yang lebih tinggi (2 hingga 5 Krad).

ABSTRACT

FAST NEUTRON IRRADIATION INFLUENCE ON ANATOMICAL-HISTOLOGICAL CHANGES OF *O. SATIVA* L. CALLI AND EMBRYOS FROM PELITA 1/I AND MUDGO VARIETIES. Low dose of fast neutron irradiation effects on *O.sativa* calli and embryos on agar MS cultures, added with 6 mg/l growth hormon 2-4D were investigated. The effects were studied through anatomical-histological changes of the cultures. Irradiation doses below 2 Krad gave a stimulating effect on higher proliferation of meristemoid cells of epicotyl, coleoptyl, scutellum as well as node of cotyledone. Especially on scutellum cells, irradiation caused formation of superior calli. However it was not found any change performance either in the calli or in its nuclei. On irradiated embryo cells of cotyledone node, the activity of calli formation was enhanced by lower irradiation doses (0.5 - 1 Krad) while on scutellum, epicotyl and coleoptyl, a better response in calli formation was shown at higher doses (1-5 Krad).

PENDAHULUAN

Radiasi pengion bekerja terhadap sistem biologis dengan mengubah bagian-bagian dari sel, sedangkan efek morfologis merupakan efek sekunder yang diakibatkan oleh tidak seimbangannya keadaan fisiologis dalam tubuh tanaman. Seperti hal merangsang tumbuhnya jaringan meristem adventif atau tumor, bahkan dapat menghambat sama sekali pertumbuhan [2].

Pengaruh radiasi terhadap sel dapat mengakibatkan terjadinya sobekan pada membran sel jika radiasi diberikan dengan dosis tinggi. Kematian sel dapat disebabkan oleh karena tidak berlangsungnya sintesa enzim dan protein sebagai akibat hilangnya kemampuan DNA menerjemahkan kode genetik untuk menghasilkan mRNA normal [3].

Pengaruh radiasi terhadap organ pertumbuhan umumnya dideteksi pada perubahan morfologis organ tersebut, seperti perangsangan maupun penghambatan pertumbuhan organ atau pertumbuhan meristem adventif. Pada perkembangan kalus padi secara anatomi, aktifitas pembelahan sel yang paling tinggi adalah pada daerah yang mempunyai sel-sel dengan sitoplasma pekat dan inti gelap, yaitu daerah epitelium skutelum dan bakal pucuk serta daerah meristemoid pada pertumbuhan kalus [6].

Pada penelitian ini dengan menggunakan radiasi berdaya lemah dari neutron cepat yang dihasilkan dari USIF di reaktor TRIGA MARK II PPTN dicoba untuk melihat pengaruh radiasi terhadap perubahan struktur sel yang terjadi pada jaringan kalus dan embrio tanaman padi

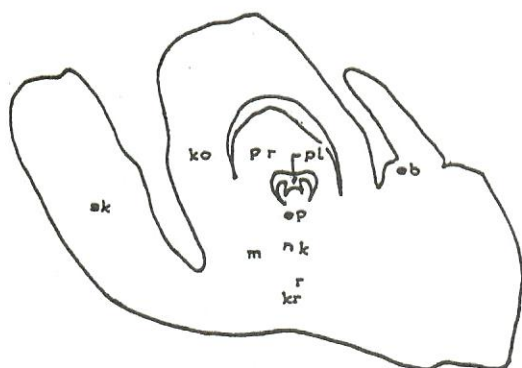
(*Oryza sativa*.L.). Dengan menerapkan pengamatan anatomis - sitologis diharapkan untuk mendapatkan informasi dari efek radiasi terhadap berbagai jaringan organ embrio padi yang akan mendasari pengamatan seluler dari kejadian mutasi sel yang mungkin terjadi akibat perlakuan iradiasi yang diberikan.

BAHAN DAN TATA KERJA

Komposisi zat yang digunakan untuk medium kultur steril adalah dari komposisi Mura-shige dan Skog (MS) dengan agar padat dan penambahan hormon pertumbuhan dari golongan auksin 2-4D (2,4 Dichloro phenoxyacetic acid) sebanyak 6 mg/l. Benih padi Pelita 1/I dan Mudgo sebelum diradiasi terlebih dahulu dibuang kulit luarnya.

Biji padi yang telah dikuliti, diradiasi dengan netron cepat dosis (0,5) , 1 , (2,5) , 3 dan (5,5) Krad pada daya 200 kilo watt. Kemudian disterilkan dalam keadaan vakum berturut-turut dengan larutan klorhidras 5% selama 30 menit, klorhidras 2% selama 30 menit, dan alkohol 70% selama 30 detik, lalu dibilas dengan akuades steril sebanyak 3 kali dan ditanamkan pada medium agar MS steril.

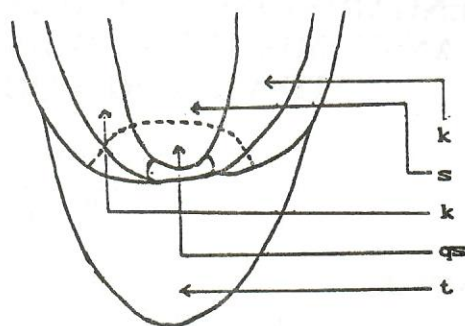
Untuk membuat preparat awetan embrio dan kalus digunakan metode parafin [5], dengan fiksasi larutan formalin, kromat dan asam aetat (larutan Craff III), dehidrasi dengan larutan seri butil alkohol tertier (metode Johansen) dapat dilihat pada Gambar 1 dan 2.



Gambar 1. Penampang memanjang melalui bagian embrio padi

Keterangan :

sk:skutellum ; ko:koleoptil ; pl:plumula ; pr:primordium daun ; eb:epiblas ; ep:epikotil ; r:radikula ; kr:koleoriza ; nk:nodus kotiledon ; m:mesokotil



Gambar 2. Penampang memanjang ujung akar monokotil (*Zea mays*.)

Keterangan:

k:kortex ; s:silinder pusat ; qs:quiescent centre ; t:tudung akar

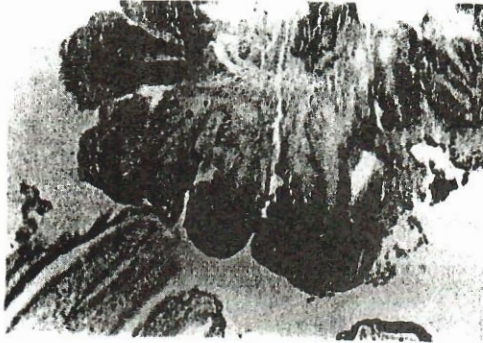
Kemudian ditanamkan dalam parafin dan disayat dengan mikrotom ketebalan 10 μ m. Selanjutnya diwarnai dengan pewarna Hematoksilin setelah direkatkan pada kaca objek dengan menggunakan perekat Haupt, lalu didehidrasi dengan alkohol absolut dan dibiarkan dengan larutan xilol. Pengamatan mikroskopis dilakukan dengan mikroskop stereo perbesaran 40 hingga 400 kali [2]. Pengamatan dilakukan pada hari ke 5 dan ke 12 sesuai dengan perkembangan sel embrio dan jaringan kalus yang diamati.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari hasil pengamatan dengan pemberian dosis radiasi hingga 1 Krad pada daya 200 kilo watt menunjukkan pembelahan pada jaringan meristemoid yang lebih pesat, yaitu terjadi di daerah epikotil, koleoptil, skutelum dan daerah nodus kotiledon dari jaringan embrio. Hal ini dapat dilihat pada Gambar 3.

Pada kalus yang diradiasi hingga dosis 2 Krad secara anatomis sel-selnya tidak memperlihatkan perubahan, begitu pula pengamatan pada inti selnya (Gambar 4).

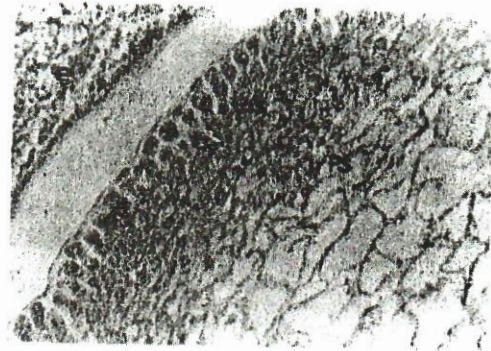
Epitelium skutelum adalah bagian dari embrio padi yang paling peka terhadap pengaruh radiasi netron cepat. Perubahan yang terjadi pada sel-sel yang semula berbentuk kubus hingga menjadi sel-sel meristemoid dan membentuk sel-sel kalus pada medium agar MS, dapat dilihat pada Gambar 5 dan 6.



Gambar 3. Penampang memanjang embrio umur perkecambahan 12 hari, dosis radiasi 1 Krad (40x).

Keterangan:

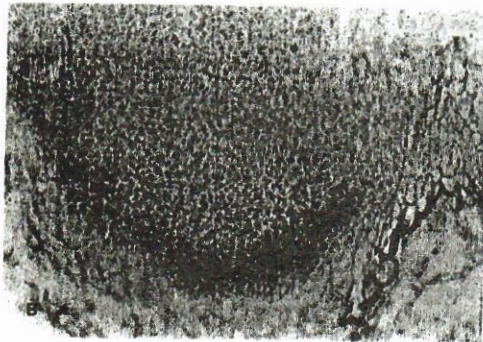
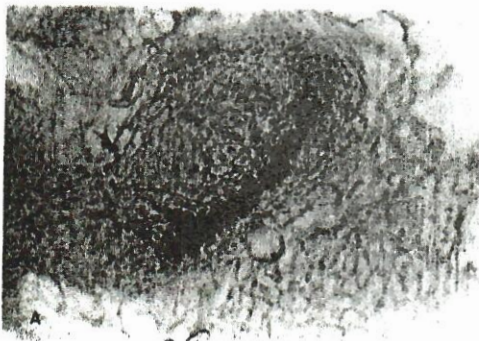
Tanda panah menunjukkan daerah meristemoid yang ber-diferensiasi menjadi bakal akar.



Gambar 5. Penampang memanjang embrio umur perkecambahan 5 hari, perlakuan radiasi 3 Krad (40x)

Keterangan:

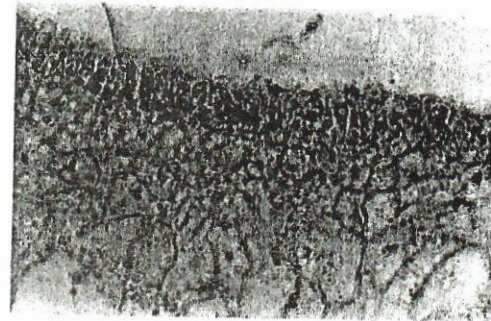
es: epitelium skutelum ; ps: parenkim skutelum ; e: endosperm ; tanda panah menunjukkan sel epidermis skutelum yang terangsang mengadakan pembelahan.



Gambar 4. Penampang sayatan sel-sel kalus padi varietas Mudgo (200x)

Keterangan:

A. Tanpa perlakuan radiasi neutron cepat, B. Dengan perlakuan radiasi neutron cepat dosis radiasi 2 Kr.

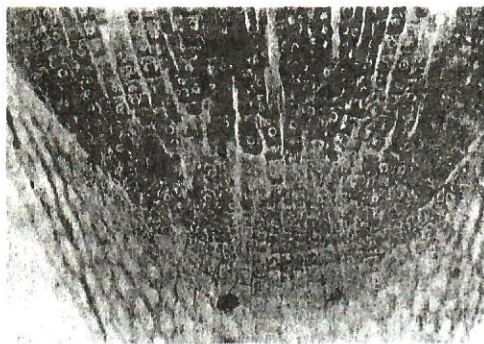
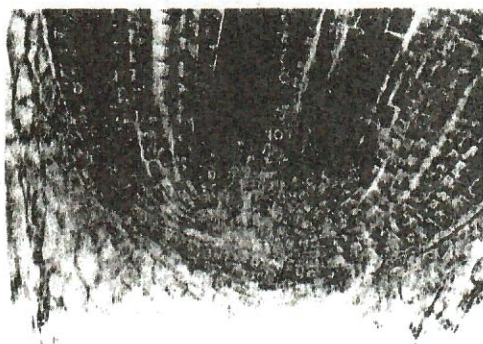


Gambar 6. Penampang memanjang embrio umur perkecambahan 5 hari, tanpa perlakuan radiasi neutron cepat (40x)

Radiasi hingga 2 Krad pada penelitian ini belum merusak struktur sel kalus padi baik dari varietas Pelita 1/I maupun Mudgo.

Pada pengaruh radiasi neutron cepat perangsangan pembentukan daerah meristemoid yang kelak akan membentuk jaringan kalus pada daerah nodus kotiledon ternyata dosis 1 Krad telah berperan sangat efektif. Sedangkan dosis lebih dari 1 Krad hingga 5,5 Krad adalah merupakan dosis yang efektif berperan merangsang pembentukan kalus pada daerah embrio

lainnya. Hal ini dapat dilihat pada Gambar 5, 3 dan 7.



Gambar 7. Penampang memanjang melalui ujung akar padi umur perkecambahan 5 hari (400x)

Keterangan:

A. Tanpa perlakuan radiasi neutron cepat, B. Dengan perlakuan radiasi neutron cepat dosis 5,5 Kr. Tanda panah menunjukkan anak inti yang diduga mengalami kelainan.

Dari hasil pengamatan tampak bahwa dosis 5,5 Krad radiasi neutron cepat daya rendah 200 kilo watt dapat lebih merangsang pembelahan sel epitel skutelum pada permulaan perkembangan kecambah padi (Gambar 8 dan Tabel 1).

Sel-sel epitelium skutelum merupakan salah satu bagian embrio padi yang pertama mengalami perkembangan apabila ditanam secara invitro pada medium steril [1,3]. Bagian skutelum merupakan daerah embrio yang paling sering terinduksi menjadi kalus [2,3,6], merupakan sumber komplemen inisial bagi enzim hidrolitik yang diperlukan untuk menguraikan pati pada endosperm. Glukosa sebagai hasil



Gambar 8. Penampang memanjang melalui embrio umur perkecambahan 12 hari, dosis radiasi 5 Kr (40x)

Keterangan:

k:koleoptil ; ep:epikotil ; t:tunas ; a:akar ; nk:nodus kotiledon, tanda panah menunjukkan daerah meristemoid

penguraian pati dikonversi menjadi sukrosa dalam skutelum. Adanya sukrosa menyebabkan skutelum menjadi lebih peka terhadap penginduksian kalus. Dalam hal ini radiasi diduga pada dosis yang cukup besar akan membantu mempercepat penguraian pati dan konversi glukosa sehingga pembelahan sel-sel epitelium skutelum dan daerah-daerah lain di bagian embrio akan lebih cepat terangsang.

Pada pengaruh radiasi neutron cepat terhadap perangsangan pembentukan daerah meristemoid yang kelak akan membentuk kalus, tampak bahwa dosis 1 sampai 5,5 Krad lebih efektif untuk merangsang pembentukan kalus pada daerah epikotil, koleoptil, skutelum dan daerah-daerah lain pada dasar pucuk. Perangsangan tersebut diperkirakan erat hubungannya dengan zat pengatur tumbuh yang digunakan, yaitu hormon 2-4 D dari golongan auksin yang aktif bekerja pada daerah tersebut akibat induksi radiasi neutron cepat sehingga mempercepat pembelahan sel.

KESIMPULAN

Dosis radiasi lebih rendah dari 2 Krad memberikan efek stimulasi terhadap pembentukan sel-sel meristemoid pada epikotil, koleoptil, skutelum dan nodus kotiledon pada jaringan embrio, terutama pada daerah skutelum. Akan tetapi tidak menyebabkan terjadinya

Tabel 1. Pengamatan jaringan embrio dan sel ujung akar dari preparat permanen hematoksilin setelah 5 hari (A) dan 12 hari (B) radiasi netron cepat.

Radiasi (Krad)	P E N G A M A T A N			
	Jaringan embrio	Jumlah (%)	Sel ujung akar	Jumlah (%)
0	A: Sel epitelium berbentuk kubus B: Daerah meristemoid terdapat pada daerah akutelum dan koleoptil.	80 100	Tudung akar, selinder pusat, kortek, inti sel berwarna ungu hingga hitam.	75
1	A: Sel epitelium berbentuk kubus B: Daerah meristemoid meluas ke daerah nodus kotiledon.	80 100	Parameter yang diamatai tidak mengalami perubahan.	
2,5	A: Sel epitelium skutelum membelah periklinal. B: Daerah meristemoid meluas ke daerah plumula koleoptil.	80 100	Parameter yang diamati tidak mengalami perubahan.	
4	A: Pembelahan sel epitelium skutelum bertambah banyak. B: Daerah meristemoid meluas ke daerah plumula koleoptil.	80	Anak inti sel terutama daerah kortek mengalami perubahan warna menjadi terang hingga merah.	75
5,5	A: Sel epitelium skutelum berbentuk isodiametris. B: Daerah meristemoid meluas ke daerah plumula kotiledon.	100	Anak inti yang mengalami perubahan meluas ke daerah silinder pusat.	75

perubahan sel-sel kalus dan inti sel pada pengamatan anatomis, sitologis yang dilakukan.

Pembentukan sel-sel kalus sangat terangsang pada penyinaran dosis rendah 0,5 hingga 1 Krad, terutama pada nodus kotiledon. Sedang-

kan pada sel-sel skutelum, epikotil dan koleoptil yang terbaik pembentukan kalusnya adalah pada penyinaran dengan dosis 2,5 Krad. Akan tetapi kalus masih terinduksi dengan baik hingga dosis penyinaran 5 Krad.

DAFTAR PUSTAKA

1. ANONYM, Mutation breeding for disease resistance using in vitro culture techniques, IAEA Tec. Doc. 342, Vienna (1985).
2. KURATA, N., IWATAN and OMURA, T. M. "Karyotype analysis in rice II", Identification of Extra Chromosomy in Trisomic plant and banding structure on some chromosomes, Japan Journal Genetic, 56 (1981) 41-50.
3. YAMADA, Y. and LOH, W. T. Rice. Handbook of Plant Cell Culture III., Mac. Pub. Co. New York (1984) 164.
4. ESAU, K., Plant Anatomy, 2nd. ed. John Willey, New York
5. JOHANSEN, D.A., Plant Microtechnique, Mc Graw-Hill Book Co. , New York (1940).
6. OZIAS AKINS, P. and VASIL, I. K. Proliferation of plant regeneration from the epiblast of triticum aestivum (Wheat; Graminae) Embryos. Amer. Jour. Bot 70 (1983).