

PENGARUH IRRADIASI SINAR GAMMA PADA PERTUMBUHAN PLANTLET ANGGREK BULAN *Phalaenopsis amabilis* (L.)Bl.

Rahayu Sulistianingsih¹, Woerjono Mangoendidjojo², Aziz Purwantoro³ dan Endang Semiarti³

1. Fakultas Pertanian UPN "Veteran" Yogyakarta,
2. Fakultas Pertanian UGM Yogyakarta,
3. Fakultas Biologi UGM Yogyakarta.

ABSTRAK

PENGARUH IRRADIASI SINAR GAMMA PADA PERTUMBUHAN PLANTLET ANGGREK BULAN *Phalaenopsis amabilis* (L.)Bl. Peningkatan potensi anggrek bulan dapat dilakukan dengan perluasan keragaman genetik melalui induksi mutasi. Mutan yang dihasilkan dapat digunakan sebagai tetua persilangan maupun sebagai varietas baru. Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan pool mutan anggrek alam *P. amabilis*. Buah dengan biji fertil umur enam bulan hasil persilangan sendiri diradiasi dengan sinar gamma bersumber pada Cobalt-60 dengan berbagai dosis penyinaran, yaitu 0, 15, 20, 25, 20+20, 35 dan 40 Gy. Biji anggrek ditabur pada media NP (New *Phalaenopsis*) yang diberi bahan organik ekstrak tomat 100 g/l dan air kelapa 150 ml/l. Hasil penelitian menunjukkan terlihat adanya pool mutan dan ada pengaruh sinar gamma yang diberikan pada biji anggrek pada kecepatan tumbuh protokorm, persentase pertumbuhan protokorm, panjang akar, panjang daun. Pemberian radiasi dosis berulang (20 + 20 Gy) menghambat pertumbuhan plantlet. Secara morfologi radiasi 20 dan 25 Gy menunjukkan perubahan pada bentuk akar dan daun pada plantlet yang dihasilkan. Akar lebih panjang dibandingkan dengan perlakuan lain, sedangkan bentuk daun mengalami perubahan bentuk.

Kata kunci : Biji, irradiasi sinar gamma, mutan, plantlet, morfologi, *P. amabilis*.

ABSTRACT

INFLUENCE OF GAMMA IRRADIATION ON THE GROWTH OF PLANTLET OF *Phalaenopsis amabilis* (L.)Bl. ORCHID. To improve the potential of *P. amabilis* orchid could be achieved by broadening its genetic variability using mutation induction. Mutant could serve as parental materials and also produce new varieties. The purposes of this study is to create an orchid mutant pool of *P. amabilis*. Six-month old Orchid fruit from self pollination was irradiated by Cobalt-60 (gamma rays) using various dose of 0, 15, 20, 25, 20+20, 35 and 40 Gy. After irradiation the Orchid seeds were planted on NP (New *Phalaenopsis*) media, enriched by tomato extract 100 g/l and coconut water 150 ml/l. The result showed that the mutant pool was obtained. Other result showed that gamma irradiation increase the growth rate of protocorm, length of root and leaves. intermitten irradiation (20 + 20 Gy) inhibited plant growth. the gamma irradiation at dose of 20 and 25 Gy morphologically changed root and leaf shapes of plantlet. The roots became longer compared to that of other treatments as well as the changed of leaf shapes.

Keyword : Seed, gamma irradiation, plantlet, mutant, morphology, *P. amabilis*

PENDAHULUAN

Sejak tahun 1990, pemerintah memutuskan memilih anggrek bulan sebagai symbol dan pejadi diri bangsa dan menetapkan sebagai puspa pesona. Langkah ini merupakan strategi penting sehubungan dengan pencaanangan program internasional "Visit Indonesia Year 1991" (1). Pemuliaan tanaman anggrek mempunyai sasaran peningkatan keragaman genetik pada bentuk dan warna yang unik, disenangi konsumen, frekuensi berbunga tinggi dan tahan terhadap hama penyakit serta cekaman lingkungan (2).

Perakitan kultivar/ klon unggul melalui pemuliaan tanaman berdasarkan keragaman genetik. Metoda ini dapat dilakukan melalui hibridisasi, mutagenesis dan transformasi gen. Pada pemuliaan, konvensional keragaman genetik hanya berasal dari tanaman yang berkerabat dekat (spesies, genus). Pada metode

rekayasa genetika keragaman genetik berasal dari organisme lain (mikroba, insekta, mamalia, dll.) selain tanaman. Semua metode pemuliaan ini menghasilkan berbagai keragaman genotipe dan fenotipe(3).

Mutasi dengan induksi sinar gamma sering dilakukan untuk mendapatkan varietas baru pada tanaman ornamental seperti Krisan, bunga kertas, bugenville, mawar dan streptocarpus. Tanaman ini diradiasi dengan menggunakan stek yang ditumbuhkan secara in-vitro. Perbanyakkan mutan dapat dilakukan dengan berbagai kombinasi perbanyakkan vegetatif secara invitro. Dosis yang sering digunakan untuk mendapatkan hasil mutan yang baik adalah 20 Gy(4).

Faktor yang mempengaruhi terbentuknya mutan antara lain adalah besarnya dosis iradiasi. Irradiasi adalah proses amplikasi radiasi energi pada suatu sasaran. Radiasi mengionisasi terhadap tanaman akan mengakibatkan

morfologi yang tidak normal, juga terjadi perubahan metabolisme. Perubahan ini tergantung derajat dan lama penyinaran, spesies, umur dan kondisi fisik serta lingkungan selama dan sesudah penyinaran. Besarnya dosis yang diberikan pada waktu radiasi sangat menentukan pengaruh kualitas dan kuantitas mutan (5, 6). Dosis iradiasi dibagi menjadi tiga, yaitu a) dosis tinggi (> 10 kGy), b) dosis sedang (1- 10 kGy) dan c) dosis rendah (< 1 kGy). Irradiasi sinar gamma dengan dosis 1-3 kGy dapat merubah morfologi akar dan fisiologis akar Arabidopsis (7).

Penggunaan sinar gamma sebagai induksi pada mutasi angrek *Dendrobium* hibrida *pompador* dengan menggunakan PLB (*Protocorm Like Bodies*), pertumbuhan adventif bibit angrek in-vitro memberikan hasil terjadinya perubahan jumlah kromosom dari diploid menjadi tetraploid, bunga yang semakin besar. Selain itu daun menjadi variegata dan adanya perubahan warna bunga dari red purple dengan spot gelap menjadi putih dengan spot yang gelap. Penelitian tentang induksi mutasi pada *Cattleya* telah memberikan suatu solusi untuk pemuliaan pada tanaman angrek (9).

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Tumbuhan Fakultas Biologi UGM dan P3TIR- BATAN Jakarta.

Buah angrek *P. amabilis* ekotipe Gunung Kidul digunakan sebagai bahan penelitian. Buah umur 6 bulan diradiasi dengan sinar gamma yang berasal dari Gamma Chamber 4000A dengan sumber Cobalt 60 pada berbagai dosis yang sudah ditentukan. Biji dari buah yang telah diradiasi ditanam pada media dasar NP (*New Phalenopsis*) yang ditambah dengan ekstrak tomat 100 g/l, air kelapa. Zat pengatur tumbuh (ZPT) kelompok auksin NAA 0,5 ppm, dan kelompok sitokinin 2,0 ppm 2iP. Kultur biji angrek tersebut dipelihara secara in-vitro dengan cahaya lampu TL secara kontinyu, temperatur 25-27 °C

Variasi iradiasi sinar gamma dilaksanakan menggunakan metode laboratorium dengan rancangan lingkungan Acak Lengkap satu faktor dengan 7 (tujuh) aras, yaitu: dosis radiasi sinar gamma 0, 15, 20, 25, 35, 20+20 dan 40 grey. Perlakuan diulang sebanyak tiga kali dengan 10 sampel pengamatan. Pengamatan dilakukan pada kecepatan tumbuh protokorm, persentase pertumbuhan protokorm, panjang akar, panjang daun, lebar daun. Data dianalisis menggunakan sidik ragam 5% dan secara deskripsi untuk perubahan yang terjadi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Perubahan morfologi tanaman diamati secara deskripsi ditampilkan pada tabel 1, perubahan yang pada masing-masing perlakuan dapat dijadikan pool mutan yang nantinya dapat diperbanyak secara vegetatif. Tabel 1 menunjukkan adanya perubahan secara morfologi pada perlakuan yang diujikan, mutan yang dihasilkan pada perlakuan 20 dan 25 Gy lebih beragam dibandingkan perlakuan yang lain. Perubahan ini disebabkan adanya perubahan kromosom akibat iradiasi yang diberikan. Perlakuan iradiasi dapat menyebabkan terjadinya mutasi gen atau mutasi kromosom. Mutasi induksi dapat menyebabkan mutasi gen atau mutasi mikro, perubahan yang terjadi pada susunan molekul gen (DNA) dan mutasi makro, perubahan yang terjadi pada struktur dan susunan kromosom (13). Iradiasi yang diberikan pada jaringan generatif tanaman akan menyebabkan terjadinya perubahan yang menyeluruh. Perubahan morfologi yang terjadi pada perlakuan yang diujikan akan menghasilkan pool mutan (11, 12).

Tabel 1. Perubahan morfologi planlet angrek *P. amabilis* yang terbentuk

Perlakuan	Variasi yang terbentuk	
0 gray	Normal	100 %
15 Gray	1. tunas banyak	10 %
	2. daun asimetris	10 %
20 Gray	1. daun begabung	10 %
	2 Daun mlintir	20 %
	3. Daun membulat ujung runcing	20 %
25 Gray	1. Daun bergelombang	20 %
	2. Akar mlintir, daun mlengkung kedalam	10 %
	3. Ujung daun lancip	10 %
	4. Daun bergerigi	10 %
	5. Daun terbalik 180°	10 %
	6. Akar panjang berwarna merah	20 %
35 Gray	Tidak ada pertumbuhan	100 %
40 gray	Pertumbuhan terhambat	70 %
20+20 Gray	Masih terbentuk protokorm, pertumbuhan terhambat	90 %

Rerata perlakuan disajikan pada tabel 2. Hasil analisis pada persentase pertumbuhan protokorm menunjukkan dosis iradiasi yang diberikan tidak menunjukkan perbedaan yang nyata kecuali pada dosis 35 gray yang tidak menunjukkan adanya pertumbuhan biji.

Saat tumbuh protokorm menunjukkan dosis 25 gray memberikan rerata waktu yang lebih cepat yaitu 16,67 hari sudah muncul protokorm dibandingkan tanpa perlakuan memerlukan 29,667 hari. Ternyata iradiasi yang

diberikan dapat memacu pembentukan auksin endogen sehingga pertumbuhan biji lebih cepat, berbeda dengan penelitian Handayati *et al* (10) yang mengatakan dosis iradiasi yang semakin meningkat akan menghambat auksin endogen sehingga pembentukan sel meristem pada ujung batang mawar dan anyelir semakin terhambat.

normal mampu bertahan hidup sehingga karakter tanaman normal akan kembali muncul. Sebaliknya bila sel mutan dapat bertahan maka sel normal akan hilang dan penampilan tanaman akan mengikuti sifat yang dibawa oleh sel mutan tersebut(10).

Tabel 2. Rerata persentase tumbuh protokorm (PT), saat tumbuh protokorm (WT), jumlah daun(JD), jumlah akar (JAK), panjang akar (PA), panjang daun (PD) dan lebar daun(LD) pada planlet umur 8 bulan setelah tanam

Perlakuan	PT %	WT hr	JD	JAK	PA cm	PD cm	LD cm
0 gray	93.33a	29.667a	4.7767a	0.7767cd	0.1310c	1.0667a	0.167a
15 Gray	90.00a	22.667b	1.7733bc	1.110bc	0.1220c	1.000a	0.133a
20 Gray	76.67 a	20.667bc	3.3333ab	1.890ab	1.2867b	1.200a	0.573a
25 Gray	100 a	16.667d	3.1100ab	2.220a	1.8000a	1.333a	0.467a
35 Gray	0.00 b	0.00e	0.000d	0.000d	0.000c	0.000b	0.00a
40 gray	83.33a	18.667cd	0.220cd	0.000d	0.000c	0.200b	0.400a
20+20 Gray	83.33a	19.667c	1.220cd	1.3333abc	0.8557b	0.100b	0.067a

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada UJBD 5%. Angka nol menunjukkan tidak ada pertumbuhan.

Jumlah daun pada planlet yang terbentuk menunjukkan perlakuan 20 dan 25 gray memberikan jumlah daun yang tidak berbeda nyata dengan kontrol. Tetapi perlakuan tersebut berbeda nyata dengan perlakuan 15, 40 dan 20+20. Ternyata perlakuan iradiasi tidak merubah banyak karakter sesuai dengan pendapat Broetjes dan van Harten (10) yang menyatakan keutamaan penggunaan mutasi induksi adalah perubahan yang dihasilkan hanya terjadi pada karakter spesifik dan tidak mempengaruhi karakter yang lain. Iradiasi yang diberikan terhadap buah akan mengakibatkan kematian, perangsangan atau penghambatan pertumbuhan, mempercepat diferensiasi sel dan morfologi yang tidak normal, juga terjadi perubahan metabolisme (5, 6). Jumlah akar yang terbentuk pada 20 , 25 dan 20+20 Gray tidak berbeda nyata tetapi berbeda dengan perlakuan yang lain. Pada panjang akar 25 Gray memberikan panjang akar yang terpanjang. Hal ini sependapat dengan Medina III (6) yang menyatakan iradiasi juga dapat memacu pertumbuhan tanaman, begitu juga dengan (11, 12) menyatakan bahwa iradiasi yang diberikan pada jaringan generatif tanaman akan menyebabkan terjadinya perubahan yang menyeluruh, walaupun kemungkinan perubahan itu akan dapat kembali lagi karena setelah peristiwa mutasi induksi akan terjadi khimera.

Penampilan mutan yang terjadi menyerupai tanaman normal dapat disebabkan karena sel

KESIMPULAN

Sebatas penelitian awal ini dapat disimpulkan :

1. Irradiasi gamma membentuk pool mutan pada P.ambilis.
2. Ada pengaruh sinar gamma yang diberikan pada buah anggrek pada kecepatan tumbuh protokorm, persentase pertumbuhan protokorm, panjang akar, panjang daun,
3. Secara morfologi radiasi 20 dan 25 Gy menunjukkan perubahan pada akar dan bentuk daun pada plantet yang dihasilkan.

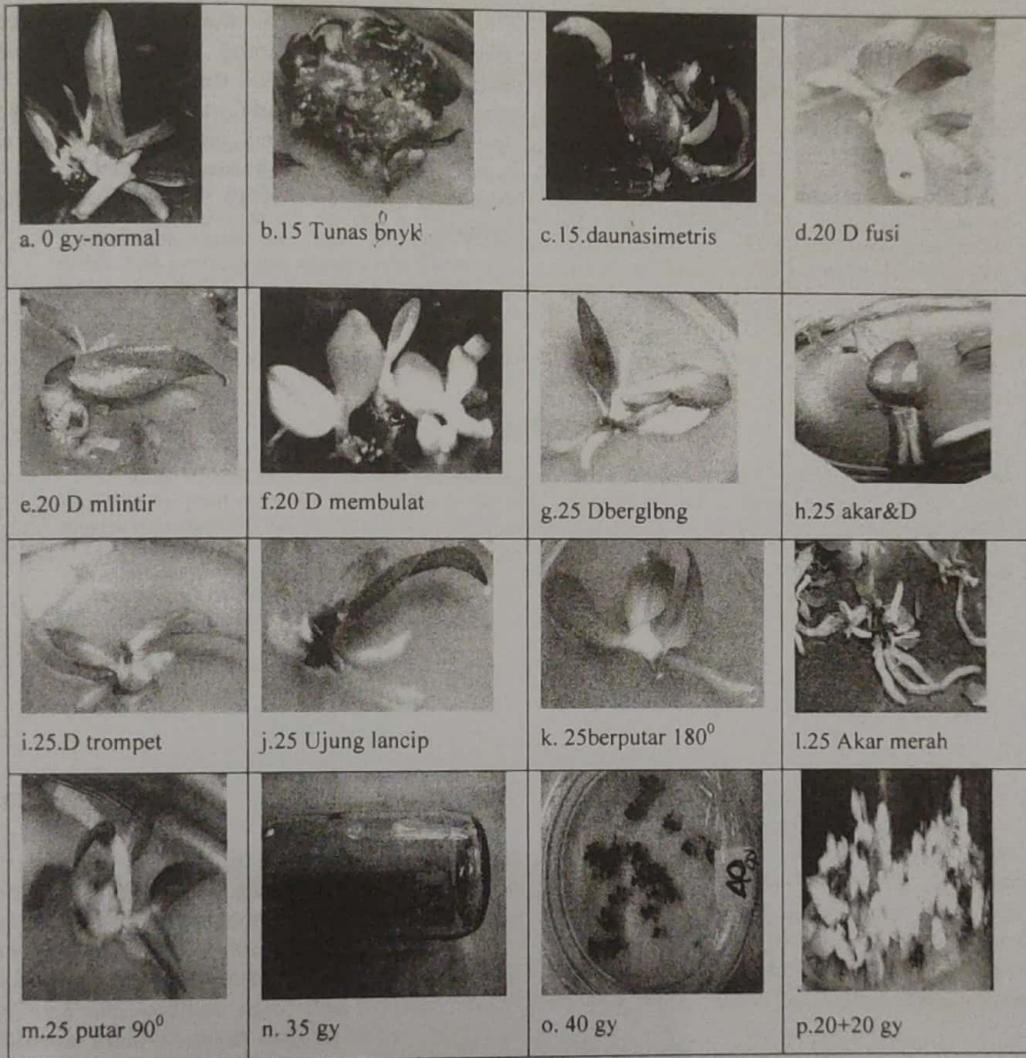
DAFTAR PUSTAKA

1. SUTATER, T DAN D.S. BADRIAH, 1994. Koleksi dan Karakterisasi anggrek Phalaenopsis. *Bull. Penel. Tan. Hias* 2(1); 57-65.
2. KARTIKANINGRUM, S. 2002. Kekebabatan Antar Genus Persekutuan Vanda Berdasarkan Karakter Morfologi. *Pross. Seminar Nasional Anggrek*. 22 Oktober 2002.
3. WATTIMENA, G.A. 1997. *Peluang dan Tantangan Bioteknologi Tanaman Nasional Menjelang Abad ke-21*. *Pross. Penelitian dan Pengembangan Aplikasi Isotop dan Radiasi tahun 1997*. 14 p.

4. AHLOOWALIA B.S., 2003. Improvement of Horticultural Plants Through In-Vitro culture and Induced Mutation, *ISHS Acta horticulturae 447: III International Symposium on In-Vitro and horticulture Breeding*. <http://www.actahort.org/book>
5. HARTEN, A.M Van, 1998. *Mutation Breeding: Theory and Practical applications*. Cambridge University Press. P.1-35.
6. MEDINA, III.F; AMANO E., and TANO, S., 2004. *Mutation Breeding Manual*. FNCA (Forum For Nuclear Cooperation in Asia) p.11-25;84-87.
7. Nagata, Toshifumi, Setsuko Todoriki and Shoshi Kikuchi . Radial Expansion of Root Cells and Elongation of Root Hairs of *Arabidopsis thaliana* Induced by Massive Doses of Gamma Irradiation. *Plant Cell Physiology*, vol.45 (11).2004.p 1557-1565)
8. PILUCK ,C.AND S. LAMSEEJAN, 2002. *Orchid Improvement through Mutation Induction by Gamma rays*. Workshop on "Induced Mutation Technique for Genetic Diversity and Economic Crop improvement-II.4p.
9. THAMMASIR, K, 2005. *Effect of Gamma Irradiation on Protocorm-Like Bodies of Cattleya Alliance*. <http://www.delfinadearaujo.com/woc/part1.htm>.
10. AISYAH,S.I., 2006. *Mutasi Induksi Fisik dan Pengujian Stabilitas Mutan Yang Diperbanyak Secara Vegetatif Pada Anyelir(Dianthus caryiophyllus Linn.)* Disertasi Sekolah Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor
11. Mc CLEAN. P., 1999. *Gene and Mutation.*, <http://www.ndsu.nodak.edu/instruct/mcclean/plsc43/mutation/mutation5.htm>.
12. MICKE, A. 2005. *Mutation in Plant Breeding*. P1-7. <http://www.plantmutation.com>.
13. CROWDER, L.V., 1997. *Genetika Tumbuhan*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta 499p.

Lampiran :

Morfologi plantlet yang terbentuk pada perlakuan yang diujikan ditampilkan pada gambar 1.



Gambar 1 : Morfologi yang terjadi pada masing-masing perlakuan

DISKUSI

SOBRIZAL

Berdasarkan apa Saudara mengatakan bahwa muasi yang terjadi pada penelitian Saudara kemungkinan deletion atau point mutation ?.

RAHAYU S.

Memang delesi maupun point mutasi belum tepat. Sekarang ini kami sedang melakukan isolasi DNA untuk mengetahui DNA contentnya, tetapi ada mutasi 15 Gy yang awalnya bergelombang (atau keriting) setelah usia bertambah, daun kembali normal. Menurut Mieke, Aisyah point mutasi dapat terlihat.