

PENGARUH SUMBER KARBON DAN DOSIS IRADIASI GAMMA PADA PEMBENTUKAN KALUS DAN PUCUK KRISAN (*Chrysanthemum morifolium*)

Winda Puspitasari¹⁾, Bugi Prasetya Herlambang²⁾, Yulidar¹⁾ dan Ita Dwimahyani¹⁾

¹⁾Pusat Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi (PATIR), BATAN

²⁾Institut Teknologi Indonesia

ABSTRAK

PENGARUH SUMBER KARBON DAN DOSIS IRADIASI GAMMA PADA PEMBENTUKAN KALUS DAN PUCUK KRISAN (*Chrysanthemum morifolium*). Tingginya permintaan krisan di Indonesia tidak diikuti dengan persediaan bibit lokal yang memadai, baik dalam hal kuantitas dan varietas. Kombinasi antara teknik pemuliaan mutasi iradiasi sinar gamma dan kultur jaringan dapat menjadi solusi bagi permasalahan tersebut. Percobaan dilakukan dengan menggunakan perlakuan radiasi terhadap kalus krisan tipe aster yang berasal dari kapitulium krisan. Media kultur yang digunakan adalah media MS dengan variasi sumber karbon yaitu gula pasir, maltosa dan sukrosa. Dosis iradiasi gamma yang digunakan adalah 0, 5, 10, 15 dan 20 Gy. Parameter yang diamati adalah jumlah kalus dan pucuk pada tiap generasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan gula pasir dan sukrosa dalam media kultur menyebabkan pertumbuhan yang lebih baik dibandingkan dengan penggunaan maltosa, tanpa ada perbedaan yang signifikan diantara keduanya. Dosis iradiasi 20 Gy menyebabkan terhambatnya pertumbuhan kalus dan pucuk krisan.

Kata kunci : krisan, sumber karbon, dosis iradiasi, kultur in vitro

ABSTRACT

High demand of *Chrysanthemum* in Indonesia is not followed by enough local supply of seeds, not only in quantity but also in variety. Combination between plant mutation breeding with gamma irradiation and tissue culture could be the solution of this problem. The research was conducted by giving radiation treatment to the callus of *Chrysanthemum* taken from aster type of *Chrysanthemum capitulum*. The culture media was the MS media with the carbon source variation of white sugar, maltose and sucrose. The doses of gamma rays irradiation were 0, 5, 10, 15 and 20 Gy. The observed parameter were the amount of callus and shoot in every generation. The research observation shows that the use of white sugar and sucrose in culture media causing better growing effect than maltose without different significant influence between them. While the dose of 20 Gy causing the growth inhibition of callus and shoot of *Chrysanthemum*.

Key words : *Chrysanthemum*, carbon source, irradiation dose, in vitro culture

PENDAHULUAN

Krisan merupakan salah satu tanaman hias populer di Indonesia, karena banyak jenisnya, berwarna-warni dan berdaya tahan lebih lama dibanding bunga lainnya. Tingginya permintaan menyebabkan ketergantungan bibit krisan dari luar negeri, hal ini mendorong para pemulia tanaman dalam negeri untuk dapat menghasilkan varietas baru krisan yang dapat disukai.

Salah satu teknik pemuliaan tanaman untuk menghasilkan keragaman genetik adalah pemuliaan mutasi tanaman dengan iradiasi sinar gamma. Pemuliaan mutasi tanaman telah digunakan untuk peningkatan variasi tanaman penting seperti gandum, barley, kapas dan kacang-kacangan. Berdasarkan data IAEA¹ (*International Atomic Energy Agency*), saat ini terdapat

sekitar 465 varietas tanaman mutan disebarluaskan melalui tanaman yang diperbanyak secara vegetatif terutama tanaman florikultura dan tanaman buah-buahan, termasuk krisan, dahlia, bougenvil, mawar, begonia, anyelir dan azalea. Mutan pertama krisan diperoleh pada tahun 1969 dengan sinar-X dosis 10–25 Gy, sinar gamma 15–17,50 Gy dan EMS (etil metil sulfonat) 2,50% terhadap setek, sedangkan pada plantlet dengan sinar-X dosis 8 Gy^{2,3}. Penggunaan sinar gamma untuk pemuliaan mutasi tanaman krisan telah berhasil mendapatkan mutan dengan warna-warna baru, selain itu mutasi juga diterapkan untuk mendapatkan karakter toleran terhadap fotoperiodisitas⁴.

Dalam penelitian ini dilakukan radiasi sinar gamma pada kalus krisan yang ditumbuhkan secara *in vitro* dan selanjutnya diamati perkembangannya dalam variasi sumber karbon dalam media. Teknik kultur jaringan telah lama digunakan untuk menghasilkan bibit dalam jumlah besar, homogen dan bebas hama dan penyakit. Di dalam kultur jaringan, eksplan yang digunakan merupakan bagian kecil dari tanaman dan tidak merupakan suatu sistem yang lengkap. Untuk itu banyak bahan-bahan organik yang harus ditambahkan dalam media untuk mendukung pertumbuhan yang optimal, seperti penambahan sumber karbon. Sumber karbon dalam kultur jaringan berfungsi sebagai sumber energi dan penyeimbang tekanan osmotik dalam media⁵. Kombinasi teknik kultur jaringan dan mutasi radiasi dalam pemuliaan mutasi diharapkan dapat menghasilkan mutan-mutan krisan dan meningkatkan keragaman genetik krisan dalam upaya memperkaya koleksi plasma nutfah.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mempelajari pengaruh sumber karbon dan dosis iradiasi sinar gamma terhadap eksplan krisan secara *in vitro*. Dari penelitian ini diharapkan akan diperoleh sumber material genetik dalam pemuliaan tanaman krisan.

BAHAN DAN METODE

Kultur induksi kalus

Bahan tanam yang digunakan berupa kapitulum bunga krisan tipe aster. Kapitulum yang akan ditanam pada media terlebih dahulu disterilkan dengan larutan klorox 40% dan penambahan 20% tween selama 20 menit, lalu dibilas dengan aquades steril tiga kali. Kapitulum ditanam pada media MS (Murashige and Skoog)⁶ yang ditambah dengan 30 g/L gula pasir, 5 mg/L BAP (*benzyl amino purin*) dan 15% air kelapa. Derajat keasaman media diatur pada pH 5.8 sebelum disterilkan dalam autoklaf. Kultur ditumbuhkan dalam ruangan tumbuh dengan suhu 20-22 °C.

Radiasi materi

Kalus yang berumur 2 minggu diiradiasi sinar gamma dengan variasi dosis 5, 10, 15 dan 20

Gray (Gy). Selanjutnya kalus dipindahkan ke dalam media kultur dengan variasi sumber karbon yaitu gula pasir, sukrosa dan maltosa dengan konsentrasi masing-masing 30 g/L. Pengamatan jumlah kalus dilakukan pada hari ke- 10 dan 20 setelah tanam.

Subkultur

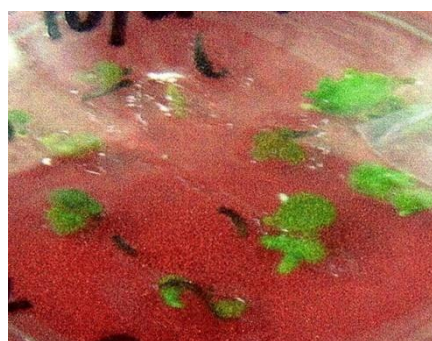
Kalus yang telah terbentuk selanjutnya dipindahkan ke media regenerasi tanaman dengan membuang koleoptil dan koleoriza. Komposisi media yang digunakan adalah media MS dengan penambahan 5 mg/L BAP dan 0,5 mg/L IAA (*indol acetic acid*) dan variasi sumber karbon sesuai dengan media awal. Selanjutnya diamati pertumbuhan pucuknya hari ke-20 dan 30 setelah tanam.

Pengolahan data

Penelitian dilakukan dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL). Pengolahan data dilakukan dengan software statistika SAS berupa uji ANOVA dan DMRT (Duncan's multiple-range test).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini dipelajari pengaruh sumber karbon dan dosis iradiasi terhadap pertumbuhan kalus dan pembentukan pucuk krisan secara *in vitro*. Sumber karbon yang digunakan adalah sukrosa dan maltosa yang merupakan disakarida. Sukrosa tersusun atas molekul glukosa dan fruktosa, sedangkan maltosa tersusun atas 2 molekul glukosa. Pada penelitian ini digunakan pula gula pasir sebagai sumber karbon, yang merupakan sukrosa dengan tingkat kemurnian < 100%. Gula pasir digunakan untuk mempelajari perbedaan pengaruh dengan pemakaian sukrosa dalam media terhadap pertumbuhan kalus dan pucuk krisan. Dalam penelitian kultur jaringan, gula pasir sering digunakan untuk menggantikan sukrosa dengan alasan lebih ekonomis. Sumber karbon efektif digunakan pada konsentrasi rendah (2-5%)⁵, sedangkan pada konsentrasi tinggi menyebabkan keracunan pada tanaman dan menghambat pertumbuhan.



Gambar 1. a. Kapitulum krisan

Gambar 1. b. Kalus krisan

Pembentukan kalus krisan yang ditunjukkan pada Gambar 1.b. memperlihatkan melebar dan membengkaknya eksplan. Pengamatan pertumbuhan krisan pada tahap kalus dan pembentukan pucuk pada media *in vitro* dengan variasi sumber karbon ditunjukkan pada Tabel 1. Dapat diamati pada tabel bahwa setelah 20 hari jumlah kalus yang terbentuk pada media dengan gula pasir dan sukrosa memberikan hasil yang lebih besar dan tidak berbeda nyata satu sama lain, dibandingkan dengan pemakaian maltosa pada media. Hal ini serupa dengan penelitian yang dilakukan Teixeira da Silva⁸, bahwa urutan sumber karbon yang memberikan hasil terbesar terhadap total massa kalus krisan adalah sukrosa > glukosa > fruktosa > maltosa.

Tabel 1. Pengaruh sumber karbon terhadap jumlah kalus dan pucuk krisan secara *in vitro*

Sumber karbon	Kalus		Pucuk	
	10 hari	20 hari	20 hari	30 hari
Maltosa	0,87 ab	1,20 a	0,67 a	0,67 a
Sukrosa	0,67 a	3,13 b	1,93 a	1,13 a
Gula pasir	1,53 b	2,80 b	1,87 a	1,80 b

Keterangan :

Nilai rata-rata yang ditandai dengan huruf kecil yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata menurut DMRT pada taraf nyata 5%.

Perkembangan kalus di media regenerasi dimulai dari pembentukan spot-spot hijau. Spot hijau mulai terbentuk pada hari ke-5, dan berangsur-angsur berkembang membentuk pucuk di media regenerasi. Pada tahap regenerasi, ada beberapa kalus yang mengalami pembesaran tetapi tidak mampu berkembang membentuk pucuk dan warna kalus menjadi coklat (eksudat) kemudian mati. Hal ini disebabkan terbentuknya senyawa fenol yang menyebabkan terhambatnya proses pertumbuhan selanjutnya. Pada tahap pembentukan pucuk, pada pengamatan hari ke-20 diperoleh hasil yang tidak berbeda antar perlakuan sumber karbon. Namun setelah 30 hari, tiap perlakuan sumber karbon memberikan respon yang berbeda nyata pada tiap perlakuan. Dari pembentukan pucuk diperoleh bahwa pemakaian gula pasir menghasilkan jumlah pucuk yang lebih besar. Li dan Wolyn (1997) dalam Teixeira da Silva menyatakan bahwa glukosa dapat merangsang pembentukan akar, fruktosa merangsang pembentukan pucuk dan sukrosa dapat menginisiasi pertumbuhan pucuk dan pembentukan akar pada asparagus.

Pertumbuhan eksplan krisan hasil iradiasi umumnya lebih terhambat dibanding kontrol (0 Gy). Dari Tabel 2 terlihat bahwa semakin besar dosis yang diberikan semakin sedikit jumlah

eksplan yang tumbuh. Menurut Banerji dan Datta⁹, iradiasi sinar gamma dapat menghambat pertumbuhan tanaman. Pada pengamatan kalus hari ke-10 tidak terdapat perbedaan yang nyata pada jumlah kalus yang diperoleh. Namun setelah 20 hari diamati bahwa radiasi 10 – 20 Gy menghambat pembentukan kalus lebih lanjut. Pada dosis radiasi 5 Gy diketahui tidak memberikan pengaruh terhadap jumlah kalus yang berbeda nyata dibandingkan dengan kontrol.

Tabel 2. Pengaruh dosis iradiasi sinar gamma terhadap jumlah kalus dan pucuk krisan secara *in vitro*

Dosis (Gy)	Kalus		Pucuk	
	10 hari	20 hari	20 hari	30 hari
0	0,89 a	3,44 a	2,89 a	0,56 a
5	1,33 a	3,56 a	2,33 ab	1,67 b
10	1,00 a	1,89 ab	1,00 ab	1,56 b
15	0,89 a	2,22 ab	0,56 b	1,22 ab
20	1,00 a	0,78 b	0,67 b	1,00 ab

Keterangan :

Nilai rata-rata yang ditandai dengan huruf kecil yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata menurut DMRT pada taraf nyata 5%.

Pada tahap regenerasi, tidak semua kalus dapat berkembang membentuk pucuk, terutama setelah 30 hari sebagian pucuk yang terbentuk tidak berkembang dan mati. Dari pengamatan terhadap jumlah pucuk diperoleh bahwa dosis iradiasi 15 dan 20 Gy memberikan hasil yang berbeda nyata dengan kontrol. Hal serupa juga ditemui pada penelitian yang dilakukan oleh Sanjaya, dkk¹⁰ yang menyatakan bahwa pada dosis 20 Gy memberikan hasil yang berbeda nyata dibandingkan pada dosis di bawahnya pada pembentukan pucuk aksiler krisan.

Iradiasi sinar gamma dapat menghambat pertumbuhan yang disebabkan perubahan sitologi dari sel-sel meristem yang diiradiasi. Perubahan tersebut meliputi penundaan siklus sel dan penurunan proliferasi sel-sel. Diduga pada sel yang mengalami mutasi diakibatkan oleh adanya perubahan komposisi basa dalam untai DNA akibat adanya ion radikal yang masuk ke dalam jaringan yang dapat menyebabkan perubahan susunan asam amino pada protein tertentu sehingga terjadi perubahan aktivitas enzim sesuai dengan protein baru yang terbentuk. Adanya gangguan dalam aktivitas metabolisme sel dapat menurunkan kemampuan regenerasi jaringan, namun demikian perubahan yang terjadi diharapkan dapat memunculkan sifat-sifat baru yang lebih menguntungkan^{11,12}.

KESIMPULAN

Pemakaian gula pasir dan sukrosa lebih baik dibandingkan maltosa pada pertumbuhan kalus dan pucuk krisan. Pengaruh gula pasir dan sukrosa dalam media kultur jaringan tidak memberikan hasil yang berbeda nyata, sehingga gula pasir dapat digunakan sebagai pengganti sukrosa. Semakin tinggi dosis radiasi yang diberikan pada eksplan krisan, semakin menghambat pertumbuhan. Dosis iradiasi 20 Gy menyebabkan terhambatnya pertumbuhan kalus dan pucuk krisan secara signifikan dibandingkan dengan dosis di bawahnya.

SARAN

Perlu dipelajari lebih lanjut, perkembangan eksplan hingga tumbuh menjadi planlet lengkap dan diaklimatisasi di lapangan. Bahkan perlu dipelajari pengaruh radiasi hingga tanaman krisan berbunga. Hal ini perlu dilakukan agar dapat diperoleh variasi tipe baru tanaman krisan.

DAFTAR PUSTAKA

1. HUTAMI, S., I. MARISKA DAN Y. SUPRIATI. 2006. Peningkatan Keragaman Genetik Tanaman Melalui Keragaman Somaklonal. *Jurnal AgroBiogen 2* (2) : 81-88.
2. DE JONG, J. DAN J.B.M. CUSTERS. 1996. Induced changes in growth and *in vitro* culture of pedicels and petal epidermis. *Euphytica* 35 (1): 137-148.
3. HUTEMA, J.B.M., W. PREID, DAN J. DE JONG. 1991. Methods for selecting of low-temperature tolerant mutants of *Chrysanthemum morifolium* Ramat. Using irradiated cell suspension cultures. III. *Plant Breeding* 107: 135-140.
4. DWIMAHYANI, I. 2006. Galur Mutan Krisan Toleran Terhadap Fotoperiodisitas. *Bulletin Pertanian* 10 : 47-56.
5. YOUNAS, M., H. RAHMAN, S. U. SIDDIQUI DAN F. M. CHAUDARY. 2008. Effect of Different Carbon Source on In Vitro Shoot Proliferation and Rooting of Peach Rootstock GF 677. *Pak.J.Bot.* 40 (3) : 1129-1134.
6. MURASHIGE, T. AND SKOOG, F. 1962. A Revised Medium of Rapid Growth and Bioassays with Tobacco Tissue Culture. *Plant Physiology* 15 : 473-492.
7. SUTARNO. 2004. Pemanfaatan MSTAT-C Dalam Analisa Faktorial Data Hasil Penelitian Pertanian. *Informatika Pertanian* 13 : 721-734.
8. TEIXEIRA DA SILVA, J. A. 2004. The Effect of Carbon Source On In Vitro Organogenesis of *Chrysanthemum* Thin Cell Layers. *Bragantia* 63(2).
9. BANERJI, B.K. AND S.K. DATTA. 1992. Gamma ray induced flower shape mutation in

- chrysanthemum cv. Jaya. *J. Nuclear Agric. Biol.* 21 (2) : 73-79.
10. SANJAYA, L., Y. SUPRIYADI, R. MEILASARI, DAN K. YUNIARTO. 2004. Induksi Mutasi Dengan Menggunakan Sinar Gamma Pada Varietas–Varietas Krisan. *Prosiding Seminar Nasional Florikultura*. Bogor, 4-5 Agustus : 249 – 256.
 11. PURNAMANINGSIH, R. DAN MARISKA, I. Regenerasi Kalus Embriolik Padi setelah diseleksi dengan Al dan pH Rendah. *Prosiding Seminar Hasil Penelitian Rintisan dan Bioteknologi Tanaman*. Bogor : 264-272.
 12. EL-FIKIO, A.A. 1997. Induction of genetic variability by using gamma radiation and selection for salt tolerance *in vitro* in potato (*Solanum tuberosum*). *J. Genet. & Breed.* 51 : 309-312.