

# Pengaruh Iradiasi Sinar Gamma pada Pertumbuhan Kalus dan Keragaman Planlet Tanaman Nilam

Abdul Kadir<sup>1</sup>, Surjono H. Sutjahjo<sup>2</sup>, Gustav A. Wattimena<sup>2</sup>, dan Ika Mariska<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Fakultas Pertanian Universitas Islam Makassar, Jl. Perintis Kemerdekaan No. 29 Tamalanrea, Makassar

<sup>2</sup>Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Dramaga, Bogor

<sup>3</sup>Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, Jl. Tentara Pelajar 3A, Bogor 16111

## ABSTRACT

**The Effect of Gamma Irradiation on Calli Growth and Patchouly Planlet Variation.** *Abdul Kadir, Surjono H. Sutjahjo, Gustav A. Wattimena, and Ika Mariska.* This research was objected to study the effect of gamma irradiation on growth of calli and plantlet and phenotypic variation of patchouly plantlet. Research was conducted at the Tissue Culture Laboratory of Center for Agricultural Biotechnology and Genetic Resources Research and Development, Bogor. Gamma irradiation treatment was done at the Centre for Research and Development of Isotop and Radiation Technology, BATAN, Jakarta. The treatment consisted of 5 level of irradiation i.e. 0 (control), 5, 10, 15, and 20 Gy of gamma irradiation. The result showed that gamma irradiation of 20 Gy decrease calli quality index and increased percentage of calli death and inhibited calli growth at 30, 60 and 90 days after irradiation, also decrease number of shoots. Gamma irradiation of 5 Gy and 10 Gy increased growth planlet compared 15 Gy and 20 Gy, meanwhile gamma irradiation at 20 Gy induced high frequency of phenotypic variation of patchouly plantlet.

**Key words:** Gamma irradiation, calli of patchouli, phenotypic variation.

## PENDAHULUAN

Tanaman nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) merupakan salah satu tanaman penghasil minyak atsiri yang dikenal dengan minyak nilam (*patchouly oil*). Minyak tersebut banyak digunakan dalam industri kosmetik, parfum, sabun, antiseptik, dan insektisida. Keunggulan minyak nilam dalam industri parfum yakni bersifat fiksatif, yaitu kemampuannya dalam mengikat minyak lainnya sehingga harumnya dapat bertahan lama, di samping itu minyak nilam belum dapat dibuat secara sintetik (De Gusman *et al.* 1994).

Indonesia merupakan negara pemasok terbesar kebutuhan minyak nilam dunia, yakni sekitar 90% dari seluruh kebutuhan dunia. Cina merupakan negara produsen dan pesaing minyak nilam dunia, namun pangsa pasarnya masih kurang dari 5%. Minyak nilam merupakan komoditas andalan peringkat pertama kelompok minyak atsiri dalam perolehan devisa negara.

Pada tahun 2000, nilai ekspor minyak nilam telah mencapai 44,29% dari total ekspor minyak atsiri Indonesia, yakni mencapai 1.295 ton dengan nilai US\$ 22,536 juta (Dirjenbun 2002).

Tanaman nilam yang umum dikembangkan oleh petani adalah nilam Aceh. Jenis nilam ini tidak berbunga menyebabkan varietas atau genotipe baru sulit terbentuk, hal ini menyebabkan keragamannya sangat sempit. Terbatasnya jumlah klon tanaman nilam yang tersedia merupakan salah satu kendala dalam memilih klon yang mempunyai produktivitas tinggi. Upaya untuk mendapatkan klon-klon baru dengan karakter yang diinginkan dapat dilakukan melalui induksi mutasi, misalnya melalui variasi somaklonal, iradiasi sinar gamma atau melalui hibridisasi somatik (Mariska *et al.* 1997)

Penggunaan iradisai sinar gamma dalam aspek pemuliaan tanaman sangat besar manfaatnya dalam mengembangkan varietas atau klon mutan baru. Sebanyak 64% dari 1.585 varietas yang dilepas sejak tahun 1985 dikembangkan dengan menggunakan sinar gamma (Maluzynski *et al.* 2000). Ahloowalia *et al.* (2004) juga mengatakan bahwa mutasi induksi dengan radiasi sinar-X dan sinar gamma paling banyak penggunaannya untuk mengembangkan varietas mutan. Penggunaan iradiasi sinar gamma merupakan salah satu alternatif untuk meningkatkan keragaman genetik tanaman nilam.

Pembentukan varian baru melalui iradiasi sinar gamma dapat dilakukan pada sekelompok sel seperti kalus, serta bagian jaringan tanaman seperti daun dan batang. Iradiasi pada tingkat kalus menghasilkan frekuensi varian yang lebih tinggi dibandingkan dengan menggunakan jaringan tanaman, karena pada tingkat kalus sel-selnya masih bersifat meristematis sehingga lebih responsif terhadap radioaktif (Van Harten 1998).

Respon kalus terhadap iradiasi sinar gamma tergantung dari laju dosis iradiasi yang digunakan. Penggunaan iradiasi sinar gamma pada kultur *in vitro* umumnya pada dosis rendah (Al-Safadi *et al.* 2000, La Vina *et al.* 2001). Penggunaan iradiasi sinar gamma dosis rendah dapat menstimulasi pertumbuhan ta-

naman secara *in vivo* (Al-Safadi *et al.* 2000). Menurut Van Harten (1998), pemberian iradiasi sinar gamma 10-30 Gy pada kalus menyebabkan peningkatan keragaman somaklonal.

Kalus yang telah diiradiasi harus segera disubkultur pada media segar. Hal ini dimaksudkan agar kalus dapat pulih dari pengaruh radiasi. Lamanya kalus mengalami subkultur berulang setelah diiradiasi dan sebelum dikulturkan dalam media regenerasi berpengaruh terhadap kualitas pertumbuhan dan daya regenerasi kalus membentuk planlet.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mempelajari pengaruh iradiasi sinar gamma terhadap kualitas dan pertumbuhan kalus dan planlet, serta untuk mendapatkan keragaman tanaman nilam yang dapat diamati dari karakter fenotip planlet.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan, Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, dari bulan Agustus 2004 sampai Januari 2006. Iradiasi sinar gamma dilaksanakan di Puslitbang Teknologi Isotop dan Radiasi (P3TIR), Badan Tenaga Atom Nasional (BATAN), Jakarta. Bahan tanaman yang digunakan adalah klon nilam Tapak Tuan hasil perbanyakan secara *in vitro* dan merupakan salah satu klon harapan yang dikoleksi oleh BB-Biogen.

Eksplan yang digunakan adalah tunas nilam yang diperoleh dari biakan kultur *in vitro*. Untuk mencukupi jumlah eksplan yang dibutuhkan, dilakukan perbanyakan dengan cara eksplan batang satu buku berukuran 1-2 cm ditanam pada media MS yang telah diberi vitamin dari grup B, sukrosa 30 g l<sup>-1</sup> dan phytigel 2,5 g l<sup>-1</sup>. Poliferasi tunas dan akar menggunakan BA 0,1 mg l<sup>-1</sup>. Kultur diinkubasi dalam ruang kultur bercahaya dengan suhu ±26°C.

Kalus dikembangkan dari eksplan daun dari tunas yang dibiakkan secara *in vitro*. Daun diiris tipis pada permukaan eksplan berukuran 0,6 mm x 0,6 mm, selanjutnya dikulturkan dalam media dasar MS dengan penambahan sukrosa 30 g l<sup>-1</sup> dan agar 8 g l<sup>-1</sup> yang diperkaya dengan BA 0,1 mg l<sup>-1</sup> dan 2,4-D 0,5 mg l<sup>-1</sup> (Mariska *et al.* 1997). Kalus yang terbentuk disubkultur setiap 3 minggu sekali sebanyak tiga kali subkultur. Hal ini dimaksudkan untuk memperoleh populasi kalus yang lebih banyak.

Sebelum diiradiasi, terlebih dahulu kalus dibiakkan pada media segar dengan komposisi yang sama dengan media induksi kalus. Setiap botol diisi dengan 25-30 potongan kalus berukuran 0,35 cm x 0,35 cm.

Kalus kemudian diiradiasi dengan sinar gamma pada dosis 0,5, 10, 15, dan 20 Gy menggunakan bahan aktif Co<sup>60</sup> pada iradiator *Gamma Chamber* 4000 A. Laju dosis 204,4437 krad/jam (pada April 2003). Setelah kalus diiradiasi, selanjutnya dipindahkan pada media kultur yang segar dengan komposisi media yang sama sebelumnya, waktu pemindahan tidak melebihi 24 jam.

Penelitian dilaksanakan dengan menggunakan rancangan acak lengkap, terdiri atas lima perlakuan, yaitu tanpa iradiasi (kontrol), 5, 10, 15, dan 20 Gy, diulang sebanyak 6 kali. Setiap unit pengamatan terdiri atas 6 eksplan kalus. Analisis lanjutan menggunakan uji jarak berganda Duncan. Pengamatan dilakukan 30, 60, dan 90 hari setelah iradiasi sinar gamma dengan komponen pengamatan meliputi: kualitas kalus, dinyatakan dalam nilai indeks kualitas kalus, yaitu skor nilai perubahan warna kalus. Nilai indeks kualitas kalus yang digunakan adalah kalus berwarna putih bening/putih kehijauan = 5, kalus berwarna putih kekuningan = 4, kalus berwarna kuning kecoklatan = 3, kalus berwarna coklat = 2, kalus berwarna hitam = 1, dan kalus mati = 0. Peubah lain yang diamati adalah persentase kalus hidup, diameter kalus, volume kalus, bobot segar kalus, bobot kering kalus, persentase kalus yang bergenerasi, jumlah tunas, dan keragaman fenotip planlet.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Pengaruh Iradiasi Sinar Gamma terhadap Persentase Kematian dan Kualitas Kalus

Iradiasi sinar gamma berpengaruh terhadap kematian kalus, persentase kematian kalus tergantung dari dosis iradiasi sinar gamma yang digunakan. Semakin tinggi dosis iradiasi, semakin meningkat persentase kematian kalus (Tabel 1). Kalus yang diiradiasi 20 Gy mengalami kematian kalus dengan persentase yang lebih tinggi dibandingkan dengan kalus yang diiradiasi dengan dosis lebih rendah dan tanpa iradiasi pada umur 30, 60, dan 90 hari setelah iradiasi.

Peningkatan dosis iradiasi sinar gamma cenderung menghambat pertumbuhan sel-sel pada kalus, hal tersebut dirangsang oleh adanya kerusakan pada sel meristem yang sangat radio sensitif. Pengaruh buruk iradiasi adalah terjadinya penghambatan pada pembelahan dan pertambahan jumlah sel (Charbaji dan Nabulsi 1999). Kematian sel tanaman akibat iradiasi dapat terjadi secara langsung, yaitu kerusakan DNA serta akibat tidak langsung, yaitu adanya pengaruh toksik dari radikal bebas ion H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dan OH<sup>-</sup> yang dihasilkan dari radiolisis air (Soeranto 2003). Kalus yang mengalami kerusakan akan menurunkan kemampuan regenerasi serta mematikan sel sehingga tidak mampu

bergenerasi (Biswas *et al.* 2002). Material yang paling banyak mengalami iradiasi adalah air yang kemudian terurai menjadi  $H_2O^+$  dan  $e^-$ . Pada reaksi selanjutnya akan membentuk radikal bebas yang kemudian bergabung dengan peroksida. Apabila peroksida maupun radikal-radikal bebas bereaksi dengan molekul lain maka akan membentuk senyawa yang akan mempengaruhi sistem biologi tanaman (Van Harten 1998). Dengan demikian, kemampuan iradiasi sinar gamma dalam menghambat dan mematikan kalus berhubungan dengan kandungan air dalam kalus. Hasil pengamatan persentase kadar air kalus nilam pada penelitian ini adalah  $97,23 \pm 1,15\%$  (data tidak disajikan).

Dosis iradiasi sinar gamma berpengaruh terhadap indeks kualitas kalus (Tabel 2). Kalus nilam sebelum mengalami iradiasi bersifat embriogenik dengan warna putih dan atau putih kehijauan/putih kekuningan dengan indeks rata-rata 5,0. Kalus seperti ini umumnya dapat bergenerasi dengan baik. Kalus dengan kondisi tersebut merupakan kalus yang mempunyai struktur kompak, tidak tembus cahaya, dan pertumbuhan relatif lambat (kalus *tipe-I*) dan merupakan tipe yang dikehendaki, sebaliknya kalus yang kurang kompak, remah dan pertumbuhan cepat (kalus *tipe-II*) (Sutjahjo 1994). Kalus berumur 30 hari setelah iradiasi menunjukkan adanya perubahan kualitas yang ditandai dari perubahan warna kalus. Bertambahnya umur kalus setelah iradiasi menurunkan indeks kualitas kalus dengan indeks rata-rata 4,32; 3,98; dan 3,89 untuk 30, 60, dan 90 hari setelah iradiasi.

Indeks kualitas kalus 4-5 menunjukkan kualitas kalus yang sangat baik dengan daya regenerasi yang tinggi. Nilai indeks 2-3 merupakan kategori kalus yang kualitasnya sedang dengan daya regenerasi yang rendah, sedangkan nilai 0 dan 1 adalah kategori kalus yang jelek karena kalus ini tidak mampu bergenerasi. Berdasarkan nilai indeks kualitas kalus mengindikasikan bahwa umur kalus pada perlakuan kontrol dan 5 Gy mempunyai daya regenerasi tinggi sedangkan perlakuan dosis 20 Gy kualitas kalusnya dikategorikan sedang, sehingga populasi kalus ini sulit bergenerasi. Kalus yang mampu bergenerasi adalah kalus dengan karakter warna putih kehijauan atau putih kekuningan pada saat diregenerasikan. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa karakter kalus embriogenik mempunyai potensi regenerasi yang tinggi sedang kalus non embriogenik tidak dapat bergenerasi (Gambar 1)

### Pengaruh Iradiasi Sinar Gamma terhadap Pertumbuhan Kalus

Iradiasi sinar gamma berpengaruh nyata terhadap diameter kalus, bobot segar kalus, dan bobot kering kalus pada umur 60 dan 90 hari setelah iradiasi, sedangkan volume kalus tidak berpengaruh pada umur 30, 60, dan 90 hari setelah iradiasi (Tabel 3).

Diameter kalus umur 30 hari setelah iradiasi, diameternya relatif sama antara kontrol dengan kalus yang diiradiasi. Diameter kalus bertambah sejalan dengan lamanya kalus disubkultur. Kalus yang diiradiasi 20 Gy pada umur 60 hari lebih kecil dibandingkan

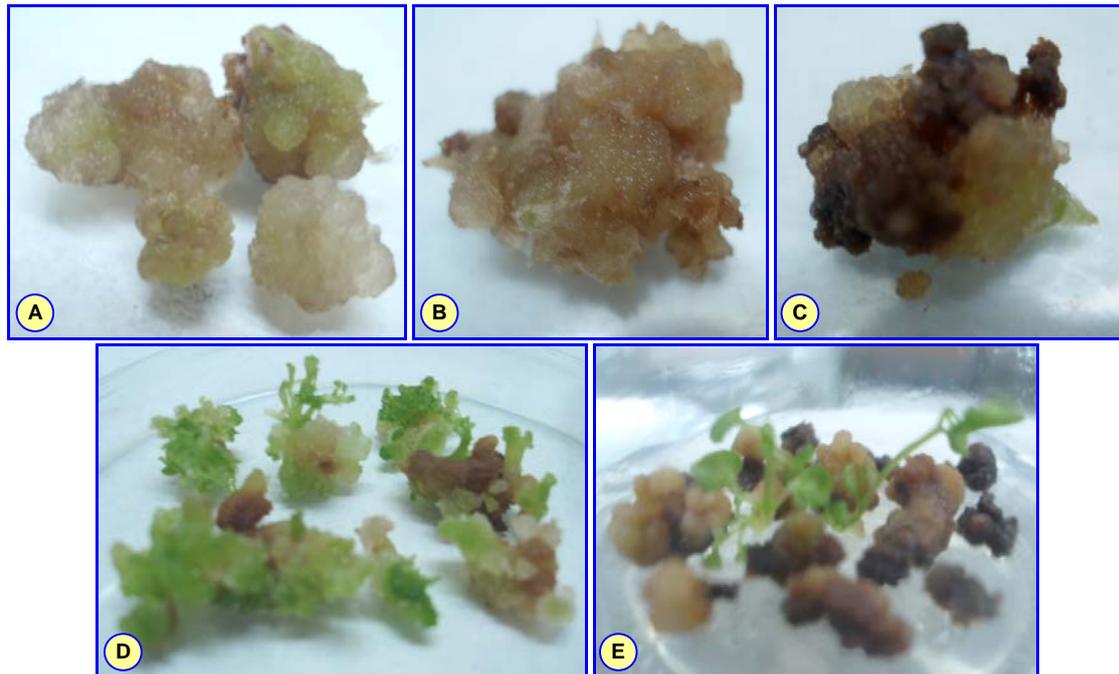
**Tabel 1.** Pengaruh iradiasi sinar gamma terhadap persentase kalus yang mati pada 30, 60, dan 90 hari setelah iradiasi.

Dosis sinar (Gy)	Umur kalus setelah iradiasi (hari)		
	30	60	90
0	0,0a	0,0a	2,8a
5	5,7b	5,7b	5,7b
10	5,7b	8,6b	8,6bc
15	8,3b	8,3b	11,1c
20	19,4c	19,4c	21,4d

Angka-angka pada satu lajur yang diikuti oleh huruf sama tidak berbeda pada taraf nyata 5% menurut uji jarak berganda Duncan.

**Tabel 2.** Pengaruh iradiasi sinar gamma terhadap nilai indeks kualitas kalus pada 30, 60, dan 90 hari setelah iradiasi.

Dosis iradiasi sinar gamma (Gy)	Umur kalus setelah iradiasi (hari)		
	30	60	90
0 (kontrol)	4,75	4,02	4,42
5	4,55	4,00	4,38
10	4,42	4,62	3,90
15	4,23	3,95	3,77
20	3,41	3,33	3,00
Rata-rata	4,92	3,98	3,89



A = kalus embriogenik tanpa iradiasi berwarna putih/putih kehijauan, B = kalus embiogenik yang diiradiasi sinar gamma 5 Gy berwarna putih kekuningan, C = kalus yang diiradiasi sinar gamma 20 Gy, sebagaian kalus berwarna kecoklatan, D = kalus embriogenik mampu bergenerasi dengan baik, E = kalus yang diiradiasi sinar gamma 20 Gy sebagian besar tidak dapat bergenerasi.

**Gambar 1.** Pengaruh iradiasi sinar gamma terhadap perubahan warna kalus umur 90 hari setelah iradisi.

**Tabel 3.** Pengaruh iradiasi sinar gamma terhadap diameter, volume, bobot segar, dan bobot kering kalus pada umur 30, 60, dan 90 hari setelah iradiasi sinar gamma.

Dosis sinar gamma (Gy)	Diameter (cm)	Volume (cm <sup>3</sup> )	Bobot segar kalus (g)	Bobot kering kalus (mg)
30 hari setelah iradiasi				
0 (kontrol)	0,87a	0,79a	0, 52a	10,21a
5	0,86a	0,80a	0,51a	9,53a
10	0,83a	0,76a	0,48a	8,20a
15	0,85a	0,82a	0,49a	7,92a
20	0,77a	0,72a	0,48a	8,08a
60 hari setelah iradiasi				
0 (kontrol)	1,23a	3,66a	2,40a	0,03425a
5	1,22a	3,60a	2,44a	0,03551a
10	0,98ab	3,57a	2,31a	0,03003b
15	1,04ab	3,21a	1,97b	0,02768b
20	0,87b	3,41a	1,97b	0,02754b
90 hari setelah iradiasi				
0 (kontrol)	2,33a	5,31a	3,68a	0,05992a
5	2,17a	5,33a	3,70a	0,05967a
10	1,94b	5,01a	3,23b	0,04057b
15	1,77b	5,05a	3,14b	0,03425b
20	1,77b	5,30a	3,32b	0,03291b

Angka-angka pada satu lajur yang diikuti oleh huruf sama tidak berbeda pada taraf nyata 5% menurut uji jarak berganda Duncan.

dengan kontrol dan 5 Gy dengan diameter masing-masing 0,87; 1,23; dan 1,22 cm. Hal yang sama juga terjadi pada kalus 90 hari setelah iradiasi memperlihatkan diameter kalus yang lebih kecil pada dosis 20 Gy

dibandingkan dengan kontrol dan 5 Gy dengan diameter masing-masing 1,77; 2,33; dan 2,17 cm.

Dosis iradiasi tidak berpengaruh terhadap bobot segar kalus pada 30 hari setelah iradiasi, sedangkan

pada umur 60 hari setelah iradiasi menunjukkan pengaruh yang berbeda, di mana kalus yang diiradiasi 15 dan 20 Gy bobot segarnya lebih rendah dibandingkan dengan kontrol, dosis 5 Gy, dan 10 Gy. Demikian pula pada umur kalus 90 hari setelah iradiasi menunjukkan bahwa pada dosis 10, 15, dan 20 Gy bobot segarnya lebih rendah dibandingkan tanpa diiradiasi dan dosis 5 Gy. Hasil penelitian ini sejalan yang dilaporkan oleh peneliti sebelumnya bahwa iradiasi sinar gamma pada kalus jagung dosis 2,5-5,0 Gy dapat meningkatkan bobot segar kalus, sedangkan pada dosis lebih besar dari 10 Gy menurunkan bobot segar kalus hingga 20-25% (Moustofa *et al.* 1999). Al-Safadi (2000) juga melaporkan bahwa dosis 5-10 Gy meningkatkan bobot segar kalus tanaman kentang hingga 38%.

Bobot kering kalus mencerminkan pertumbuhan kalus yang sebenarnya. Penimbunan bobot kering umumnya digunakan sebagai petunjuk yang memberikan ciri pertumbuhan (Gardner *et al.* 1991). Pertambahan bobot kering meningkat sejalan dengan pertumbuhannya umur kalus, yakni umur 30, 60, dan 90 hari setelah iradiasi. Dosis 20 Gy pada umur 60 hari setelah iradiasi, bobot keringnya lebih rendah dibandingkan dengan kontrol dan dosis 5 Gy dengan bobot kering masing-masing 0,02754; 0,03425; dan 0,03551 g. Keadaan yang sama terjadi pada umur 90 hari setelah iradiasi di mana dosis 20 Gy bobot keringnya lebih rendah dibandingkan dengan kontrol dan 5 Gy dengan bobot kering masing-masing 0,03291; 0,05992; dan 0,05697 g.

#### Pengaruh Iradiasi Sinar Gamma terhadap Daya Regenerasi Kalus

Persentase kalus bergenerasi, jumlah tunas, dan jumlah tunas per kalus (Tabel 4) tidak dianalisis secara

statistika, namun demikian pada tabel tersebut memperlihatkan dosis 20 Gy menunjukkan jumlah persentase kalus bergenerasi lebih rendah, yakni 40,5% dibandingkan dengan kontrol dan 5 Gy dengan persentase kalus bergenerasi masing-masing 50,0% dan 45,5%. Terjadinya penekanan terhadap daya regenerasi berhubungan dengan rendahnya kualitas kalus yang diregenerasikan sebagai akibat pengaruh iradiasi sinar gamma. Hal yang sama juga dilaporkan oleh peneliti terdahulu, bahwa radiasi sinar gamma pada kalus padi menurunkan daya regenerasinya sejalan dengan peningkatan dosis iradiasi sinar gamma (Edi 2004).

Rendahnyanya kemampuan kalus bergenerasi menyebabkan jumlah tunas yang dihasilkan dan jumlah tunas per kalus juga menjadi rendah. Dosis 20 Gy menghasilkan 2 tunas, sedangkan kontrol dan 5 Gy masing-masing 28 dan 24 tunas. Jumlah tunas per kalus pada dosis 20 Gy sebanyak 1,0 tunas, sedangkan kontrol dan 5 Gy masing-masing 3,5 dan 4,0 tunas.

#### Pengaruh Iradiasi Sinar Gamma terhadap Pertumbuhan dan Keragaman Planlet

Pengaruh iradiasi sinar gamma bersifat acak, yakni dapat bersifat positif dengan sifat karakter yang baik sesuai karakter yang diinginkan, maupun bersifat negatif dengan munculnya karakter yang tidak dikehendaki. Tabel 5 menunjukkan bahwa dosis 10 Gy memperlihatkan pertumbuhan tunas yang lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol dan 5 Gy, namun pada dosis 15 dan 20 Gy menekan tinggi tunas. Hasil penelitian pada tanaman anggur yang diiradiasi sinar gamma juga menunjukkan hal yang sama, yaitu pada dosis 5 dan 10 Gy meningkatkan tinggi tunas dibandingkan kontrol (Charbaji dan Nabulsi 1999). Peningkatan vigor

**Tabel 4.** Pengaruh iradiasi sinar gamma terhadap persentase kalus bergenerasi, jumlah tunas, dan jumlah tunas per kalus.

Dosis sinar gamma (Gy)	Persentase kalus bergenerasi (%)	Jumlah tunas	Jumlah tunas per kalus
0	50,0	28	3,5
5	45,5	24	4,0
10	43,8	8	2,0
15	41,7	6	1,5
20	40,5	2	1,0

**Tabel 5.** Pengaruh iradiasi sinar gamma terhadap pertumbuhan planlet umur 8 minggu setelah terbentuk tunas.

Dosis sinar gamma (Gy)	Tinggi tunas (cm)	Jumlah daun	Jumlah akar	Panjang akar (cm)
0	5,6a	12,5a	5,5a	2,42a
5	5,8a	12,3a	5,1a	2,13a
10	6,4c	12,4a	5,9a	2,15a
15	4,2b	10,5a	3,2b	1,11b
20	4,1b	10,2a	2,1c	0,65c

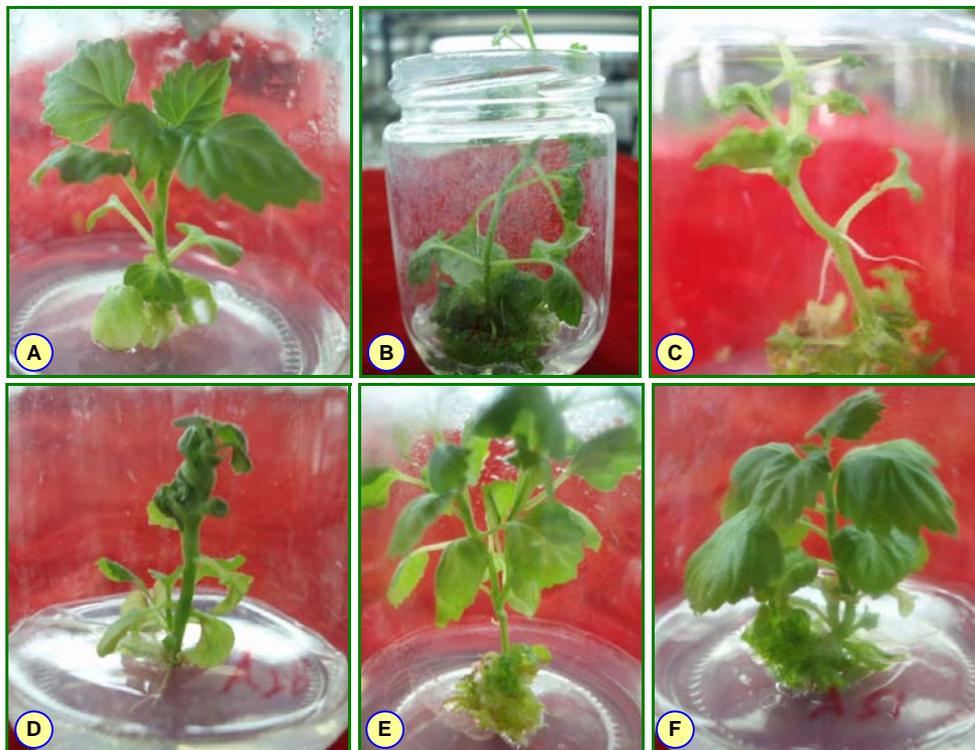
Angka-angka pada satu lajur yang diikuti oleh huruf sama tidak berbeda pada taraf nyata 5% menurut uji DMRT.

tanaman yang disebabkan iradiasi sinar gamma berhubungan dengan stimulasi biosintesis beberapa asam amino (lysin dan penil alanin) (Antonov *et al.* 1989), serta peningkatan aktivitas berbagai enzim seperti polyphenol oxidase, catalase, dan pyroxidase yang meningkatkan pertumbuhan tunas dan daun (Lage dan Esquibel 1997).

Pertambahan tinggi tunas juga berhubungan dengan sistem perakaran planlet. Hal tersebut terlihat pada perlakuan kontrol, 5 Gy, dan 10 Gy jumlah akarnya lebih banyak dibandingkan dengan dosis 15 dan 20 Gy, demikian pula pada panjang akar, yaitu kontrol, 5 Gy, dan 10 Gy akarnya lebih panjang dibandingkan dengan 15 dan 20 Gy. Pertambahan jumlah akar dan panjang

akar tersebut mendorong suplai hara yang lebih banyak untuk proses metabolisme yang lebih baik (Al-Qudat 1990) dan meningkatkan laju fotosintesis (Antonov *et al.* 1989) sehingga hal tersebut memacu pertumbuhan tunas.

Iradiasi sinar gamma menghasilkan berbagai keragaman fenotipik (Gambar 2). Tabel 6 menunjukkan bahwa pada dosis 20 Gy menginduksi frekuensi keragaman yang lebih banyak dengan karakter percabangan batang, daun pucuk melilit, daun mengecil, akar gantung pada ruas, dan ruas memendek. Keragaman ini merupakan karakter yang tidak normal, namun hal tersebut membuktikan bahwa iradiasi sinar gamma dapat menginduksi keragaman fenotipik. Keragaman



A = planlet pertumbuhan normal, B = ruas memanjang, C = Akar gantung/semu pada ruas, D = daun pucuk melilit, E = batang bercabang, F = daun melebar.

**Gambar 2.** Pengaruh iradiasi sinar gamma terhadap keragaman penotifik planlet.

**Tabel 6.** Pengaruh iradiasi sinar gamma terhadap keragaman penotifik planlet.

Keragaman penotifik	Dosis iradiasi sinar gamma (Gy)				
	Kontrol	5	10	15	20
Batang bercabang	0	0	1	1	3
Daun pucuk melilit	0	1	0	0	3
Daun melebar	3	0	0	0	0
Daun mengecil	0	0	1	4	5
Akar gantung/semu pd ruas	0	0	1	1	3
Ruas memanjang	2	0	0	0	0
Ruas memendek	1	2	1	3	5

tersebut kemungkinan besar merupakan hasil mutasi (mutan), karena diperoleh dengan menggunakan kalus. Hal tersebut sejalan yang dikemukakan oleh Van Harten (1998), bahwa apabila kalus yang diradiasi baik berupa embrio somatik atau suspensi sel akan menyebabkan mutan solid (mutan penuh) sehingga bersifat diwariskan, sedangkan apabila jaringan multiseluler seperti biji, umbi, stek stolon, dan bagian jaringan tanaman lainnya yang diradiasi maka akan menghasilkan mutan sektoral. Mutan tersebut bersifat kimera (mutan epigenik) sehingga karakter tertentu dari induknya tidak dapat diwariskan pada generasi berikutnya (Micke dan Donini 1993). Peneliti sebelumnya menghasilkan keragaman genetik tanaman nilam dengan karakter morfologi dan kadar minyak, di mana perlakuan kalus yang diiradiasi kandungan minyaknya lebih tinggi dibandingkan tanpa iradiasi (kontrol) (Mariska *et al.* 1996). Dengan demikian, keragaman tersebut perlu diamati lebih lanjut pada tanaman dewasa atau pada turunannya (klonal).

#### KESIMPULAN

Semakin tinggi dosis iradiasi sinar gamma, semakin meningkatkan persentase kematian kalus dan menekan pertumbuhan kalus serta menurunnya kemampuan kalus untuk bergenerasi. Dosis iradiasi sinar gamma 20 Gy walaupun memberikan pengaruh buruk terhadap kualitas dan pertumbuhan kalus dan tunas, namun menginduksi frekuensi keragaman fenotipik yang lebih banyak.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Kepala BB-Biogen atas izin dan fasilitas yang diberikan sehingga penelitian ini dapat dilaksanakan.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Ahloowalia, B.S., Maluzynski, and Nichterlein. 2004.** Global impact of mutation-derived varieties. *Euphytica* 135:187-204.
- Al-Qudat, 1990.** Effect of low doses gamma irradiation on Onion yield. *Ann. Biol.* 6:61-67.
- Al-Safadi, B., Z. Ayyoubi, and A. Jawdat. 2000.** The effect of gamma irradiation on potato microtuber production in vitro. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 61:181-187.
- Antonov, M., P. Veliclov, T.S. Tsonev, and M. Angelov. 1989.** Effect of gamma and laser irradiation on maize seeds and plants. ESNA XXth Annual Meeting. Wageningen, the Netherlands p. 44.
- Biswas, B., Chowdhury, A. Bhattacharya, and B. Mandal. 2002.** *In vitro* screening for increasing drought tolerance in rice. *In vitro Cell. Dev. Biol.-Plant.* 38:525-530.
- Charbaji and I. Nabulsi. 1999.** Effect of low doses of gamma irradiation on *in vitro* growth of grapevine. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 57:129-132.
- De Gusman, C.C., R.A. Reaglos, A.V. Tuico, and M.E.E. Flavier. 1994.** Rooting performance of cutting of patchouly (*Pogostemon cabling* (Bleo) Benth). *The Philippine Agricultural Scientist* 77(4):431-436.
- Direktur Jenderal Perkebunan. 2002.** Statistik perkebunan Indonesia 2000-2002. Direktorat Jenderal Perkebunan, Deptan. Jakarta.
- Edi, S. 2004.** Peningkatan ketenggangan terhadap aluminium dan pH rendah pada tanaman padi melalui keragaman somaklonal dan iradiasi sinar gamma. Disertasi Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Gardner, F.P., R.B. Pearce, dan R.L. Mitchell. 1991.** Fisiologi Tanaman Budidaya. UI Press, Jakarta.
- Lage, L.S.C. and M.A. Esquibel. 1997.** Growth stimulation produced by methylene blue treatment in sweet potato. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 48:77-81
- La Vina, G., A.B. Munoz, and F.P. Alfaro. 2001.** Effect of culture media and irradiance level on growth and morphology of *Persea americana* Mill microcutting. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 65:229-237.
- Mariska, I., Hobir, E.G. Lestari, dan Seswita. 1996.** Peningkatan keragaman genetik tanaman nilam melalui kultur kalus dan radiasi. Pertemuan Aplikasi Isotop dan Radiasi. Badan Tenaga Atom Nasional, Jakarta 9-10 Januari 1996. 17 hlm.
- Mariska, I., E. Syamsuddin, P. Tjondronegoro, E.G. Lestari, dan Seswita. 1997.** Peningkatan keragaman genetik tanaman nilam melalui kultur jaringan keragaman somaklonal. Riset Unggulan Terpadu (RUT) II Tahun ke-III Laporan Akhir. 62 hlm.
- Maluzynski, M.K., L. Nichterlein, Van Zanten, and B.S. Ahloowalia. 2000.** Officially released mutant varieties-the FAO/IAEA database. *Mut. Breed. Rev.* 12:1-84.
- Micke, A. and B. Donini. 1993.** Induced mutation. *In* Hayward, M.D., N.O. Bosemark, and I. Romagosa, (Ed.). *Plant Breeding Principles and Prospects.* Chapman and Hall. p. 52-77.
- Moustofa, R.A.K., D.R. Dungan, and J.M. Widholm. 1999.** The effect of gamma radiation and N-ethyl-N nitrosourea on culture maize callus growth and plant regeneration. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 17:121-132.
- Nikham dan Hilmy. 1987.** Efek kombinasi iradiasi dan panas pada bakteri *Eucherchia coli* dan *Sarcina lutea* dalam kondisi kering. *Batan* 20(2):30-38.
- Soeranto, H. 2003.** Peran iptek nuklir dalam pemuliaan tanaman untuk mendukung industri pertanian. Puslitbang Teknologi Isotop dan Radiasi, Badan Tenaga Nuklir Nasional (BATAN).

**Sutjahjo, S.H. 1994.** Induksi keragaman somaklon ke arah ketenggangan terhadap keracunan aluminium pada tanaman jagung. Disertasi Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.

**Van Harten, A.M. 1998.** Mutation breeding. Theory and Practical Application New York. Cambridge University Press. p. 342.

---