

PENGARUH RADIASI SINAR GAMMA (Cobalt-60) TERHADAP PERTUMUHAN BIAKAN KAPOLAGA SECARA IN VITRO

Ali Husni

Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri

RINGKASAN

Penelitian dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh radiasi sinar gamma (cobalt-60) terhadap pertumbuhan dan penampakan biakan kapolaga (*Ellettaria cardamomum*) secara *in vitro* telah dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Puslitbangtri, Bogor. Penelitian dilakukan dari bulan Agustus 1992 sampai Maret 1993 di Laboratorium Bioteknologi Kultur Jaringan Puslitbangtri Bogor. Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap dengan 5 ulangan. Perlakuan radiasi yang digunakan 0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 dan 3.0 krad. Hasil penelitian menunjukkan bahwa biakan yang diberi radiasi sinar gamma 0.5 dan 1.0 krad sampai dengan umur 6 minggu semuanya tetap hidup. Pada subkultur ke 2 dan ke 3 dari biakan yang diberi radiasi tersebut jumlah tunasnya cenderung lebih banyak dibandingkan dengan kontrol. Dosis radiasi tinggi 1.5, 2.0, 2.5 dan 3.0 krad menyebabkan kematian biakan setelah umur 6 minggu.

PENDAHULUAN

Kapolaga (*Elettaria cardamomum*) adalah salah satu tanaman rempah dan obat. Buahnya banyak digunakan sebagai campuran jamu tradisional, penyedap makanan dan minuman, bahan pewangi atau minyak angin (Hobir dan Sudiarto, 1992). Selain itu kapolaga bermanfaat untuk konservasi lahan karena tanaman ini berbentuk rumpun dan akarnya cukup kuat, sehingga dapat mengurangi terjadinya erosi permukaan tanah (Emmyzar *et al.*, 1992).

Secara botanis kapolaga mempunyai dua varietas yaitu *E. cardamomum* Varietas major dan *E. cardamomum* Varietas minor. Varietas yang banyak diusahakan adalah varietas minor, di antaranya type Mysore dan Malabar. Kapolaga sabrang yang diusahakan di Indonesia diintroduksi dari India. Jumlah populasi yang diintroduksi tersebut sangat kecil, sehingga

keragaman jenisnya diperkirakan masih kecil. Untuk itu perlu dilakukan suatu usaha untuk memperluas variabilitas genetik guna mendapatkan sifat-sifat yang unggul seperti sifat produksi, buah yang besar, kualitas buah dan ketahanan terhadap penyakit.

Pada beberapa hasil penelitian tanaman budidaya, sifat-sifat tersebut dapat diperoleh karena tanaman mengalami mutasi.

Mutasi dapat terjadi secara spontan dan secara buatan. Mutasi yang terjadi secara spontan frekuensinya sangat kecil, sehingga perlu dilakukan mutasi secara buatan. Dari tanaman hasil mutasi buatan telah didapatkan tanaman yang berbunga lebih cepat, tahan terhadap penyakit dan lingkungan (Mugiono dan Ismachin, 1981; Mugiono, 1982; dan Ratma, 1989).

Kultur jaringan dapat dipakai untuk menghasilkan keragaman somaklonal yang mendukung program pemuliaan tanaman. Keragaman tersebut dapat ditingkatkan antara lain dengan pemberian mutagen secara fisik yaitu dengan sinar gamma. Salah satu keuntungan yang dapat dicapai melalui kultur jaringan adalah mutasi yang terjadi dapat timbul pada tingkat sel. Sehingga peluang untuk mendapatkan variasi genetik lebih besar dari pada teknik konvensional. Untuk mendapatkan hasil yang baik pada teknik pemberian mutagen secara fisik perlu dicari dosis radiasi yang terbaik yang dapat menimbulkan variasi genetik. Dosis radiasi sinar gamma yang tinggi dapat merusak bahkan mematikan sel. Sedangkan dosis yang rendah tidak berpengaruh secara genetik, dan dosis op-

timum mampu meningkatkan keragaman genetik karena terjadi mutasi (Guftafson dan Ekberg, 1977). Dosis optimum untuk setiap jenis dan bagian tanaman yang diradiasi berbeda-beda.

Penelitian dilakukan untuk melihat pengaruh perlakuan radiasi sinar gamma (Cobalt-60) terhadap pertumbuhan dan penampakan biakan kapolaga secara *in vitro*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di laboratorium Kultur Jaringan, Puslitbangtri Bogor. Eksplan yang digunakan dalam percobaan ini adalah tunas lateral yang berasal dari biakan steril dalam botol.

Percobaan terdiri dari dua tahap percobaan yang berbeda.

Percobaan I

Eksplan yang digunakan diradiasi dengan dosis 0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 dan 3.0 krad yang dilakukan di Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi, BATAN, Jakarta. Selanjutnya eksplan ditumbuhkan dalam media cair stabil yang mengandung media dasar Murashige dan Skoogk (MS), vitamin grup B, sukrosa 30 g/l (Tabel 1), zat pengatur tumbuh BA 0.1 mg/l. Percobaan disusun secara Acak Lengkap (RAL) dengan lima ulangan. Peubah yang diamati adalah banyaknya jumlah tunas, daun, akar, tinggi tunas dan keadaan biakan secara visual.

Percobaan II

Biakan yang masih hidup dari Percobaan I hasil radiasi 0.5 dan 1.0 krad di subkultur setiap bulan pada media baru dengan komposisi yang sama dengan media awal. Percobaan disusun secara Acak Lengkap (RAL) dengan lima ulangan. Peubah yang diamati adalah banyaknya jumlah tunas dan keadaan biakan secara visual.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Percobaan I.

Hasil percobaan pada Tabel 1 menunjukkan bahwa pada perlakuan radiasi dengan dosis tinggi menyebabkan kematian pada biakan. Pada umur empat minggu biakan yang hidup 100% berasal dari perlakuan dengan dosis 0, 0.5 dan 1.0 krad. Sedangkan biakan yang hidup pada dosis 1.5 dan 2.0 krad hanya 40 % dengan penampakan daun dan batang yang berwarna hijau kecoklatan. Pada umur enam minggu biakan yang diberi radiasi dengan dosis 1.5 dan 2.0 krad tersebut menjadi mati semuanya. Biakan yang masih hidup sampai dengan umur enam minggu hanya pada eksplan kontrol dan eksplan yang diradiasi dengan dosis 0.5 dan 1.0 krad. Biakan yang diradiasi dengan dosis tinggi menunjukkan gejala perubahan warna kuning kecoklatan pada minggu kedua setelah perlakuan, lalu mati pada minggu keenam. Tal (1983) menyatakan bahwa pengaruh perlakuan radiasi dengan dosis tinggi menyebabkan kerusakan seperti mempengaruhi pertumbuhan, metabolisme dan diferensiasi yang menyebabkan kematian sel. Kapolaga merupakan tanaman herba yang lebih banyak mengandung air dibandingkan tanaman berkayu. Kandungan air ini lebih ditingkatkan lagi dengan dibiakkannya bahan tanaman yang akan diradiasi secara kultur jaringan. Karena materi yang digunakan kandungan airnya sangat tinggi maka proses fisik dan kimia semakin meningkat setelah radiasi sehingga pembentukan peroksida (H_2O^2) akan meningkat pula. Peroksida merupakan senyawa yang dapat menyebabkan kerusakan pada gen maupun komponen lainnya yang ada dalam sel. Sehingga dengan pemberian radiasi dosis tinggi dari 1.5 sampai dengan 3.0 krad dapat menyebabkan kematian jaringan tanaman. Hal yang berbeda pada biakan yang diradiasi dengan dosis 0.5 dan 1.0 krad tetap hidup dan tumbuh membentuk

Tabel 1. Pengaruh radiasi sinar gamma terhadap persentase eksplan yang tumbuh pada media cair stabil MS + BA 0.1 mg/l, mur 4 dan 6 minggu.

Dosis (Krad)	Eksplan yang tumbuh (minggu ke-) (%)	
	4	6
0	100	100
0.5	100	100
1.0	100	100
1.5	40	0
2.0	40	0
2.5	0	0
3.0	0	0

tunas-tunas baru dengan penampakan yang tidak berbeda dengan kontrol.

Pengaruh perlakuan radiasi terhadap banyaknya jumlah tunas, daun, akar dan tinggi tunas dapat dilihat pada Tabel 3. Perlakuan radiasi dari 0.5 sampai dengan 3.0 krad pada umumnya memberikan hasil yang berbeda nyata dengan kontrol. Perlakuan radiasi dengan dosis 0.5 dan 1.0 krad memberikan jumlah daun dan akar lebih banyak dari pada perlakuan radiasi lainnya. Jumlah tunas, daun dan akar pada perlakuan 0.5 krad adalah 2.4, 6.2 dan 3.8. Pada dosis yang sama juga tunasnya cenderung paling tinggi yaitu 1.62. Peningkatan dosis radiasi cenderung menghambat pertumbuhan eksplan baik terhadap banyaknya jumlah tunas, daun, akar dan tinggi tunas. Hal ini disebabkan terganggunya biosintesa auksin yang menyebabkan kadar auksin endogen dalam tanaman berkurang. Karena Skoog dalam Pahan, (1987) menyatakan bahwa auksin endogen sangat peka terhadap radiasi sinar gamma. Gangguan biosintesa auksin disebabkan berkurangnya triptophan yang merupakan senyawa dasar untuk pembentukan auksin dalam tanaman (Levitt, 1980) atau terhambatnya aktivitas enzim indolasetaldehidrogenase (Moore, 1979). Berkurangnya kadar auksin endogen dalam tanaman akan mengganggu keseimbangan zat

Tabel 2. Pengaruh perlakuan radiasi sinar gamma terhadap banyaknya jumlah tunas, tinggi tunas, jumlah daun dan jumlah akar

Perlakuan	Jumlah Tunas	Tinggi Tunas	Jumlah Daun	Jumlah Akar
(Krad)	(Umur 4 minggu)			
0	4 ^a	2.72 ^a	6.4 ^a	5.4 ^a
0.5	2.4 ^{ab}	1.62 ^b	6.2 ^a	3.8 ^b
1.0	1.8 ^{bc}	1.5 ^b	5 ^a	3.4 ^b
1.5	1.2 ^{bc}	1.06 ^b	3 ^b	0.8 ^c
2.0	1.2 ^{bc}	0.98 ^b	3 ^b	0.6 ^c
2.5	0 ^c	0 ^c	0 ^c	0 ^c
3.0	0 ^c	0 ^c	0 ^c	0 ^c
KK (%)	30	32	28	38

Keterangan: Angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada tiap kolom tidak berbeda nyata pada taraf 1%

pengatur tumbuh yang diperlukan bagi pertumbuhan.

Pada Tabel 2 terlihat pula, bahwa perlakuan radiasi dengan dosis 2.5 dan 3.0 krad menyebabkan kematian biakan pada umur empat minggu. Demikian pula pada biakan yang diradiasi 1.5 dan 2.0 krad pada minggu ke-6 menjadi mati.

Percobaan II

Untuk menstimulasi daya tumbuh dari jaringan yang telah diberi perlakuan dilakukan sub kultur berulang pada media baru dengan komposisi yang sama dengan media awal.

Jumlah tunas hasil subkultur ke 1, 2 dan 3 dapat dilihat pada Tabel 3. Perlakuan subkultur ke 1, 2 dan 3 pada biakan yang diberi 0 krad ternyata tidak berpengaruh terhadap proses diferensiasi ke arah pembentukan tunas. Hal ini diduga daya multiplikasinya sudah mencapai titik maksimum atau jaringan sudah mengalami kejenuhan, karena eksplan yang digunakan berasal dari biakan yang sudah mengalami subkultur frekuensi tinggi.

Pada subkultur ke-2 walaupun antara perlakuan tidak berbeda nyata jumlah tunas pada biakan yang diradiasi 0.5 dan 1.0 krad cenderung lebih banyak dari kontrol. Demikian pula halnya dengan jumlah tunas pada subkultur ke-3.

Pada kultur jaringan walaupun pada tahap awal jumlah tunasnya antar perlakuan hanya berbeda sedikit tetapi pada tahun berikutnya perbedaan ini akan semakin besar. Karena dari setiap tunas yang terbentuk tersebut dapat dipakai sebagai sumber bahan tanaman yang potensial untuk produksi tunas selanjutnya. Pada subkultur ke-2 dan ke-3 jumlah tunas cenderung lebih banyak pada biakan yang diberi radiasi, hal ini menunjukkan adanya daya pemulihan yang cepat dari sel-sel meristem. Levitt, (1980) menyatakan, bahwa sebagian sel meristem dapat meningkat daya mutasinya setelah terjadi proses pemulihan diri.

Biakan yang diradiasi 0.5 dan 1.0 krad secara visual sampai dengan umur enam minggu penampakannya tidak berbeda dengan kontrol. Walaupun demikian diharapkan setelah dilakukan subkultur yang berulang serta setelah dilakukan aklimatisasi timbul individu-individu baru yang secara genetik berbeda dengan pohon induknya. Karena perbedaan sifat genetik tidak selalu diekspresikan dari perbedaan morfologinya saja. Untuk itu penelitian tetap dilan-

jutkan untuk melihat laju pertumbuhan di lapangan, produktivitasnya dan sifat-sifat lainnya yang dapat mendukung keragaman genetik berbeda dengan pohon induknya.

KESIMPULAN

Pemberian radiasi sinar gamma 2.5 dan 3.0 krad pada eksplan kapolaga secara *in vitro* dapat menyebabkan kematian biakan. Dosis 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 dan 3.0 krad dapat menekan tinggi tunas dan kemampuan biakan membentuk tunas, akar dan daun pada umur enam minggu.

Perlakuan subkultur pada biakan tidak mempengaruhi kemampuan biakan membentuk tunas. Tetapi pada subkultur ke-2 dan 3 biakan yang diberi radiasi jumlah tunasnya cenderung lebih banyak yaitu 6.2 pada 0.5 krad dan 6.4 serta 6.2 pada 1.0 krad.

DAFTAR PUSTAKA

- Emmyzar, D.D. Tarigans, Hobir. 1992. Budidaya Tanaman Kapolaga Sabrang. Edsus Litro. 8 (1) : 71-82.
- Guftason dan Ekberg, 1977. Chromosome mutation : Chance in chromosome generally without alternation of chromosome number.
- Tech. Rep. Ser. 119. Manual on mutation breeding, IAEA, Viennal. 108.
- Hobir dan Sudiarto. 1992. Budidaya tanaman kapolaga lokal. Edsus Littro. 8 (1) : 83-91.
- Jones, O.P. 1983. *In vitro* propagation of tree crops. p.139-159. In S.H.Mantell and H. Smith (Eds.) Plant Biotechnology. Cambridge University Press. Australia.
- Levitt. 1980. Respons of Plant to Enviromental Strees. II. 2 nd. Acad. Press. New York. p. 697.
- Moore, T.C. 1979. Biochemistry and Physiology of Plant Hormones. Springer Werlag. New York.

Tabel 3. Pengaruh subkultur terhadap pembentukan tunas dari eksplan yang diradiasi 0, 0.5 dan 1.0 krad umur enam minggu

Dosis (Krad)	Sub Kultur ke-		
	1	2	3
0	4 ^a	4 ^a	4 ^a
0.5	3.6 ^a	6.2 ^a	6.2 ^a
1.0	3 ^a	6.4 ^a	6.2 ^a
KK (%)	35.6	36.5	38.2

Keterangan: Angka-angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 0.05.

- Mugiono dan Ismachin. 1981. Pemuliaan mutasi untuk resistensi padi terhadap penyakit busuk dan wereng coklat. BATAN Jakarta. 16 (1) : 19-27.
- Mugiono. 1982. Daya adaptasi beberapa galur mutasi padi. Makalah dalam Diskusi Panel Aplikasi Teknik Nuklir di Bidang Pertanian dan Biologi. 9-11 Juni. Pusat Aplikasi dan Radiasi, BATAN, Jakarta.
- Pahan, I., 1987. Pengaruh radiasi sinar gamma pada pucuk *in vitro* terhadap keragaman petunia. Skripsi Jurusan Agronomi. Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- Ratma. R. 1989. Pemilihan dosis gamma dan penggunaannya dalam pemuliaan mutasi kedele Orba. Makalah dalam Pertemuan dan Prosentasi Ilmiah Penelitian Dasar Ilmu Pengetahuan dan Teknologi Nuklir. 6-8 Maret. Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi, BATAN. Jakarta.
- Tal, M. 1983. Selection for stress tolerance. Hand Book Plant Cell Culture. 1 : 461 - 488.