

INDUKSI KERAGAMAN GENETIK TANAMAN ANTHURIUM WAVE OF LOVE (*Anthurium plowmanii* Croat)
DENGAN RADIASI SINAR GAMMA DARI ^{60}Co SECARA IN VITRO

Genetic Variability of *Anthurium Wave of Love* (*Anthurium Plowmanii* Croat.) In Vitro
Induced by Gamma-Ray Radiation from ^{60}Co

Sri Imriani Pulungan¹ dan Ni Made Armini Wiendi²

1. Mahasiswa Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, IPB
2. Staf Pengajar Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, IPB

Abstract

The objectives this research were to study the optimum radiation dosage of gamma ray from ^{60}Co to induce genetic variability of *Anthurium Wave of Love* and to obtain LD_{50} *Anthurium Wave of Love* in vitro. This research was conducted from January 2009 to August 2009, at the Plant Biotechnology Laboratory, Departement of Agronomy and Horticulture, Faculty of Agriculture, Bogor Agricultural University. The research was designed by Randomized Block Design, with 6 levels of gamma ray radiation dosage, 0 Gy, 10 Gy, 20 Gy, 30 Gy, 40 Gy and 50 Gy. In vitro shoots of *Anthurium Wave of Love* were used as plant material. Medium for *Anthurium Wave of Love* in vitro was Murashige and Skoog basal medium + 2 mg/l BAP + 0.5 mg/l NAA + 30 g/l glucose + 5 g/l agarose, pH 5.9.

The result showed LD_{50} *Anthurium Wave of Love* in vitro at dosage 16.98 Gy. Survival rate of *Anthurium Wave of Love* shoots decreased by increasing gamma ray radiation dosage, with quadratic pattern $Y = 0.046x^2 - 4.43x + 111.9$ ($R^2 = 0.882$). Survival rate of *Anthurium Wave of Love* shoots decreased at dosages 20 Gy - 50 Gy. The highest phenotypic variation was achieved at dosage 10 Gy. 10 Gy radiation dosage stimulated number of leaves, number of roots and number of new shoots.

Key words : *Anthurium Wave of Love*, radiation, mutation

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Anthurium plowmanii Croat adalah tanaman hias daun yang termasuk ke dalam keluarga Araceae. *Anthurium plowmanii* Croat lebih dikenal dengan nama umum anturium *Wave of Love* (Anturium Gelombang Cinta) karena bentuk daunnya yang bergelombang. Tanaman berdaun indah ini berkerabat dengan sejumlah tanaman hias populer seperti aglonema, pilodendron, keladi hias, dan alokasia (Redaksi Agromedia, 2008).

Anturium menjadi tanaman hias yang populer pada pertengahan 2006 sampai dengan September 2007. *Anthurium Wave of Love* merupakan jenis anturium yang paling diminati. Daya tarik utama dari anturium adalah bentuk daunnya yang indah, unik, dan bervariasi. Daun tanaman ini umumnya berwarna hijau tua dengan urat dan tulang daun besar dan menonjol (Redaksi Agromedia, 2008).

Keragaman genetik *Anthurium Wave of Love* pada dasarnya bisa dihasilkan dengan cara hibridisasi, namun cara ini dinilai kurang efisien karena untuk mendapatkan tanaman anturium yang berbunga diperlukan waktu yang cukup lama dan keberhasilan persilangan juga rendah. Selain itu, dengan teknik persilangan konvensional kultivar yang dihasilkan sangat terbatas dan akan bersegregasi pada generasi berikutnya.

Alasan lain yang mendorong perlunya induksi mutasi adalah karena anturium termasuk tanaman berumah satu yang waktu masaknya putik dan tepung sari tidak bersamaan. Pada umumnya putik masak lebih awal dibandingkan tepung sari. Diperlukan cara yang lebih efisien untuk menginduksi keragaman genetik tanaman *Anthurium Wave of Love* (Briggs, 1987). Dengan adanya keragaman genetik diharapkan akan menghasilkan keragaman fenotipe tanaman yang sangat diperlukan terutama pada tanaman hias.

Sinar gamma telah dimanfaatkan secara luas untuk meningkatkan keragaman genetik tanaman. Sinar gamma tidak mempunyai muatan listrik dan tidak terbelokkan oleh medan listrik yang ada di sekitarnya, sehingga daya tembus sinar gamma lebih besar dibandingkan dengan daya tembus partikel alfa atau beta (Batan, 1972).

Cassells (2002) melaporkan bahwa mutasi induksi dapat dikombinasikan dengan kultur *in vitro* untuk memperbaiki

karakter suatu spesies dan memacu keragaman genetik yang lebih tinggi. Welsh (1991) juga melaporkan bahwa laju mutasi dari sel-sel yang ditumbuhkan pada kultur jaringan lebih tinggi daripada tanaman yang tumbuh dari biji.

Tujuan

1. Mempelajari taraf dosis radiasi sinar gamma yang tepat untuk menginduksi keragaman genetik tanaman *Anthurium Wave of Love* (*A. plowmanii* Croat)
2. Mendapatkan LD_{50} tanaman *Anthurium Wave of Love* (*A. plowmanii* Croat) yang dikulturkan secara *in vitro*
3. Menghasilkan mutan *Anthurium Wave of Love* (*A. plowmanii* Croat) untuk diteliti lebih lanjut

Hipotesis

1. Terdapat taraf dosis radiasi sinar gamma dari ^{60}Co yang tepat untuk meningkatkan keragaman genetik tanaman *Anthurium Wave of Love* (*A. plowmanii* Croat).
2. Terdapat minimal satu mutan *Anthurium Wave of Love* (*A. plowmanii* Croat) yang memiliki fenotipe tanaman *in vitro* yang berbeda dari tanaman kontrol.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan dari bulan Januari 2009 sampai bulan Agustus 2009 di Laboratorium Bioteknologi Tanaman, Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor. Pengamatan stomata dilakukan di Laboratorium Biologi Tumbuhan, Pusat Studi Ilmu Hayati, Institut Pertanian Bogor. Perlakuan radiasi sinar gamma dilakukan di Pusat Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi (PATIR), Badan Tenaga Atom Nasional (BATAN), Pasar Jumat, Jakarta Selatan.

Bahan dan Alat

Bahan tanaman yang digunakan adalah tunas steril tanaman *Anthurium Wave of Love* yang berumur 14 minggu yang dikulturkan secara *in vitro*.

Komposisi media yang digunakan untuk perbanyakan tunas sebelum radiasi adalah MS + 1 mg/l BAP + 0.1 mg/l IBA + 30 g/l gula + 5 g/l agar, pH 5.9. Komposisi media yang digunakan untuk subkultur setelah radiasi adalah MS +

2 mg/l BAP + 0.5 mg/l NAA + 30 g/l gula + 5 g/l agar, pH 5.9. Bahan lain yang digunakan adalah *aquadest*, plastik, plastik wrap, karet, *tissue*, alkohol 70%, *clorox*, dan *spiritus*. Bahan yang digunakan untuk pengamatan stomata meliputi kuteks bening dan selotip.

Peralatan yang digunakan untuk pembuatan dan sterilisasi media adalah botol kultur volume 300 ml, labu takar volume 1 liter, pipet volumetrik, pengaduk kaca, pH meter, timbangan analitik, *stirer*, dan *autoclave*. Peralatan yang digunakan saat penanaman atau subkultur meliputi *laminar air flow cabinet*, cawan petri, pinset, gunting, *scalpel*, dan lampu bunsen. Radiasi sinar gamma dengan ^{60}Co dilakukan di dalam radiator *gamma chamber*. Objek gelas dan mikroskop digunakan untuk pengamatan stomata.

Metode Penelitian

Penelitian disusun menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan satu faktor, yaitu dosis radiasi sinar gamma yang terdiri dari 6 taraf, yaitu : 0 Gy (D0), 10 Gy (D1), 20 Gy (D2), 30 Gy (D3), 40 Gy (D4) dan 50 Gy (D5). Setiap taraf perlakuan terdiri dari 3 ulangan, sehingga ada 18 satuan percobaan. Setiap satuan percobaan terdiri dari 10 tunas.

Model linear yang digunakan adalah :

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \varepsilon_{ij}$$

Keterangan :

Y_{ij} = nilai perlakuan dosis radiasi ke-i dan kelompok ke-j

μ = nilai rata-rata umum pengamatan

α_i = pengaruh perlakuan dosis sinar gamma ke-i (i= 0 Gy, 10 Gy, 20 Gy....50 Gy)

β_j = pengaruh kelompok ke-j (j = 1, 2, dan 3)

ε_{ij} = galat percobaan

Data pengamatan dianalisis dengan sidik ragam pada taraf nyata 5 %. Pada uji F nyata dilakukan pengujian nilai tengah lanjut dengan menggunakan *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf nyata 5 %. Penentuan *Lethal dosage 50* digunakan uji kontras polinomial. Pengolahan data dilakukan menggunakan *software SAS 6.12*.

Pelaksanaan Penelitian

1. Sterilisasi peralatan

Botol kultur, cawan petri, pinset, gunting, dan *scalpel* dicuci bersih, kemudian disterilkan di dalam *autoclave* pada suhu 121⁰ C dan tekanan 17.5 psi selama 60 menit.

2. Pembuatan media

Media dibuat dengan menggunakan larutan stok yang telah disiapkan. Setelah semua larutan stok yang diperlukan dipipet, kemudian ditambahkan zat pengatur tumbuh. Setelah itu ditambahkan gula dan dilarutkan dengan *aquadest*.

Selanjutnya larutan dimasukkan ke dalam labu takar dan ditambahkan air steril hingga mencapai volume 1 liter. Derajat keasaman larutan diukur dengan menggunakan pH meter. Larutan dibuat menjadi pH 5.9. Kemudian ke dalam media ditambahkan agar sebanyak 5 g/l. Setelah itu, media dimasak sampai mendidih. Selanjutnya media dimasukkan ke dalam botol kultur dengan volume 25 ml/botol dan ditutup dengan plastik. Media yang sudah disiapkan diautoclave pada suhu 121⁰C dan tekanan 17.5 psi selama 20 menit.

3. Perbanyak tunas

Perbanyak tunas dilakukan selama 14 minggu pada media MS + 1 mg/l BAP + 0.1 mg/l IBA + 30 g/l gula + 5 g/l agar, pH 5.9.

4. Radiasi sinar gamma

Cobalt isotop 60 digunakan sebagai sumber radiasi sinar gamma. Botol kultur dimasukkan ke dalam *gamma chamber*. Dosis radiasi sinar gamma yang akan diberikan disesuaikan dengan taraf perlakuan.

5. Penanaman eksplan setelah radiasi

Tunas yang telah diradiasi ditanam kembali selama tiga hari setelah perlakuan karena media yang terkena radiasi bersifat

toksik bagi tanaman. Penanaman hari pertama merupakan ulangan I, hari kedua adalah ulangan II, dan hari ketiga merupakan ulangan III. Tunas yang ditanam merupakan tunas tunggal. Media yang digunakan adalah MS + 2 mg/l BAP + 0.5 mg/l NAA + 30 g/l gula + 5 g/l agar, pH 5.9.

6. Subkultur I dan II

Subkultur dilakukan setelah 8 minggu. Subkultur dilakukan dengan cara memisahkan tunas yang terbentuk menjadi tunas tunggal pada medi MS + 2 mg/l BAP + 0.5 mg/l NAA + 30 g/l gula + 5 g/l agar, pH 5.9. Subkultur dilakukan di dalam *laminar air flow cabinet*.

7. Pengamatan Stomata

Pengamatan stomata dilakukan pada 16 minggu setelah radiasi. Stomata yang diamati adalah stomata yang terdapat pada bagian bawah daun pada perbesaran 400 kali.

8. Kondisi ruang kultur selama inkubasi

Kultur *Anthurium Wave of Love* diinkubasi di ruang kultur. Botol-botol kultur disusun pada rak bertingkat dengan lama pencahayaan 24 jam sehari dengan intensitas cahaya 1000-2000 lux. Suhu ruangan kultur untuk inkubasi adalah 19⁰C.

Pengamatan

Peubah yang diamati setiap minggu selama 16 minggu meliputi :

- Tinggi tunas, diukur mulai dari pangkal batang sampai daun yang paling atas
- Jumlah daun, diamati daun yang telah membuka
- Jumlah akar, diamati akar yang berukuran ≥ 0.5 cm
- Saat munculnya tunas baru
- Jumlah tunas baru, diamati tunas yang berukuran ≥ 0.5 cm
- Daya multiplikasi
- Warna daun
- Bentuk daun

Peubah yang diamati saat minggu ke 16 adalah:

- LD₅₀, dihitung berdasarkan jumlah eksplan yang hidup setelah diberi perlakuan
- Bentuk, ukuran, dan jumlah stomata, diamati secara mikroskopik dengan perbesaran 400 kali
- Persentase mutan

$$\text{Persentase mutan} = \frac{\text{jumlah tanaman mutan pada dosis A}}{\text{jumlah tanaman yang diradiasi dengan dosis A}} \times 100\%$$

- Frekuensi mutan

$$\text{Frekuensi mutan} = \frac{\text{jumlah mutan yang memiliki keragaman B}}{\text{jumlah mutan pada dosis A}} \times 100\%$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kondisi Umum Percobaan

Pemeliharaan tunas *Anthurium Wave of Love* hasil mutasi dibagi menjadi dua bagian, yaitu pemeliharaan setelah subkultur I dan pemeliharaan setelah subkultur II. Subkultur I adalah pemindahan tunas pada media (MS + 2 mg/l BAP + 0.5 mg/l NAA + 30 g/l gula + 5 mg/l agar, pH 5.9) setelah perlakuan radiasi sinar gamma dan diinkubasi selama 8 minggu. Setelah 8 minggu, tunas *Anthurium Wave of Love* hasil mutasi dipindahkan ke media baru, disebut subkultur II.

Subkultur I

Pengaruh radiasi sinar gamma terhadap tunas *Anthurium Wave of Love* mulai terlihat setelah subkultur I, saat 2 minggu setelah radiasi (MSR). Tunas yang diradiasi pada dosis 20 Gy, 30 Gy, 40 Gy dan 50 Gy mulai menunjukkan gejala kekuningan pada daun.

Setelah subkultur I ada beberapa tunas yang terkontaminasi. Kontaminasi yang terjadi umumnya disebabkan oleh

pendawaan. Persentase tunas yang terkontaminasi setelah subkultur I mencapai 16.1%.

Persentase jumlah tunas awal, jumlah tunas terkontaminasi, jumlah tunas yang mati, dan jumlah tunas yang bertahan hidup sampai 8 MSR disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Jumlah Tunas Awal, Jumlah Tunas yang Terkontaminasi, Jumlah Tunas yang Mati, dan Jumlah Tunas *Anthurium Wave of Love* yang Hidup setelah Subkultur I

Dosis Radiasi (Gy)	Tunas Awal	Tunas Terkontaminasi	Tunas yang Mati	Tunas yang Hidup
0	30	9	0	21
10	30	0	0	30
20	30	0	0	30
30	30	13	0	17
40	30	2	0	28
50	30	5	0	25
Jumlah Total	180	29 (16.1%)	0	151 (83.9%)

Subkultur II

Setelah subkultur II, tunas *Anthurium Wave of Love* hasil mutasi dengan dosis radiasi 20 Gy, 30 Gy, 40 Gy dan 50 Gy banyak yang mengalami kematian. Tunas yang mampu bertahan hidup dengan baik hanya pada tunas tanaman kontrol dan tunas dengan dosis radiasi 10 Gy. Tunas yang diradiasi dengan dosis 20 Gy, 30 Gy, 40 Gy dan 50 Gy masih ada yang mampu bertahan hidup, namun tidak terjadi pertumbuhan, daun dan batang menguning, dan bonggol berwarna hitam.

Kultur yang terkontaminasi setelah subkultur II mencapai 19.2%. Kontaminasi banyak terjadi pada tunas tanaman kontrol dan tunas pada dosis radiasi 10 Gy. Persentase jumlah tunas awal, jumlah tunas terkontaminasi, jumlah tunas yang mati, dan jumlah tunas yang hidup setelah subkultur II disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Jumlah Tunas Awal, Jumlah Tunas yang Terkontaminasi, Jumlah Tunas yang Mati, dan Jumlah Tunas *Anthurium Wave of Love* yang Hidup setelah Subkultur II

Dosis Radiasi (Gy)	Tunas Awal	Tunas Terkontaminasi	Tunas yang Mati	Tunas yang Hidup
0	90	33	14	43
10	105	20	15	70
20	43	0	32	11
30	25	10	12	3
40	35	0	32	3
50	31	0	28	3
Jumlah Total	329	63 (19.2%)	133 (40.4%)	133 (40.4%)

Pengaruh Radiasi Sinar Gamma terhadap Pertumbuhan Tunas *Anthurium Wave of Love* Hasil Mutasi

Tinggi Tanaman

a. Subkultur I

Tinggi tunas *Anthurium Wave of Love* diukur mulai dari pangkal batang sampai ujung daun tertinggi. Dosis radiasi sinar gamma tidak berpengaruh nyata terhadap tinggi tunas *Anthurium Wave of Love* setelah subkultur I mulai 1 MSR sampai dengan 6 MSR (Tabel 3). Perlakuan dosis radiasi sinar gamma berpengaruh sangat nyata terhadap tinggi tunas pada 7 MSR dan 8 MSR.

Radiasi sinar gamma menghambat pertambahan tinggi tunas, terlihat bahwa tinggi tunas yang diradiasi selalu lebih rendah daripada tinggi tunas kontrol (Tabel 3).

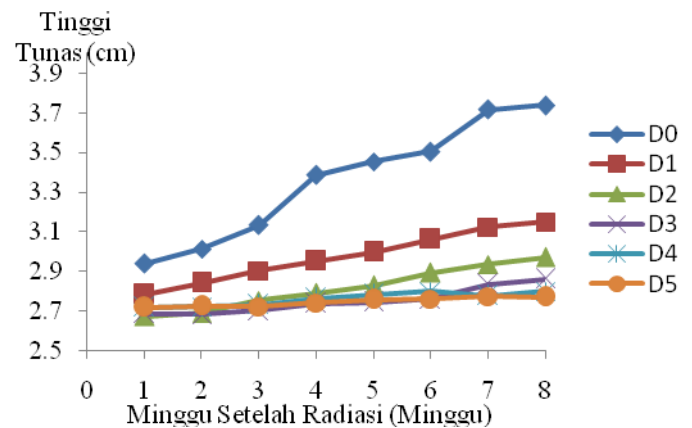
Pertumbuhan tinggi tunas *Anthurium Wave of Love* pada perlakuan dosis radiasi 10 Gy relatif baik. Dosis radiasi 20 Gy, 30 Gy, 40 Gy dan 50 Gy sangat menghambat pertambahan tinggi tunas *Anthurium Wave of Love*, grafik pertambahan

tinggi tunas untuk keempat dosis tersebut relatif datar (Gambar 1).

Tabel 3. Rata-rata Tinggi Tunas *Anthurium Wave of Love In Vitro* dari 6 Dosis Radiasi Sinar Gamma setelah Subkultur I

Dosis (Gy)	Minggu Setelah Radiasi							
	1	2	3	4	5	6	7	8
cm.....							
0	2.9	3.0	3.1	3.4	3.5	3.5	3.7a	3.7a
10	2.8	2.8	2.9	3.0	3.0	3.0	3.1b	3.2b
20	2.7	2.7	2.8	2.8	2.8	2.9	2.9b	3.0b
30	2.7	2.7	2.7	2.7	2.7	2.8	2.8b	2.9b
40	2.7	2.7	2.7	2.8	2.8	2.8	2.8b	2.8b
50	2.7	2.7	2.7	2.7	2.8	2.8	2.8b	2.8b
Uji F	tn	tn	tn	tn	tn	tn	*	*
KK (%)	8.49	8.49	8.64	10.53	10.12	10.01	9.99	9.82

Keterangan : Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata menurut uji lanjut DMRT 5%



Gambar 1. Grafik Tinggi Tunas *Anthurium Wave of Love* dari 6 Dosis Radiasi Sinar Gamma setelah Subkultur I

Keterangan : D0 = 0 Gy, D1 = 10 Gy, D2 = 20 Gy, D3 = 30 Gy, D4 = 40 Gy, D5 = 50 Gy

Menurut Grosch dan Hopwood (1979) dalam Mayasari (2007) radiasi sinar gamma dapat menghambat pertumbuhan tinggi tanaman karena terhambatnya aktivitas pembelahan sel meristem, termasuk sel-sel meristem pucuk tanaman.

b. Subkultur II

Dosis radiasi sinar gamma tidak berpengaruh nyata terhadap tinggi tunas *Anthurium Wave of Love* setelah subkultur II (Tabel 4). Pertambahan tinggi tunas hanya terjadi pada kontrol dan pada dosis radiasi 10 Gy, sedangkan pada dosis 20 Gy, 30 Gy, 40 Gy dan 50 Gy tidak terjadi pertambahan tinggi tunas. Tinggi tunas yang semakin menurun pada dosis radiasi 20 Gy - 50 Gy disebabkan setiap minggu semakin banyak tunas yang mati.

Tabel 4. Rata-rata Tinggi Tunas *Anthurium Wave of Love In Vitro* dari 6 Dosis Radiasi Sinar Gamma pada Subkultur II

Dosis (Gy)	Minggu Setelah Radiasi							
	9	10	11	12	13	14	15	16
cm.....							
0	1.8	1.9	1.9	2.0	2.1	2.1	2.2	2.4
10	1.6	1.7	1.7	1.8	1.9	1.9	2.1	2.3
20	2.2	2.2	2.2	2.1	2.1	1.9	1.6	1.6
30	2.4	2.4	2.3	2.3	2.3	2.2	2.1	2.1
40	2.3	2.4	2.3	2.2	2.2	2.1	2.1	2.0
50	2.2	2.2	2.1	2.0	1.9	1.9	1.9	1.8
Uji F	tn	tn	tn	tn	tn	tn	tn	tn
KK (%)	16.27	16.62	15.68	23.13	20.50	20.88	17.81	17.56

Jumlah Daun

a. Subkultur I

Daun yang diamati dan dihitung adalah daun yang sudah membuka. Jumlah daun *Anthurium Wave of Love* hasil mutasi sangat nyata dipengaruhi oleh dosis radiasi sinar gamma pada 4 MSR, 5 MSR, 6 MSR, 7 MSR, dan 8 MSR. Mulai 3 MSR sampai 8 MSR, jumlah daun terbanyak diperoleh pada tunas tanaman kontrol (Tabel 5).

Tabel 5. Rata-rata Jumlah Daun *Anthurium Wave of Love* per Eksplan dari 6 Dosis Radiasi Sinar Gamma setelah Subkultur I

Dosis (Gy)	Minggu Setelah Radiasi							
	1	2	3	4	5	6	7	8
0	2.5	2.9ab	3.6	6.2a	8.3a	10.1a	10.8a	12.1a
10	2.4	2.6b	2.9	5.0b	6.4b	7.4b	8.5b	10.4a
20	2.2	2.6b	2.9	3.9b	3.9c	4.1c	4.2c	4.7b
30	2.5	3.0a	3.4	4.8b	5.1bc	5.7bc	6.0c	6.1b
40	2.5	2.8ab	3.3	3.9b	3.9c	4.0c	4.1c	4.6b
50	2.7	3.0a	3.1	4.4b	4.5c	4.8c	5.2c	5.3b
Uji F	tn	*	tn	**	**	**	**	**
KK (%)	10.94	7.09	8.78	13.23	14.98	20.24	18.97	20.97

Keterangan : Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata menurut uji lanjut DMRT 5%

Ada kecenderungan bahwa semakin tinggi dosis radiasi sinar gamma yang diaplikasikan, semakin menghambat pertumbuhan jumlah daun *Anthurium Wave of Love*.

Setelah subkultur I, penekanan pertumbuhan daun juga terlihat dari ukuran daun baru *Anthurium Wave of Love* hasil mutasi. Daun baru tanaman dengan dosis radiasi 20 Gy, 30 Gy, 40 Gy dan 50 Gy memiliki ukuran yang lebih kecil dibandingkan dengan daun baru tanaman kontrol. Secara visual bisa diamati walaupun tidak dilakukan pengukuran secara akurat.

b. Subkultur II

Perlakuan dosis radiasi sinar gamma berpengaruh nyata terhadap jumlah daun *Anthurium Wave of Love* pada 13 MSR, 14 MSR, 15 MSR dan 16 MSR. Mulai 13 MSR sampai dengan 16 MSR, jumlah daun tertinggi diperoleh pada perlakuan dosis radiasi 10 Gy dan tidak berbeda nyata dengan jumlah daun tanaman kontrol (Tabel 6).

Tabel 6. Rata-rata Jumlah Daun *Anthurium Wave of Love* per Eksplan dari 6 Dosis Radiasi Sinar Gamma setelah Subkultur II

Dosis (Gy)	Minggu Setelah Radiasi							
	9	10	11	12	13	14	15	16
0	2.2	2.3	2.6	2.7	3.0ab	3.3ab	4.2ab	4.4ab
10	2.9	3.3	3.8	4.5	4.5a	4.5a	5.2a	5.4a
20	2.6	2.4	2.4	2.2	2.2bc	2.2bc	2.1c	2.1c
30	3.0	3.0	2.9	2.9	2.9b	2.8b	2.7bc	2.7bc
40	3.0	3.0	3.0	2.8	2.8b	2.8b	2.7bc	2.6bc
50	3.0	3.0	2.9	2.9	2.9b	2.9b	2.8bc	2.6bc
Uji F	tn	tn	tn	tn	*	*	*	*
KK (%)	20.99	19.15	23.43	24.07	20.75	22.98	23.40	21.99

Keterangan : Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata menurut uji lanjut DMRT 5%

Setelah subkultur II, tunas pada perlakuan dosis radiasi 20 Gy, 30 Gy, 40 Gy dan 50 Gy tidak mampu membentuk daun baru. Pertambahan jumlah daun hanya terjadi pada kontrol dan dosis radiasi 10 Gy. Pertumbuhan daun pada dosis radiasi 10 Gy lebih tinggi daripada perlakuan kontrol.

Kerusakan sel pada meristem yang diradiasi menyebabkan pertumbuhan tanaman terhambat, namun pada tingkat dosis radiasi tertentu justru dapat merangsang pertumbuhan tanaman karena hilangnya kemampuan sebagian sel pada meristem untuk membelah menyebabkan aktivitas sel meristem lain meningkat (Ichikawa dan Ikhushima, 1967). Hal ini yang

menyebabkan jumlah daun baru tanaman *Anthurium Wave of Love* pada dosis radiasi 10 Gy lebih tinggi daripada kontrol.

Jumlah Akar

a. Subkultur I

Dosis radiasi sinar gamma tidak berpengaruh nyata terhadap jumlah akar *Anthurium of Love* setelah subkultur I (Tabel 7). Selama masa inkubasi setelah subkultur I, akar tidak berkembang baik pada tunas tanaman kontrol maupun pada tunas tanaman yang diradiasi. Jumlah akar pada subkultur I relatif konstan atau mengalami penambahan yang kecil.

Tabel 7. Rata-rata Jumlah Akar *Anthurium Wave of Love In Vitro* dari 6 Dosis Radiasi Sinar Gamma pada Subkultur I

Dosis (Gy)	Minggu Setelah Radiasi							
	1	2	3	4	5	6	7	8
0	0.1	0.1	0.1	0.2	0.4	0.4	0.5	0.6
10	0.3	0.3	0.4	0.5	0.7	0.7	0.8	0.8
20	0.1	0.1	0.4	0.6	0.7	0.8	0.8	0.8
30	0.3	0.3	0.3	0.4	0.5	0.5	0.5	0.5
40	0.3	0.3	0.3	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4
50	0.4	0.3	0.5	0.6	0.6	0.6	0.6	0.7
Uji F	tn	tn	tn	tn	tn	tn	tn	tn
KK (%)	16.02	13.92	11.18	10.59	8.31	8.65	8.27	6.43

b. Subkultur II

Dosis radiasi sinar gamma berpengaruh sangat nyata terhadap jumlah akar *Anthurium Wave of Love* setelah subkultur II (Tabel 8). Akar hanya terbentuk pada tanaman kontrol dan pada tanaman dengan dosis radiasi 10 Gy. Rata-rata jumlah akar *Anthurium Wave of Love* pada perlakuan dosis radiasi 10 Gy selalu lebih tinggi dibandingkan rata-rata jumlah akar kontrol dan perlakuan lainnya.

Tabel 8. Rata-rata Jumlah Akar *Anthurium Wave of Love* dari 6 Dosis Radiasi Sinar Gamma setelah Subkultur II

Dosis (Gy)	Minggu Setelah Radiasi							
	9	10	11	12	13	14	15	16
0	0.0b	0.0b	0.0b	0.0b	0.0b	0.3b	0.6ab	0.9ab
10	0.1a	0.1a	0.2a	0.4a	0.5a	0.8a	1.2a	1.3a
20	0.0b	0.0b	0.0b	0.0b	0.0b	0.0b	0.0b	0.0b
30	0.0b	0.0b	0.0b	0.0b	0.0b	0.0b	0.0b	0.0b
40	0.0b	0.0b	0.0b	0.0b	0.0b	0.0b	0.0b	0.0b
50	0.0b	0.0b	0.0b	0.0b	0.0b	0.0b	0.0b	0.0b
Uji F	**	**	**	**	**	**	**	**
KK (%)	1.78	1.88	1.34	8.45	9.12	14.23	23.44	18.20

Keterangan : Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata menurut uji lanjut DMRT 5%

Tunas pada dosis radiasi 20 Gy, 30 Gy, 40 Gy dan 50 Gy tidak mampu membentuk akar. Penghambatan pembentukan akar pada tunas yang diberi perlakuan radiasi dosis tinggi karena radiasi sinar gamma menyebabkan kerusakan fisiologis pada sebagian sel-sel meristem eksplan sehingga mengganggu sintesis auksin endogen untuk pembentukan akar. Gordon (1981) dalam Handayani (2004) menyatakan bahwa radiasi sinar gamma dapat menghambat transportasi auksin secara basipetal sehingga terjadi gangguan pada perakaran. Auksin diproduksi di bagian pucuk dan secara fisiologis berperan dalam pembentukan akar.

Jumlah Tunas Baru

a. Subkultur I

Tunas baru mulai terbentuk pada 4 MSR dan jumlah tunas terus bertambah sampai dengan 8 MSR. Dosis radiasi sinar gamma berpengaruh sangat nyata terhadap jumlah tunas baru *Anthurium Wave of Love* setelah subkultur I pada 4 MSR, 5 MSR, 6 MSR, 7 MSR, dan 8 MSR (Tabel 9).

Tabel 9. Rata-rata Jumlah Tunas Baru *Anthurium Wave of Love In Vitro* dari 6 Dosis Radiasi Sinar Gamma setelah Subkultur I

Dosis (Gy)	Minggu Setelah Radiasi				
	4	5	6	7	8
0	3.2a	3.9a	4.7a	5.9a	6.1a
10	1.7b	2.4b	3.0b	3.5b	4.5b
20	0.5c	0.7c	0.7c	0.8c	0.9c
30	0.4c	0.5c	0.6c	0.5cd	0.6c
40	0.4c	0.4c	0.4c	0.5cd	0.5c
50	0.2c	0.2c	0.2c	0.2d	0.2c
Uji F	**	**	**	**	**
KK (%)	14.81	14.33	14.12	8.73	10.21

Keterangan : Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata menurut uji lanjut DMRT 5%

Semakin tinggi dosis radiasi sinar gamma yang diaplikasikan, semakin menghambat pertumbuhan tunas baru *Anthurium Wave of Love* hasil mutasi. Terhambatnya pembentukan tunas diduga karena sel-sel meristematik mengalami kerusakan akibat energi radiasi sinar gamma yang tinggi dan langsung menembus jaringan. Hal ini mengakibatkan terhambatnya sintesis DNA dan protein dalam sel sehingga menghambat pembelahan sel.

b. Subkultur II

Dosis radiasi sinar gamma berpengaruh sangat nyata terhadap jumlah tunas baru *Anthurium wave of Love* setelah subkultur II. Tunas baru mulai terbentuk saat 2 minggu setelah subkultur II (10 MSR). Tunas hanya terbentuk pada tanaman kontrol dan pada perlakuan dosis radiasi 10 Gy. Perlakuan Dosis radiasi 20 Gy, 30 Gy dan 50 Gy tidak mampu membentuk tunas baru (Tabel 10).

Tabel 10. Rata-rata Jumlah Tunas Baru *Anthurium Wave of Love* dari 6 Dosis Radiasi Sinar Gamma setelah Subkultur II

Dosis (Gy)	Minggu Setelah Radiasi						
	10	11	12	13	14	15	16
0	0.2b	0.3b	0.5b	0.6b	0.9b	1.0b	1.5a
10	0.4a	0.9a	1.4a	1.7a	2.0a	2.4a	2.4a
20	0.0b	0.0b	0.0b	0.0b	0.0b	0.0b	0.0b
30	0.0b	0.0b	0.0b	0.0b	0.0b	0.0b	0.0b
40	0.0b	0.0b	0.0b	0.0b	0.0b	0.0b	0.0b
50	0.0b	0.0b	0.0b	0.0b	0.0b	0.0b	0.0b
Uji F	**	**	**	**	**	**	**
KK (%)	7.32	12.41	19.99	20.94	24.75	24.54	17.41

Keterangan : Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata menurut uji lanjut DMRT 5%

Tunas baru yang terbentuk pada dosis radiasi 10 Gy lebih banyak daripada tunas yang terbentuk pada kontrol. Radiasi sinar gamma pada dosis rendah mampu merangsang pertumbuhan tanaman, diduga karena hilangnya kemampuan sebagian sel pada meristem untuk membelah menyebabkan aktivitas sel meristem lain meningkat.

Tunas baru *Anthurium Wave of Love* tidak terbentuk pada perlakuan dosis radiasi 20 Gy – 50 Gy. Diduga kerusakan sel yang terjadi pada dosis 20 Gy – 50 Gy relatif parah sehingga tanaman tidak mampu melakukan perbaikan sel, akibatnya sebagian besar tunas pada dosis tersebut mengalami kematian setelah subkultur II.

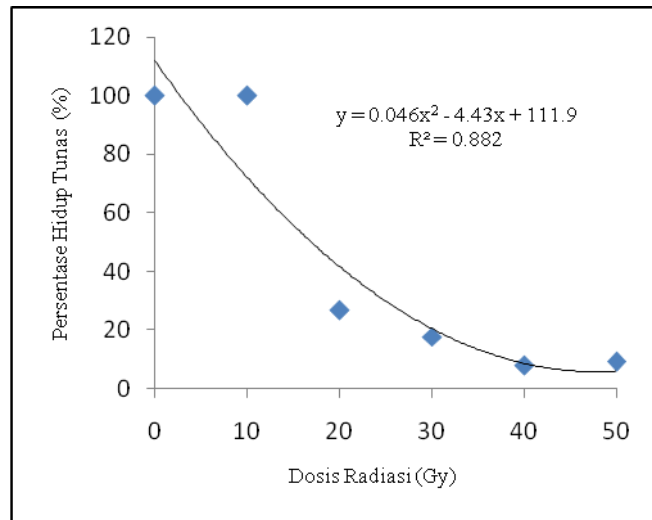
Lethal Dosage 50 (LD₅₀) Tunas *Anthurium Wave of Love* Hasil Radiasi Sinar Gamma

Semakin tinggi dosis radiasi sinar gamma yang diaplikasikan, persentase tunas yang hidup semakin berkurang (Tabel 11). Kematian tunas mulai terjadi pada 11 MSR.

Kematian tunas tidak terjadi pada dosis 10 Gy dan pada kontrol. Kematian tunas mulai terjadi pada dosis 20 Gy hingga 50 Gy. Pengaruh dosis radiasi sinar gamma terhadap persentase hidup tunas *Anthurium Wave of Love* mengikuti pola kuadratik dengan persamaan $y = 0.046x^2 - 4.43x + 111.9$, $R^2 = 0.882$ (Gambar 2), LD₅₀ *Anthurium Wave of Love* diperoleh pada dosis 16.98 Gy.

Tabel 11. Persentase Tunas *Anthurium Wave of Love In Vitro* yang Hidup pada 16 MSR dari 6 Dosis Radiasi Sinar Gamma

Dosis Radiasi (Gy)	Persentase Tunas yang Hidup (%)
0	100.00
10	100.00
20	26.75
30	17.80
40	7.87
50	9.09



Gambar 8. Kurva Respon Radiasi Sinar Gamma terhadap Persentase Hidup Tunas *Anthurium Wave of Love* pada 16 MSR

Kematian tunas *Anthurium Wave of Love in vitro* terjadi pada subkultur II. Pada subkultur I belum ada tunas yang mengalami kematian. Kematian tunas mulai terjadi pada 11 MSR dan meningkat hingga 16 MSR.

Keragaman Fenotipe *Anthurium Wave of Love In Vitro* Hasil Radiasi Sinar Gamma

Perubahan fenotipe umumnya terjadi pada organ atau tunas yang baru terbentuk. Perubahan fenotipe yang dihasilkan dari radiasi sinar gamma tidak terlihat pada organ yang sudah berkembang sempurna. Pada subkultur I belum banyak perubahan fenotipe yang terjadi. Hingga 8 MSR perubahan yang bisa diamati adalah penghambatan pertumbuhan tinggi, jumlah daun, jumlah tunas baru, dan kematian jaringan.

Setelah subkultur II, banyak keragaman fenotipe daun *Anthurium Wave of Love in vitro* yang muncul. Variasi daun mulai terbentuk saat 12 MSR. Keragaman terbentuk pada dosis radiasi 10 Gy. Pada dosis radiasi 20 Gy, 30 Gy, 40 Gy dan 50 Gy banyak tunas yang mengalami kematian.

Keragaman yang muncul pada umumnya hanya terjadi pada sebagian organ tanaman, yang dikenal dengan istilah kimera. Harten (1998) menyatakan kimera adalah suatu tanaman yang memiliki dua atau lebih komponen genetik yang berbeda pada jaringan somatiknya. Pada kultur *in vitro*, kimera bisa dikendalikan untuk menyeleksi sifat yang dikehendaki dengan cara subkultur berulang.

Variasi yang terbentuk pada daun meliputi perubahan warna, bentuk dan ukuran daun. Diperoleh daun yang berubah warna dari hijau menjadi kekuningan sampai kuning. Perubahan bentuk daun meliputi daun yang keriting tidak beraturan, daun berbentuk bulat, daun yang lebih sempit dan menyerupai jarum, daun yang terbelah pada bagian ujungnya dan menyerupai bentuk pita, dan daun yang berbentuk abnormal.

Variasi juga terbentuk pada ukuran daun. Pada dosis radiasi 10 Gy diperoleh daun yang berukuran lebih besar daripada daun tanaman kontrol. Diperoleh juga daun yang membesar dan terdapat semburat kuning tipis pada daun.

Perubahan akibat radiasi sinar gamma juga terlihat pada ruas tunas *Anthurium Wave of Love*. Diperoleh ruas tunas yang

lebih pendek dibandingkan kontrol. Perubahan juga terjadi pada tangkai daun. Pada dosis radiasi 10 Gy diperoleh tangkai daun berbentuk pipih.

Keragaman yang terbentuk setelah subkultur II kemungkinan belum stabil. Diperlukan subkultur untuk meningkatkan ekspresi gen mutan dan memisahkan kimera yang terbentuk. Semakin sering subkultur, keragaman yang diharapkan semakin banyak.

Diperoleh 32 individu mutan yang terbentuk setelah subkultur II. Semua mutan diperoleh dari dosis 10 Gy. Jumlah tunas *Anthurium Wave of Love* yang diamati pada dosis radiasi 10 Gy hingga 16 MSR berjumlah 70 tunas. Persentase mutan yang terbentuk adalah 45.7%. Frekuensi mutan untuk masing-masing karakter fenotipe disajikan pada Tabel 12. Mutan-mutan tersebut potensial untuk diteliti lebih lanjut.

Tabel 12. Frekuensi Mutan untuk Masing-masing Karakter yang Terbentuk dari Dosis Radiasi 10 Gy pada 16 MSR

Fenotipe Mutan	Frekuensi
Daun berbentuk lonjong	2
Daun menyempit	3
Daun yang lebih lebar	2
Daun yang terbelah seperti pita	2
Daun yang berubah warna	6
Daun yang menebal	4
Daun keriting	4
Daun tidak beraturan	5
Ruas menjadi lebih pendek	2
Tangkai daun pipih	2

Pengaruh Radiasi Sinar Gamma terhadap Stomata *Anthurium Wave of Love In Vitro*

Pengamatan stomata dilakukan saat 16 MSR Stomata diamati dengan menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400 kali. Luas bidang pandang mikroskop pada perbesaran 40 x 10 adalah 0.28 mm². Penghitungan jumlah stomata dilakukan pada satu bidang pandang di dalam satu preparat. Rata-rata jumlah stomata setiap perlakuan merupakan hasil rata-rata jumlah stomata/bidang pandang dari 9 daun, kemudian hasilnya dikonversi menjadi jumlah stomata/mm². Ukuran stomata diukur berdasarkan panjang stomata. Setiap preparat daun *Anthurium Wave of Love*, diukur tiga stomata. Rata-rata ukuran stomata yang disajikan pada Tabel 13 merupakan hasil rata-rata dari 27 stomata yang dipilih secara acak.

Dosis radiasi sinar gamma berpengaruh nyata terhadap jumlah stomata tanaman *Anthurium Wave of Love* hasil mutasi (Tabel 13). Ada kecenderungan bahwa kerapatan stomata tunas *Anthurium Wave of Love* yang diradiasi lebih rendah dibanding kerapatan stomata tunas kontrol. Namun tidak ada pola kecenderungan hubungan antara kerapatan stomata dengan peningkatan dosis radiasi sinar gamma yang diaplikasikan.

Tabel 13. Rata-rata Jumlah dan Ukuran Stomata *Anthurium Wave of Love* dari 6 Dosis Radiasi Sinar Gamma pada 16 MSR

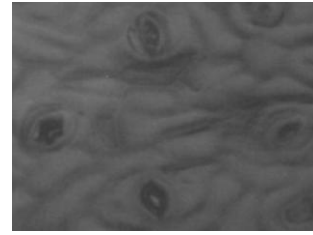
Dosis (Gy)	Jumlah stomata / mm ²	Ukuran stomata (µm)
0	52.9a	13.00
10	50.0a	12.37
20	42.8ab	13.77
30	13.0c	11.70
40	21.5bc	13.37
50	34.7abc	14.33
Uji F	*	tn
KK (%)	35.0	17.14

Keterangan : Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata menurut uji lanjut DMRT 5%

Dosis radiasi sinar gamma tidak berpengaruh nyata terhadap ukuran stomata *Anthurium Wave of Love* hasil mutasi (Tabel 13).

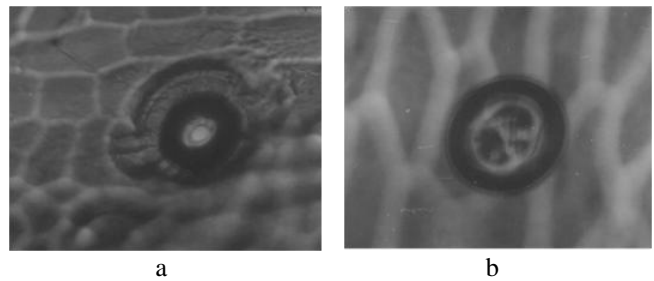
Dosis radiasi sinar gamma dapat mempengaruhi bentuk stomata. Perubahan bentuk stomata bersifat individual, artinya dosis radiasi yang sama belum tentu sama pengaruhnya pada

tunas. Hal ini disebabkan pengaruh radiasi bersifat acak (random). Hal yang sama juga dilaporkan oleh Qosim *et al.* (2007), pada planlet manggis yang diradiasi sinar gamma, pengaruh radiasi bersifat unik terhadap stomata mutan yang terbentuk.



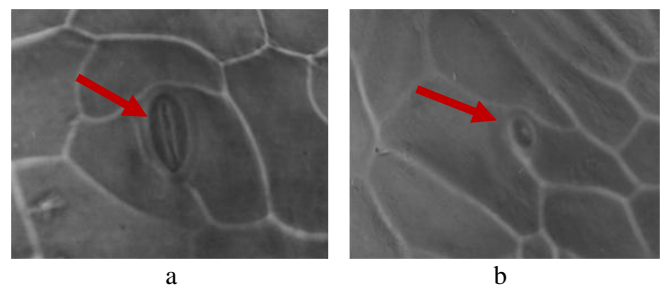
Gambar 3. Stomata pada Daun Tunas Kontrol

Bentuk stomata normal disajikan pada Gambar 3. Penyimpangan bentuk stomata pada dosis radiasi 10 Gy dan 20 Gy disajikan pada Gambar 4. Pada dosis 10 Gy dan 20 Gy ditemukan stomata yang berbentuk bulat dengan ukuran yang relatif lebih besar.



Gambar 4. Stomata yang Berbentuk Bulat. (a) Stomata pada Dosis Radiasi 10 Gy (b) Stomata pada Dosis Radiasi 20 Gy

Pada dosis 30 Gy dan 40 Gy terdapat perubahan jumlah sel tetangga. Jumlah sel tetangga yang mengelilingi stomata hanya 3 sel (Gambar 5). Menurut Fahn (1982) stomata famili Araceae dikelilingi oleh 4 sampai 6 sel tetangga.



Gambar 5 : Stomata yang Dikelilingi 3 Sel Tetangga (a) Pada Dosis Radiasi 30 Gy, (b) Pada Dosis Radiasi 40 Gy

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Dosis radiasi sinar gamma berpengaruh nyata terhadap tinggi tunas, jumlah daun, jumlah akar, jumlah tunas baru, dan kerapatan stomata *Anthurium Wave of Love in vitro*. Dosis radiasi sinar gamma 10 Gy merangsang pertambahan tinggi tunas, jumlah daun, jumlah akar, dan jumlah tunas baru *Anthurium Wave of Love in vitro*. Dosis radiasi 20 Gy-50 Gy menghambat pertambahan tinggi tunas, jumlah daun, jumlah akar dan jumlah tunas baru *Anthurium Wave of Love in vitro*. LD₅₀ tunas *Anthurium Wave of Love in vitro* adalah 16.98 Gy.

Keragaman fenotipe terbentuk setelah subkultur II. Keragaman fenotipe yang paling tinggi terbentuk pada dosis radiasi 10 Gy. Dosis radiasi 10 Gy menghasilkan mutan daun variegata, daun keriting, daun menyempit, daun yang lebih lebar, daun berbentuk bulat, daun berbentuk lonjong, daun yang menebal, daun dengan semburat kuning, daun terbelah dan daun abnormal. Mutan-mutan tersebut potensial untuk diteliti lebih lanjut.

Saran

Subkultur perlu dilakukan untuk memisahkan kimera yang terbentuk dan untuk menguji kestabilan mutan. Penelitian lanjutan juga perlu dilakukan untuk evaluasi fenotipe mutan *Anthurium Wave of Love* di lapangan.

DAFTAR PUSTAKA

- Batan.1972. Pemuliaan Mutasi. Badan Tenaga Atom Nasional. Bandung. 180 hal.
- Briggs, G. B. 1987. Indoor Plants. John Wiley and Sons, Inc. USA. 198 p.
- Cassells, A. C. 2002. Tissue culture for ornamental breeding, p. 139-153. *In* A. Vainstein. (Ed). Breeding for Ornamentals, Classical and Molecular Approches. Kluwer Academic Pub. Netherland.
- Fahn, A. 1982. Anatomi Tumbuhan. Terjemahan dari : *Plant Anatomy, 3rd edition*. Penerjemah : Tjimosoma, S. S. Gajah Mada University Press. Yogyakarta. 478 hal.
- Gordon, S.A. 1981.The biogenesis of auxin. Encyc Plant Physiol (14) : 620-646. *Dalam* Handayani, N. 2004. Studi Perlakuan Radiasi Sinar Gamma pada Panili (*Vanilla planifolia* Andrews) secara *in vitro*. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 45 hal.
- Grosch, D. S and L. E. Hopwood. 1979. Biological Effect of Radiation. 2nd ed. Academic Press. New York. 338p. *Dalam* Mayasari, I. G. A. D. P. 2007. Pengaruh Radiasi Sinar Gamma terhadap Keragaman Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata*). Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 33 hal.
- Harten, V. A. M. 1998. Mutation Breeding, Theory and Practical Applications. Cambridge University Press. Cambridge. 353 hal.
- Ichikawa, S and Y. Ikhusima. 1967. A development study of diploid oats by means of radiations induced somatic mutation. Rad. Botany 7 : 205-215.
- Redaksi Agromedia. 2008. Ensiklopedia Tanaman Hias. Astuti dan Agung (Editor) Agromedia Pustaka. Jakarta. 228 hal.
- Qosim, W. A., R. Purwanto, G. A. Wattimena, Witjaksono. 2007. Perubahan anatomi pada daun regeneran manggis akibat radiasi sinar gamma *in vitro*. Zuriat (18) 1: 20-30.
- Welsh, J. R. 1991. Dasar-dasar Genetika untuk Pemuliaan Tanaman. Terjemahan dari : *The Principil Genetics and Plant Breeding*. Penerjemah : Johanis P. M. Penerbit Erlangga. Jakarta. 224 hal