



LAPORAN AKHIR PROGRAM KREATIVITAS MAHASISWA

**POTENSI KERAGAMAN GENETIK MUTAN TORBANGUN (*Coleus
ambonivius*) HASIL INDUKSI MUTASI IRADIASI SINAR GAMMA
COBALT⁶⁰ SECARA IN VITRO**

**BIDANG KEGIATAN :
PKM PENELITIAN**

Diusulkan oleh :

Yesy Mardianawati	A24090166	Angkatan 2009
Arif Riza Wijaya	A24090023	Angkatan 2009
Muhammad Baidowi	A24090047	Angkatan 2009
Bimo Hariokusumo	A24110109	Angkatan 2011


**INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2012**

HALAMAN PENGESAHAN


1. Judul Kegiatan : Potensi Keragaman Genetik Mutan Torbangun (*Coleus ambonivius*) Hasil Induksi Mutasi Iradiasi Sinar Gamma Cobalt⁶⁰ Secara In vitro.
2. Bidang kegiatan : () PKM-P () PKM-K () PKM-KC
() PKM-T () PKM-M
3. Ketua Pelaksana Kegiatan
 - a. Nama Lengkap : Yesy Mardianawaati
 - b. NIM : A24090166
 - c. Jurusan : Agronomi dan Hortikultura
 - d. Universitas/Institut/politeknik : Institut Pertanian Bogor
 - e. Alamat Rumah dan No.Telp/HP: Wisma Flek House no. 102 Babakan Raya 4/ 085211695879
 - f. Alamat email : yesy.mardianawati@gmail.com
4. Anggota pelaksana kegiatan : 4 Orang
5. Dosen pendamping
 - a. Nama lengkap dan gelar : Dr.Ir. Diny dinarti, M.Si
 - b. NIDN : 0008046610
 - c. Alamat rumah dan No.Telp/HP : Jl. Meranti Kampus IPB Darmaga/081316585429
6. Biaya kegiatan total
 - a. DIKTI : Rp11.804.500,-
 - b. Sumber lain : -
7. Jangka waktu pelaksanaan : 4 bulan

Bogor, 16 Agustus 2012


Menyetujui,
Ketua Departemen Agronomi dan
Hortikultura
Institut Pertanian Bogor


Dr. Ir. Agus Purwito, MSc. Agr
NIP. 19611101 198703 1 003


Wakil Rektor Bidang Akademik dan
Kemahasiswaan
Institut Pertanian Bogor


Prof. Dr. Ir. Yonny Koesmaryono, MS
NIP. 19581228 198503 1 003

Ketua Pelaksana Kegiatan


Yesy Mardianawati
NIM. A4090166

Dosen Pendamping


Dr. Ir. Diny Dinarti, M.Si
NIDN. 0008046610

ABSTRAK

Torbangun merupakan tanaman obat yang dapat meningkatkan volume air susu Ibu. Salah satu usaha untuk meningkat keragaman tanaman torbangun dapat dilakukan dengan pemuliaan tanaman yaitu dengan melakukan iradiasi mutasi secara fisik menggunakan sinar gamma Cobalt⁶⁰ secara *in vitro*. penelitian ini bertujuan untuk mempelajari potensi keragaman genetik untuk mendapatkan sifat zat gizi yang terbaik dari mutan torbangun (*Coleus ambonicus* Lour) yang dihasilkan melalui induksi mutasi iradiasi sinar gamma cobalt⁶⁰. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan 3 Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor. Penelitian ini dilaksanakan mulai bulan Febuari sampai Agustus 2013. Penelitian ini menggunakan rancangan kelompok lengkap teracak (RKLT) untuk *in vivo* dan rancangan acak kelompok (RAK) untuk *in vitro* satu faktor perlakuan dengan tiga ulangan. Bahan tanam yang digunakan adalah stek dan ekplan tanaman torbangun yang telah disterilisasi terlebih dahulu sebelum dimutasi menggunakan taraf 0,5,10,15, dan 20 gray untuk *in vitro* dan taraf 0,50, 100, 150, dan 200 gray untuk *in vivo*. Taraf iradiasi 5 gray merupakan taraf iradiasi mutasi yang paling baik digunakan untuk meningkatkan pertumbuhan jumlah daun dan jumlah ruas batang. Diduga LD₅₀ iradiasi ekplan torbangun secara *in vivo* dan *in vitro* > 20 gray dan masih < 50 gray.

Kata kunci : *in vitro*, mutasi, sinar gamma, torbangun.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah *subhanahu wa ta'ala* yang telah memberikan nikmat dan karunia-Nya sehingga penulisan laporan akhir PKMP ini dapat berhasil diselesaikan dengan baik. Laporan PKMP Torbangun ini yang berjudul “Potensi Keragaman Genetik Mutan Torbangun (*Coleus ambonivius*) Hasil Induksi Mutasi Iradiasi Sinar Gamma Cobalt⁶⁰ Secara In vitro.)” ini merupakan laporan akhir dari kegiatan keaktivitas mahasiswa dalam melakukan penelitian yang mendukung kemajuan tanaman obat Indonesia. Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada pembimbing kami, Dr. Ir. Diny Dinarti, M.Si yang telah membimbing dan mengarahkan kami dalam menyelesaikan penelitian PKM ini.

Semoga tulisan skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak yang membutuhkan khususnya rekan-rekan di departemen Agronomi dan Hortikultura sebagai referensi untuk penelitian selanjutnya.

Bogor, 20 Agustus 2013

penulis

PENDAHULUAN

Latar Belakang Masalah

Masalah gizi yang paling umum dijumpai di seluruh dunia adalah anemia (defisiensi zat besi) yang dialami oleh wanita usia subur, ibu hamil, bayi dan anak-anak. Sekitar 60% wanita di seluruh dunia mengalami anemia. Ibu yang menderita anemia akan melahirkan bayi prematur, BBLR, dan rendahnya cadangan besi dalam tubuh Ibu dan anak yang sakit. Meskipun ASI hanya mengandung sejumlah kecil (0.5–1 mg/l) besi, namun bayi yang mendapat ASI akan terhindar dari defisiensi besi karena penyerapan zat besi yang ada dalam ASI paling tinggi dibandingkan zat besi dalam makanan lain. Oleh sebab itu, dewasa ini asupan pangan yang dapat meningkatkan zat besi dianjurkan untuk dikonsumsi demi menghindari defisiensi zat besi.

Ketersediaan tanaman obat yang fungsional untuk meningkatkan zat besi Ibu menyusui masih langka di Indonesia. Torbangun (*Coleus amboinicus*) merupakan tanaman yang baru-baru ini dimanfaatkan untuk tujuan kesehatan khususnya untuk suplemen Ibu menyusui oleh masyarakat Batak di Sumatra Utara. Masyarakat Batak memiliki kepercayaan dan tradisi bahwa dengan mengonsumsi tanaman torbangun mampu meningkatkan volume air susu (Damanik *et al.*, 2001). Namun, tanaman ini belum dibudidayakan secara optimal. Selain itu, pengetahuan mengenai potensi genetik tanaman ini masih belum diketahui. Dengan demikian, penelitian mengenai perbaikan sifat genetik dan agronomik tanaman ini perlu dilakukan.

Pemuliaan dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu konvensional dan modern. Kelebihan sistem pemuliaan modern diantaranya untuk menutupi kekurangan sistem konvensional yang tidak efisien. Pemuliaan potensi keragaman genetik mutan torbangun (*Coleus amboinicus* Lour) yang dihasilkan dengan mutasi radiasi dan variasi somaklonal diharapkan mampu menghasilkan torbangun yang lebih baik secara fisiologis dan biokimia.

Perumusan Masalah

Tanaman torbangun (*Coleus amboinicus* Lour) merupakan salah satu tanaman obat Indonesia yang memiliki banyak manfaat, diantaranya adalah menambah volume ASI, meredakan PMS, menyembuhkan influenza, dan masih banyak lagi. Sangat disayangkan, potensi genetik tanaman (*Coleus amboinicus* Lour) masih belum dikembangkan, sehingga masyarakat belum mampu memanfaatkan torbangun secara lebih luas.

Pemanfaatan genetik torbangun diharapkan dapat menjadi solusi masih langkanya tanaman herbal di Indonesia yang fungsional untuk ibu menyusui. Potensi tanaman torbangun yang memiliki kandungan gizi yang tinggi akan menjadi solusi permasalahan gizi rendah Ibu menyusui di Indonesia. Selain itu, kandungan-kandungan nutrisi penting lainnya yang terkandung dalam tanaman ini sangat berguna untuk masyarakat.

Mengingat rendahnya keanekaragaman genetik tanaman torbangun maka upaya memanfaatkan teknologi mutasi secara *in vitro* diharapkan mampu menambah keragaman genetik tanaman torbangun agar diperoleh tanaman torbangun yang memiliki kandungan gizi yang terbaik. Kondisi tanaman herbal di

Indonesia yang saat ini terus dikembangkan menuntut ketersediaan produk dengan kualitas dan kuantitas yang optimal. Salah satunya tanaman herbal torbangun (*Coleus ambonicus*). Melalui pemanfaatan teknik kultur jaringan ketersediaan bahan baku tanaman herbal baik dari kualitas dan kuantitas dapat terpenuhi secara optimal.

Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah mempelajari potensi keragaman genetik untuk mendapatkan sifat zat gizi yang terbaik dari mutan torbangun (*Coleus ambonicus* Lour) yang dihasilkan melalui induksi mutasi iradiasi sinar gamma cobalt ⁶⁰.

Luaran yang Diharapkan

Luaran yang diharapkan dari adanya penelitian ini adalah didapatkannya informasi untuk masyarakat terkait gagasan meningkatkan kandungan zat besi tanaman torbangun (*Coleus ambonicus* Lour) melalui teknik mutasi. Penelitian ini juga sekaligus memperkenalkan potensi tanaman torbangun (*Coleus ambonicus* Lour) dapat dijadikan tanaman herbal yang secara aktual masih belum banyak dimanfaatkan oleh masyarakat.

Kegunaan

1. Penelitian ini bermanfaat untuk menemukan dosis mutasi iradiasi sinar gamma cobalt ⁶⁰ torbangun (*Coleus amboinicus* Lour) yang tepat untuk menghasilkan torbangun yang memiliki potensi zat gizi mikro yang lebih unggul.
2. Penelitian ini meningkatkan kompetensi mahasiswa dalam bidang penelitian-penelitian pertanian.

TINJAUAN PUSTAKA

Kandungan dan Manfaat Daun Torbangun

Daun torbangun berpotensi sebagai bahan pangan sumber zat besi, provitamin A (karoten), dan kalsium. Dalam 100 gram bahan daun Torbangun mengandung kalsium sebesar 279 mg, besi sebesar 13.6 mg, dan karoten total sebesar 13288 mkg (Mahmud *et al.*, 1995). Komposisi zat gizi daun torbangun selengkapnya disajikan pada tabel 1.

Dari hasil penelitian diketahui bahwa tanaman torbangun di Batak Simalungun dan Toba digunakan sebagai bahan pangan untuk pemulihan tenaga dan untuk memperbanyak air susu Ibu (ASI), sebagai obat tradisional untuk menyembuhkan berbagai jenis penyakit seperti sariawan demam, sakit kepala, influenza, dan rheumatik (Damanik *et al.*, 2001; Damanik *et al.*, 2006). Hasil penelitian Damanik (2005) menyebutkan bahwa konsumsi daun torbangun pada Ibu menyusui dapat meningkatkan total volume ASI dan kandungan beberapa mineral dalam ASI seperti besi, kalium, seng, dan magnesium secara signifikan

jika dibandingkan dengan kelompok kontrol yang mengonsumsi tablet Fenugreek maupun kapsul Molocco+B12.

Tabel 1 . Komposisi zat gizi daun torbangun

Zat Gizi	Komposisi Torbangun
Energi (kal)	27.0
Protein (g)	1.3
Lemak (g)	0.6
Karbohidrat (g)	4.0
Serat (g)	1.0
Abu (g)	1.6
Kalsium (mg)	279.0
Fosfor (mg)	40.0
Besi (mg)	13.6
Karotin total (mkg)	13288.0
Vitamin A	0.0
Vitamin B1	0.16
Vitamin C	5.1
Air	92.5
BDD	66.0

Sumber: Mahmud, *et al.* (1995)

Kandungan Zat Gizi

a. Kalsium (Ca)

Tubuh kita mengandung kalsium lebih banyak daripada mineral lain. Diperkirakan 2% berat badan orang dewasa atau sekitar 1.0 – 1.4 kg terdiri dari kalsium. Kalsium berperan dalam pembentukan tulang. Cadangan kalsium disimpan pada bagian ujung tulang panjang dalam bentuk kristal yang dinamakan trabekula dan dimobilisasi untuk memenuhi kebutuhan yang meningkat pada masa pertumbuhan, kehamilan, dan menyusui. Kekurangan konsumsi kalsium untuk jangka panjang menyebabkan struktur tulang tidak sempurna. Sintesis tulang dominan pada anak-anak, ibu hamil dan menyusui, dan orang dewasa dengan keadaan 600-700 mg kalsium dipertukarkan setiap hari (Almatsier, 2001).

b. Besi (Fe)

Menurut *British Nutrition Foundation* (1995), berdasarkan kandungan besinya makanan dibagi menjadi tiga kelompok yaitu makanan dengan kandungan besi rendah yaitu kurang dari 0.7 mg (besi/1000 kal), makanan dengan kandungan besi sedang yaitu antara 0.7-0.19 mg (besi/2000 kal), dan makanan dengan kandungan besi tinggi yaitu lebih dari 2.0 mg (besi/1000 kal)(Almatsier, 2001). Besi berperan dalam metabolisme energi yang menghasilkan ATP. Sebagian besar besi berada di dalam hemoglobin, yaitu molekul protein mengandung besi dari sel darah merah dan mioglobin dalam otot. Hemoglobin di dalam darah membawa oksigen dari paru-paru ke seluruh jaringan tubuh dan membawa kembali karbondioksida dari seluruh sel ke paru-paru untuk dikeluarkan dari tubuh. Mioglobin berperan sebagai reservoir oksigen, menerima, menyimpan dan melepas oksigen di dalam sel-sel otot (Almatsier, 2001).

Induksi Mutasi Pada Tanaman Torbangun

Pada dasarnya tujuan dari pemuliaan tanaman adalah menghasilkan keragaman karakter unggul yang diharapkan. Alternatif dalam program pemuliaan tanaman torbangun adalah dengan induksi mutasi dan variasi somaklonal (Brock, 1977). Mutasi adalah proses perubahan mendadak pada materi genetik dari suatu sel yang mencakup perubahan tingkat gen, molekuler atau kromosom (Poehlman & Sleper, 1995). Menurut Brock (1977) mutan yang diperoleh secara alami (mutasi spontan) sangat langka, sekitar 10×10^{-6} sampai 1×10^{-7} perubahan gen dalam suatu populasi. Sehingga usaha untuk menginduksi mutagenesis sangat diperlukan. Induksi mutasi telah banyak digunakan untuk memperbaiki sifat genetik dan menciptakan keragaman baru pada berbagai jenis tanaman (Warid Ali Qosim, 2006). Baik dari jenis tanaman pangan, hortikultura (Valeria *et al*, 1997), perkebunan, dan kehutanan (Warid Ali Qosim, 2007). Kombinasi induksi mutasi dengan kultur in vitro akan diperoleh mutan somatik lebih cepat (Roux, 2004).

Keuntungan induksi mutasi torbangun pada kultur in vitro dapat mengurangi pembentukan kimera, selanjutnya dengan melakukan multiplikasi akan diperoleh mutan utuh dengan cepat (Predieri *et al*, 1997), dan mempercepat program pemuliaan tanaman mulai dari pembentukan keragaman genetik, proses seleksi dan multiplikasi genotip yang diharapkan (Muluszynski *et al*, 1995). Metode induksi mutasi pada kultur in vitro mempunyai keuntungan yaitu : (1) bahan tanaman dapat diperbanyak dengan cepat sebelum mendapat perlakuan untuk mendapatkan ukuran populasi yang besar, (2) melalui teknik perbanyakan akan diperoleh kimera periklinal atau individu homohiston, (3) mutan akan mudah didapatkan dengan modifikasi kondisi kultur dengan memodifikasi kondisi kultur dengan menurunkan kompetisi somatik (Roux, 2004).

METODE PENDEKATAN

1. Bahan dan Alat

Bahan yang akan digunakan pada penelitian ini meliputi bahan media tanam, bahan tanaman dan bahan sterilisasi. Bahan yang digunakan sebagai media tanam adalah larutan media tanam MS (Murashige-Skoog), NAA dan BAP untuk menginduksi pembentukan tunas. Bahan tanaman yang dipakai adalah tanaman torbangun. Bahan sterilisasi yang digunakan adalah Sodium Hipoklorit (NaClO_3) 5% dan alkohol. Bahan lain yang digunakan adalah aquades, spirtus, alkohol 70%, tissue dan plastik wrap. Alat yang dipakai untuk penelitian ini adalah alat iradiasi Gamma Chamber 4000A, botol kultur, alat-alat kultur, spektrofotometer, autoclave dan Laminar Air Flow Cabinet

2. Rancangan Percobaan

Desain perlakuan dan ulangan menggunakan rancangan acak lengkap. Perlakuan dosis iradiasi yang digunakan terdiri dari lima taraf yaitu $R_0=0$ Gray, $R_1=50$ Gray, $R_2=100$ Gray, $R_3=150$ Gray, $R_4=200$ Gray. Iradiasi sinar gamma yang digunakan berasal dari Cobalt ⁶⁰.

Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 5 ulangan yang terdiri dari 5 tanaman torbangun. Setiap ulangan sebagai eksplan yang diamati sehingga terdapat 600 satuan amatan.

mencegah menempelnya sumber kontaminan pada alat kultur. Sterilisasi Laminar Air Flow Cabinet dilakukan dengan menggunakan sinar UV selama 1 jam sebelum digunakan atau dengan membersihkannya dengan menggunakan alkohol 70%.

a. Persiapan Media Tanam.

Media tanam yang dipakai untuk kultur *in vitro* setelah benih diiradiasi adalah jenis Murashige-Skoog (MS0) dengan zat pengatur tumbuh NAA 0,1 mg/l dan BAP 1 mg/l. Tahapan pembuatan media dimulai dengan memipet larutan stok sesuai dengan konsentrasi yang dibutuhkan untuk membuat 1 liter media. Selanjutnya media ditambahkan gula, zat pengatur tumbuh. Setelah itu media ditambahkan aquades hingga mencapai 1 liter. Larutan media yang telah bervolume 1 liter diukur pHnya dengan pH meter. Media tanpa penambahan PEG, pH media adalah sebesar 5,9. Sedangkan media seleksi dengan PEG, pH media adalah sebesar 6,2. Untuk mengatur pH media digunakan HCl 1 N dan KOH 1 N. Media yang telah diukur pHnya ditambahkan agar-agar dan dimasak hingga mendidih. Setelah itu media dimasukkan ke dalam botol kultur bervolume 200 ml yang telah disterilisasi sebanyak 20 ml serta ditutup dengan plastik bening tahan panas dan karet. Media yang telah ditutup disterilisasi dengan menggunakan *autoclave* selama 20 menit lalu disimpan pada rak penyimpanan media.

b. Iradiasi Bahan Tanam.

Benih yang digunakan sebagai bahan eksplan diiradiasi terlebih dahulu sesuai dengan dosis yang telah ditentukan. Iradiasi akan dilakukan paddy Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi Badan Tenaga Atom dan Nuklir (PATIR-BATAN), Jakarta Selatan. Benih diiradiasi menggunakan *gamma chamber* dengan sumber iradiasi berasal dari Cobalt ⁶⁰. Masing-masing dosis iradiasi dilakukan pada 300 butir benih yang telah dimasukkan ke dalam botol kultur bervolume 200 ml.

c. Sterilisasi Bahan Tanam.

Benih yang telah diiradiasi, dikupas dahulu untuk menghilangkan sekam yang ada. Pengupasan dilakukan untuk memaksimalkan kerja bahan sterilan yang digunakan. Benih selanjutnya dicuci dengan menggunakan detergen dan dibilas dengan air bersih. Selanjutnya benih direndam dengan alkohol 70% selama 10 menit sambil dikocok. Setelah 10 menit, benih dibilas dengan aquadestilata steril dan direndam kembali sebentar ke dalam alkohol 70%. Setelah itu, benih direndam dalam larutan sodium hipoklorit 50 % selama 30 menit dan kemudian direndam kembali dalam larutan sodium hipoklorit 10% selama 15 menit. Benih yang telah disterilisasi langsung ditanam pada masing-masing media perlakuan yang telah disiapkan.

d. Analisis Spektrofotometer

Setiap planlet yang sudah dipindahkan akan dianalisis kandungan zat gizi mikro dengan menggunakan alat Spektrofotometer Serapan Atom (SSA). Alat ini dapat menganalisis dengan baik kandungan mineral esensial mikro pada tanaman dengan penyinaran. Hasil dari analisis ini dapat dijadikan sebagai pembuktian dosis iradiasi cobalt ⁶⁰ yang paling optimal untuk menghasilkan torbangun yang memiliki kandungan zat besi yang lebih baik dan karakter agronomi yang lebih baik.

3. Parameter yang Diamati

Analisis mineral dilakukan untuk mengetahui komposisi mineral makro (kalsium) dan mineral mikro (seng dan besi) yang terdapat pada daun torbangun pada perlakuan yang berbeda.

- Pengujian mineral (Ca, Zn, Fe) (Fardiaz *et al*, 1990)

Sampel diabukan dengan metode pengabuan basah. Pada proses pengabuan basah, sampel ditimbang sebanyak 1 g, dimasukkan ke dalam erlenmeyer 150 ml, lalu ditambahkan 5 ml HNO₃ ke dalam labu erlenmeyer, dan dibiarkan selama 1 jam. Kemudian dipanaskan di atas *hotplate* selama ± 4 jam dan didinginkan. Selanjutnya ditambahkan 0.4 ml H₂SO₄ pekat dan dipanaskan kembali. Setelah terjadi perubahan warna dari coklat menjadi kuning, sampel tersebut ditambahkan campuran HClO₄ dan HNO₃ sebanyak 3 ml, dan dipanaskan kembali selama ± 15 menit, lalu ditambahkan 2 ml akuades dan 0.6 HCl pekat kemudian dipanaskan kembali sampai larut dan didinginkan. Larutan stok standar dari masing-masing mineral diencerkan dengan akuades sampai konsentrasinya berada pada kisaran kerja logam yang diinginkan. Larutan standar dapat dibuat dengan menggunakan bahan kimia yang tercantum pada dibawah ini.

Tabel 2 Pembuatan larutan standar logam 1000 ppm

Jenis Mineral	Bahan Kimia	Bobot (g) per 500 ml Larutan
Kalsium (Ca)	CaCO ₃ (kering)	1.348
Besi (Fe)	Fe ₂ (SO ₄) ₃ (NH ₄) ₃ SO ₄ .H ₂ O	4.316
Seng (Zn)	ZnSO ₄ .7H ₂ O	3.200

Larutan standar blanko dan sampel dialirkan ke dalam AAS. Kemudian diukur absorbansi atau tinggi puncak dari larutan standar, blanko, dan sampel pada panjang gelombang dan parameter yang sesuai untuk masing-masing mineral dengan spektrofotometer. Kadar mineral di dalam bahan dihitung dengan rumus :

$$\text{Kadar mineral (mg/100 g)} = \frac{(a - b) \times V \times fp \times 100}{10 w}$$

$$\text{Kadar mineral (mg/100g basis kering (bk))} = \frac{(\text{kadar mineral basi basah})}{100\% - \text{kadar air}} \times 100\%$$

Keterangan : a = konsentrasi larutan sampel (ppm) v = volume ekstrak
 b = konsentrasi larutan blanko (ppm) fp=faktor pengenceran
 w = berat sampel

PELAKSANAAN PROGRAM

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Febuari hingga bulan Juni 2013 di Laboratorium Kultur Jaringan 3, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor.

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan pada penelitian *in vivo* adalah stek tanaman torbangun dengan alat yang diperlukan polibag, tanah, dan pupuk organik, sedangkan untuk penelitian *in vitro* bahan yang digunakan meliputi bahan media tanam, bahan tanaman, dan bahan sterilisasi. Bahan yang digunakan sebagai media tanam adalah larutan media tanam MS0 (Murashige-Skoog), dan MS11 yaitu MS0 ditambah NAA, BAP, dan Kasein untuk menginduksi pembentukan tunas. Bahan tanaman yang dipakai adalah tanaman torbangun. Bahan sterilisasi yang digunakan adalah Sodium Hipoklorit (NaClO_3) 10 % dan 5%, air aquades steril, tissue steril, dan media tanam steril. Bahan lain yang digunakan adalah aquades, spirtus, alkohol 70% dan 96%, tissue serta plastik wrap. Alat yang dipakai untuk penelitian ini adalah alat iradiasi Gamma Chamber 4000A, botol kultur, alat-alat kultur, *spektrofotometer*, *autoclave* dan *Laminar Air Flow Cabinet*.

Rancangan Percobaan

Desain perlakuan dan ulangan menggunakan rancangan kelompok lengkap teracak (RKLT) untuk penelitian secara *in vivo* dan rancangan acak lengkap (RAL) untuk *in vitro*. Perlakuan dosis iradiasi yang digunakan terdiri dari lima taraf yaitu R1= 0 gray, R2= 50 gray, R3= 100 gray, R4= 150 gray, dan R5= 200 gray. Dosis Iradiasi sinar gamma tersebut diberikan pada stek batang torbangun (*in vivo*), sedangkan dosis iradiasi untuk tanaman (ekplan) secara *in vitro* menggunakan lima taraf yaitu R1= 0 gray, R2= 5 gray, R3= 10 gray, R4= 15 gray, dan R5= 20 gray.

Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 4 ulangan yang terdiri dari 5 tanaman torbangun sehingga terdapat 100 satuan percobaan untuk *in vivo* dan untuk *in vitro* terdapat 3 ulangan yang terdiri dari 4 eksplan torbangun sehingga terdapat 60 satuan percobaan.

Model linear rancangan percobaan RKLT yang digunakan adalah:

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

Model linear rancangan percobaan RAL yang digunakan adalah:

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

Keterangan :

Y_{ij} = respon pengamatan genotipe ke-i, ulangan ke-j

μ = Nilai tengah populasi

α_i = Pengaruh genotipe ke-i

β_j = Pengaruh kelompok ke-j

ε_{ij} = pengaruh galat percobaan genotipe ke-i, ulangan ke-j

Data yang dihasilkan dianalisis menggunakan uji F, Bila hasil uji F menunjukkan pengaruh nyata maka akan dilakukan uji lanjut *Duncan Multiple Range Test* (DMRT).

Pelaksanaan Penelitian

Terdapat dua tahapan pelaksanaan penelitian yaitu pelaksanaan untuk dilapang (*in vivo*) dan pelaksanaan di dalam laboratorium kultur jaringan (*in vitro*).

- Lapang (*in vivo*)

a) Menyiapkan bahan tanam

Bahan tanam stek diperoleh dari biofarmaka Cikabayan IPB Dramaga sebanyak 100 polibag. Stek yang telah diperoleh dibersihkan dari tanah dan akarnya dicuci bersih untuk di simpan di handuk basah yang akan di bawa untuk di iradiasi.

- Laboratorium (*in vitro*)

e. Sterilisasi Alat Tanam.

Semua peralatan yang dipakai dalam kultur jaringan harus dalam keadaan steril untuk mengurangi persentase kontaminasi. Alat tanam, botol kultur serta *Laminar Air Flow Cabinet* harus disterilisasi terlebih dahulu sebelum digunakan. Sterilisasi botol kultur, alat kultur serta air steril dilakukan dengan cara memasukkan ke dalam *autoclave* dengan suhu 121°C dan tekanan 17.5 psi (*pound per square inch*) selama 30 menit. Untuk alat tanam seperti pinset, *scalpel*, gunting dan cawan petri dibungkus dahulu dengan menggunakan kertas sebelum dimasukkan ke dalam *autoclave*. Setelah disterilisasi, botol kultur disimpan pada rak bersih, kering dan tertutup. Sedangkan untuk alat tanam disimpan dalam oven untuk mencegah menempelnya sumber kontaminan pada alat kultur. Sterilisasi *Laminar Air Flow Cabinet* dilakukan dengan membersihkannya dengan menggunakan alkohol 70% dan 96%.

f. Persiapan Media Tanam.

Media tanam yang dipakai untuk kultur *in vitro* ekplan tanaman torbngun adalah jenis Murashige-Skoog (MS0) dan jenis MS11 yaitu MS0 yang ditambah zat pengatur tumbuh NAA 0,1 mg/l dan BAP 0.5 mg/l, dan kasein 0.2 g/l. Tahapan pembuatan media dimulai dengan memberikan larutan stok sesuai dengan konsentrasi yang dibutuhkan untuk membuat 1 liter media. Selanjutnya media ditambahkan gula dan zat pengatur tumbuh. Selanjutnya media ditambahkan *aquades* hingga mencapai 1 liter. Larutan media yang telah bervolume 1 liter diukur tingkat kemasamannya dengan pH meter. pH media adalah sebesar 5,8. Untuk mengatur pH media digunakan HCl 1 N bila pH >5.8 dan KOH 1 N bila pH <5.8. Media yang telah diukur pHnya ditambahkan gula pasir 30 g/l dan agar-agar (7 g/l) yang kemudian dimasak hingga mendidih. Media dimasukkan ke dalam botol kultur (bervolume 200 ml yang telah disterilisasi) sebanyak 20 ml kemudian ditutup dengan plastik bening tahan panas dan karet. Media yang telah ditutup disterilisasi dengan menggunakan *autoclave* selama 15 menit lalu disimpan pada rak penyimpanan media.

g. Steriliasasi Bahan Tanam

stek tanaman yang baik untuk disteriliasasi adalah tiga ruas paling atas (pucuk) yang batang tanamannya masih hijau dan sehat. Stek tersebut dicuci dengan detol encer dan kemudian direndam di dalam agrep (2 g/l) dan dithane (2g /l) selama ± 20 menit. Stek tersebut kemudian dicuci di dalam air mengalir selama ± 20 menit. Selajutnya sterilisasi dilakukan didalam *Laminar Air Flow Cabinet*. Stek-stek yang bersih direndam didalam larutan klorox 10% selama 10 menit,

12	Biaya Bahan Penelitian	5	Paket	200.000	1.000.000
13	Biaya Sewa Kamera	1	Kamera	200.000	200.000
14	Biaya Transportasi	5	Orang	100.000	500.000
16	Biaya Mutasi	2	Paket	1.000.000	2.000.000
17	Biaya Lomba	2	Lomba	100.000	200.000
18	Biaya Konsumsi	4	Bulan	200.000	800.000
19	Biaya pemeliharaan Lab	5	Paket	50.000	250.000
20	Biaya administrasi	-	-	-	500.000
23	Biaya laporan kemajuan	5	eksamplar	50.000	250.000
24	Biaya Laporan akhir	5	eksamplar	50.000	250.000
25	Biaya Proposal	5	eksemplar	50.000	250.000
26	Biaya pengamatan	5	Bulan	100.000	500.000
27	Biaya Oven	100	Sample	3500	350.000
	Total			11.800.000,-	

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengamatan pada Tabel 5. menunjukkan bahwa semua stek yang diiradiasi mulai taraf 50-200 gray mati. Hal tersebut, dapat disimpulkan bahwa dosis iradiasi ≥ 50 gray stek tanaman tidak dapat tumbuh sehingga untuk iradiasi secara *in vivo dan in vitro* taraf iradiasi harus diturunkan hingga < 50 gray.

Tabel 5. Hasil pengamatan data stek yang hidup setelah mutasi (*in vivo*)

Taraf (gray)	Rata-rata stek yang hidup (%)
0	100.00
50	1.25
100	0.00
150	0.00
200	0.00

Nilai LD50 ini merupakan salah satu parameter untuk mengukur tingkat sensitivitas suatu jaringan terhadap iradiasi. Berdasarkan Tabel 6, daya tumbuh ekplan torbangun hasil mutasi pada taraf 20 gray masih di atas LD 50 yaitu sekitar 58.33% sehingga DL 50 hasil mutasi ekplan torbangun belum bisa diketahui pada hasil penelitian ini. Diduga LD 50 iradiasi ekplan torbangun secara *in vitro* > 20 gray dan masih < 50 gray. Berdasarkan Banerji dan Datta (1992) nilai LD50 pada stek pucuk krisan mencapai 25 gray.

Tabel 6. Hasil pengamatan data ekplan yang hidup setelah mutasi (*in vitro*)

Taraf (gray)	Rata-rata stek yang hidup (%)
0	100.00
5	83.33
10	83.33
15	66.67
20	58.33

Taraf iradiasi 0 dan 5 gray merupakan taraf iradiasi yang memiliki pertambahan jumlah daun terbanyak dibandingkan taraf iradiasi lainnya itu sekitar 6.55 dan 7.33. Taraf iradiasi 5 dan 15 gray adalah taraf iradiasi yang memiliki pertambahan jumlah ruas batang terbanyak dibandingkan taraf iradiasi lainnya itu sekitar 5.88 dan 4.92. Taraf iradiasi 20 gray memiliki pertumbuhan jumlah daun dan jumlah ruas paling sedikit dibandingkan taraf lainnya yang diamati. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Pahan (1987) yang menyatakan bahwa peningkatan sinar gamma yang diberikan dalam kondisi *in vitro* akan menekan pertumbuhan tanaman sehingga tanaman yang dihasilkan menjadi lebih pendek. Semua taraf yang diamati memiliki pertumbuhan jumlah akar yang tidak berbeda nyata satu sama lain (Tabel 7).

Pada Tabel 8 menjelaskan bahwa tidak terjadi perubahan fisik pada daun ekplan torbangun. Pada semua taraf iradiasi memiliki warna daun tua berwarna coklat dan warna daun mudanya berwarna hijau. Warna coklat tersebut diduga terjadi akibat pengaruh iradiasi mutasi.

Tabel 7. Pertumbuhan ekplan torbangun setelah 2-8 MSM (minggu setelah mutasi)

Taraf	Jumlah daun	Jumlah ruas batang	Jumlah akar
0	6.55 a	3.53 ab	17.45 a
5	7.33 a	5.38 a	18.71 a
10	1.58 b	2.66 bc	12.23 a
15	4.87 ab	4.92 a	13.25 a
20	1.39 b	1.31 c	10.03 a

Angka diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama, tidak berbeda nyata berdasarkan DMRT pada taraf 5%.

Tabel 8. Hasil pengamatan kualitatif pada eksplan torbangun

Taraf	Warna daun tua	Warna daun muda
0	Kuning	Hijau
5	Coklat	Hijau
10	Coklat	Hijau
15	Coklat	Hijau
20	Coklat	Hijau

Analisis kandungan zat makro dan mikro tanaman torbangun, khususnya analisis zat besi (Fe) belum dapat terlaksana karena kekurangan bahan untuk analisis. Bahan tanam yang diperlukan untuk analisis zat makro dan mikro minimal 50 gram sedangkan bahan analisis yang baru tersedia hanya sebesar 2-3 gram bahan basah sehingga perlu memerlukan beberapa bulan lagi untuk dapat memperoleh jumlah bahan analisis.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Taraf iradiasi 5 gray merupakan taraf iradiasi mutasi yang paling baik digunakan untuk meningkatkan pertumbuhan jumlah daun dan jumlah ruas batang. Diduga LD₅₀ iradiasi ekplan torbangun secara *in vivo* dan *in vitro* > 20 gray dan masih < 50 gray. Analisis kandungan zat besi belum dapat dilakukan karena keterbatasan bahan tanam yang tidak memenuhi batas minimal untuk dapat dianalisis.

Saran

Dilakukan penelitian lanjutan terhadap pengaruh iradiasi sinar gamma cobalt₆₀ dan dilakukan analisis kandungan zat besi serta kandungan zat makro dan mikro pada tanaman torbangun.

DAFTAR PUSTAKA

- Almatsier, S. 2001. *Prinsip Dasar Ilmu Gizi*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.
- Barerji BK, Datta SK. 1992. Gamma ray induced flower shape mutation in chrysanthemum cv 'java'. *J Nuclear Agric. Biol.* 21(2): 73-79.
- British Nutrition Foundation. 1995. Iron. *Nutritional and Physiological Significance*. London: Chapman & Hall.
- Brock, RD. 1977. *When to Use mutation in plant breeding*. In: *Manual on Mutation Breeding*, Technical Report Series. IAEA. Viena
- Damanik R. 2005. Effect of Consumption Torbangun Soup (*Coleus amboinicus* Lour) on Micronutrient Intake of the Batakese Lactating Women. *Media Gizi & Keluarga* 29(1): 68-73
- Damanik R., Wahlqvist M.L., and Watanapenpaiboon, N. 2006. Lactagogue effects of torbangun, a Batakese traditional cuisine. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition* 15(2): 267-274.
- Damanik R., Z. Daulay, S. Saragih, R. Premier, N. Watanapenpaiboon, and ML Wahlqvist. 2001. Consumption of Bangun-Bangun Leaves (*Coleus amboinicus* Lour) to Increase Breast Milk Production Among Batakese Women in North Sumatera Island, Indonesia. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition* 10(14): S67
- Damanik R., Z. Daulay, S. Saragih, R. Premier, N. Watanapenpaiboon, and ML Wahlqvist. 2001. Consumption of Bangun-Bangun Leaves (*Coleus amboinicus* Lour) to Increase Breast Milk Production Among Batakese Women in North Sumatera Island, Indonesia. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition* 10(14): S67
- Departemen Kesehatan RI. 2006. *Pedoman Umum Pemberian Makanan Pendamping Air Susu Ibu (MP-ASI) Lokal Tahun 2006*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.

- Fardiaz, D. Slamet, D.S, Mahmud, M.K, dan Sinarmata, J.P. 1990. *Pedoman Analisis Zat Gizi*. Jakarta : Departemen Kesehatan RI, Direktorat Bina Gizi Masyarakat, Pusat Penelitian dan Pengembangan Gizi.
- Mahmud, K. Mien, D.S. Slamet, R.R. Apriyantono, Hermana. 1990. *Komposisi Zat Gizi Pangan Indonesia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Direktorat Bina Gizi Masyarakat dan Pusat Penelitian & Pengembangan Gizi.
- Muluszynski M, Ahloowalia BS, Sigurbjornsson, 1995. Application of in vivo and in vitro mutation techniques for crop improvement. *Euphytica* 85: 303-315.
- Pahan, I. 1987. Pengaruh radiasi Sinar Gama Pada Pucuk In Vitro terhadap Keragaman Tanaman Petunia (*Petunia hybrida* Vilm). Skripsi. Jurusan Budidaya pertanian. IPB.
- Poespodarsono, S. 1988. *Dasar-Dasar Ilmu Pemuliaan Tanaman*. Bogor: PAU IPB dan LSIIPB.
- Predieri S, Magli M, Zimmerman RH, 1997. Pear mutagenesis: In vitro treatment with gamma-rays and field selection for vegetation from traits. *Euphytica* 93: 227-237.
- Roux NS. 2004. *Mutation induction in Musa Review*. In: *Banana Improvement. Cellular, Molecular Biology and Induced Mutation* (Eds. S.M. Jain and R. Swennen) . USA: Science Publishers, Inc. Enfield (NH).
- Valeria BK, Piven NM, Gleba YY. 1997. Somaclonal variation and in vitro induced mutagenesis in grapevine. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 49: 17-27.
- Warid Ali Qosim, 2006. *Studi Radiasi Sinar Gamma Pada Kultur Nodular Manggis untuk Meningkatkan Keragaman Genetik dan Morfologi Regeneran Kalus Nodular Tanaman Manggis*. Tesis. Bogor: Pascaserjana, Institut Pertanian Bogor.
- Warid Ali Qosim, 2007. Pengaruh Iradiasi Sinar Gamma terhadap Kapasitas Regenerasi Kalus Nodular Manggis. *Hayati Journal of Bioscience*. ISSN: 1978-3019. 140-144.