



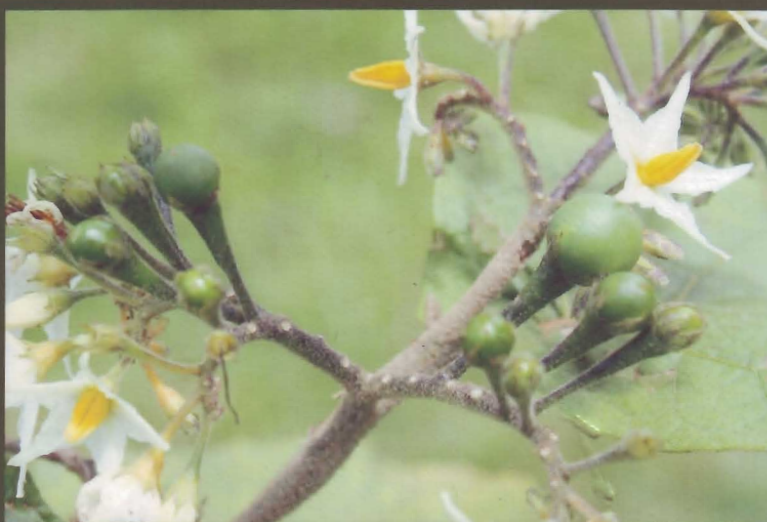
PROSIDING

SEMINAR NASIONAL POKJANAS TOI XLII

“Penggalian, Pelestarian, Pemanfaatan, dan Pengembangan Tumbuhan Obat Indonesia untuk Peningkatan Kesehatan Masyarakat ”

**Topik: Sirsak (*Annona muricata* L.) dan Takokak (*Solanum torvum* Swartz)
Review: Cecendet (*Physalis* sp.)**

**Dalam Rangka Dies Natalis UNJANI Ke-22
Pada Tanggal 20 Mei 2012**





SEMINAR NASIONAL POKJANAS TOI XLII

**Penggalian, Pelestarian, Pemanfaatan dan Pengembangan Tumbuhan Obat
Indonesia Untuk Peningkatan Kesehatan Masyarakat.**

VOLUME I

KETUA TIM PENYUNTING:

Prof. Dr. Sukrasno (ITB)



Diterbitkan oleh: Jurusan Farmasi Fakultas MIPA

Universitas Jenderal Achmad Yani Cimahi

SEMINAR NASIONAL POKJANAS TOI XLII

Penggalian, Pelestarian, Pemanfaatan dan Pengembangan Tumbuhan Obat Indonesia Untuk Peningkatan Kesehatan Masyarakat.

TIM PENYUNTING:

1. Prof. Dr. Sukrasno (ITB)
2. Prof. Dr. Elin Yulinah (ITB)
3. Prof. Dr. Andreanus Soemardji, M.S. (ITB)
4. Dr. Moelyono M.W, M.S. (UNPAD)
5. Dr. Sophie Damayanti, M.Si. (ITB)
6. Dr. Afifah B. Sutjiatmo, M.S. (UNJANI)
7. Dr. Sayu Putu Yuni Paryati, drh., M.Si. (UNJANI)
8. Ir. Nunuk M. Januwati, M.S.(IPB)

Hak Cipta ©2010

Hak cipta dilindungi undang-undang. Dilarang memperbanyak atau memindahkan sebagian atau seluruh isi buku dalam bentuk apapun, baik secara elektronik maupun mekanis, termasuk memfotokopi, merekam atau dengan sistem penyimpanan lainnya tanpa izin tertulis dari Penulis.

Penerbit:

Jurusan Farmasi FMIPA UNJANI

Jl. Terusan Jenderal Sudirman PO Box 148 Cimahi

Telp. (022) 6631581

Fax. (022) 6631581

Volume I

Cetakan: Pertama (2012)

Perpustakaan Nasional: Katalog dalam Terbitan

ISBN 978-602-17758-1-3 (JIL. 1)



PROSIDING SEMINAR NASIONAL POKJANAS TOI XLII

TEMA SEMINAR

Penggalian, Pelestarian, Pemanfaatan dan Pengembangan Tumbuhan Obat Indonesia Untuk Peningkatan Kesehatan Masyarakat.

TUJUAN SEMINAR NASIONAL

Tujuan diselenggarakannya Seminar Nasional POKJANAS TOI XLII adalah untuk meningkatkan kualitas tumbuhan obat agar dapat dimanfaatkan sesuai dengan standar mulai dari hulu sampai ke hilir, serta memasyarakatkan penggunaan Jamu dengan standar dan kualitas yang lebih baik.

**PENGARUH IRRADIASI SINAR GAMMA COBALT 60 TERHADAP
KARAKTER MORFOLOGI TANAMAN OBAT SAMBILOTO
(*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Wallich Ex Ness)**

Juwartina Ida Royani¹, Agus Purwito² dan Wahono Sumaryono¹

¹ Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi,
Gd. 630 Kawasan PUSPIPTEK Serpong Tangerang

² Departemen Agronomi dan Hortikultura Sekolah Pasca Sarjana
Institut Pertanian Bogor
Juwartina.ida@bppt.go.id

ABSTRAK

Pemuliaan mutasi merupakan salah satu strategi yang dapat digunakan untuk mempertinggi keragaman genetik, meningkatkan kandungan senyawa aktif dan sifat unggul pada tanaman obat. Salah satu metode pemuliaan yang dapat mencapai tujuan diatas adalah induksi mutasi dengan menggunakan radiasi. Sambiloto adalah tanaman obat unggulan dengan keragaman genetik dan kandungan andrographolide yang rendah. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh radiasi sinar gamma cobalt 60 pada perubahan karakter morfologi tanaman obat sambiloto sebagai salah satu langkah awal untuk menciptakan keragaman genetik tanaman. Biji sambiloto diiradiasi pada mesin *Gamma Chamber* Cobalt 60 dengan perlakuan dosis 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 125, 150, 175, 200, 225, 250, 275 dan 300 Gy. Pengamatan morfologi dilakukan pada mutan sambiloto generasi M1V0, M1V1, M1V2 dan M1V3. Hasil penelitian memperlihatkan adanya perbedaan variasi karakter morfologi pada mutan jika dibandingkan dengan kontrol. Uji tukey pada taraf 5% menunjukkan perbedaan yang signifikan pada beberapa parameter yang diamati.

Kata kunci: *Andrographis paniculata*, radiasi sinar gamma, LD50, karakter morfologi, keragaman genetik

PENDAHULUAN

Pemuliaan atau perbaikan mutu tanaman adalah salah satu strategi yang dapat digunakan untuk mempertinggi keragaman genetik, memperbaiki sifat tanaman dan meningkatkan kandungan senyawa aktif pada tanaman obat. Pemuliaan tanaman menghendaki adanya variasi genetik dari sifat tanaman yang bermutu yang dapat berguna untuk perbaikan sifat tanaman tersebut (Novak dan Brunner 1992). Salah satu metode pemuliaan tanaman adalah dengan menggunakan metode mutasi. Mutasi dapat menyebabkan perubahan materi genetik yang pada umumnya dapat diekspresikan pada fenotif tanaman dan diturunkan ke generasi selanjutnya secara genetik. Induksi mutasi merupakan metode yang paling mudah dalam menciptakan variabilitas genetik dibandingkan dengan metode pemuliaan yang lainnya (Minn *et al.* 2008).

Mutasi dengan menggunakan iradiasi pengion merupakan salah satu pilihan yang paling banyak digunakan untuk membentuk mutan. Hal ini disebabkan karena kemudahan aplikasinya dan kekuatan daya tembusnya dalam menembus jaringan tanaman (Anwar *et al.* 2004). Pengaruh iradiasi sinar gamma secara biologi didasarkan pada interaksi dengan atom atau molekul dalam sel, terutama air untuk membentuk radikal bebas (Borzouei *et al.* 2010). Radikal bebas ini dapat merusak atau memodifikasi komponen yang penting pada sel tanaman dan telah dilaporkan berakibat pada perubahan tanaman baik secara morfologi, anatomi, biokimia dan fisiologi tanaman, bergantung pada dosis iradiasi yang diberikan. Perubahan karakter tersebut meliputi perubahan proliferasi sel, peningkatan germinasi, pertumbuhan sel, aktivitas enzim, ketahanan terhadap cekaman lingkungan, peningkatan hasil, ukuran tanaman, waktu pembungaan, pemasakan buah, warna buah, serta kompatibelnya sel pada kondisi lingkungan ekstrim sampai dengan peningkatan senyawa aktif (Kiong Ling *et al.* 2008).

Sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Wallich Ex Ness) disebut juga “*King of bitters*” adalah tanaman obat yang berasal dari semenanjung India dan Sri Lanka (Lattoo *et al.* 2006, Mishra *et al.* 2007; Jarukamjorn & Nemoto, 2008). Tanaman ini tumbuh secara alami di Asia Tenggara yaitu India (dan Sri Lanka), Pakistan dan Indonesia tetapi dibudidayakan secara ekstensif di China dan Thailand, Timur dan barat India, serta Mauritius (Mishra *et al.* 2007). Sambiloto mengandung senyawa andrographolide yang secara farmakologi berfungsi sebagai hepatoproteksi, gastroproteksi, anti alergi, *antipiretic*, *vermicidal*, *antiacne*, analgesik, *anti-inflammatory*, anti-bakteri, anti-malaria, *antityphoid*, anti-kanker dan aktivitas *hypoglycemic*, aktivitas anti HIV, disamping dapat juga digunakan untuk peningkatan imunitas/daya tahan tubuh (Mishra *et al.* 2007; Jarukamjorn & Nemoto 2008, Akbar. 2011, Chowdhury. 2012). Melihat dari banyaknya khasiat sambiloto Subramanian *et al.* 2012, mengatakan bahwa sambiloto adalah a *bitter plant with a sweet future*. Saat ini sambiloto menjadi salah satu dari sembilan tanaman obat yang diprioritaskan untuk dikembangkan di Indonesia.

Pada kondisi dialam keragaman genetik sambiloto sangatlah rendah (Sabu *et al.* 2001, Maison *et al.* 2005, Sakuanrungsirikul *et al.* 2008. Latoo *et al.* 2008, Pandey & Mandal. 2010, Wijarat *et al.* 2012) hal ini disebabkan karena selain menyerbuk sendiri (*obligate self pollination*) sambiloto juga bersifat hermaprodite, *self compatible* dan *habitual inbreeder* (Latoo *et al.* 2008, Wijarat *et al.* 2012). Rendahnya keragaman genetik sambiloto ini diperkuat dengan penelitian Pandey & Mandal (2010), bahwa tidak diketemukan adanya variasi genotif di tingkat fenotipik pada tanaman sambiloto dari 5

lokasi yang berbeda di India. Penelitian Wijarat *et al.* (2012), juga memperkuat hal ini dengan tidak diketemukan adanya variasi pola genetik pada 58 aksesori sambiloto aksesori dari Thailand yang dievaluasi menggunakan penanda SSR, AFLP maupun RAPD. Disamping rendahnya keragaman genetik sambiloto, kadar senyawa aktif andrographolide di alam juga sangat rendah. Dari penelitian yang telah dilakukan kadar andrographolide berkisar antara 0.1-2% (Patarapanich *et al.* 2007, Sabu *et al.* 2001, Raina *et al.* 2007, Sharma, *et al.* (2009).

Pemuliaan mutasi adalah salah satu alternatif terbaik untuk mempertinggi keragaman genetik tanaman sambiloto sekaligus mencari sifat-sifat unggul yang dapat di seleksi untuk menghasilkan varietas sambiloto dengan kadar andrographolide yang tinggi dan sifat unggul yang lainnya. Penelitian iradiasi pada tanaman sambiloto yang pernah dilaporkan bertujuan untuk mengetahui kualitas higienis hasil ekstraksi dari herbaserta dekontaminasi mikroba pada simplisia sambiloto (Timpraser *et al.* 2003, Chobkarjing 2004, Mamatha *et al.* 2010) dengan pemakaian dosis berkisar antara 5-25 kGy. Lattoo *et al.* (2006) juga melakukan iradiasi dengan sinar gamma pada sambiloto dengan tujuan untuk mendapatkan jantan steril sedangkan untuk tujuan perbaikan mutu tanaman sambiloto belum pernah dilaporkan.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh radiasi sinar gamma cobalt 60 pada perubahan karakter morfologi tanaman obat sambiloto sebagai salah satu langkah awal untuk menciptakan keragaman genetik tanaman dan meningkatkan kandungan senyawa aktif.

BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan adalah biji sambiloto koleksi dari Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (BALITTRO) aksesori Kanigoro Karanganyar. Bahan untuk penanaman biji dan subkultur sambiloto berupa pupuk kandang, tanah dan sekam bakar (1:1:1). Tahapan kerja penelitian ini adalah sebagai berikut: iradiasi biji sambiloto, penghitungan letal dosis iradiasi, penanaman dan subkultur sambiloto hasil iradiasi serta perubahan morfologi sambiloto dari generasi M1V0-M1V3.

Irradiasi biji sambiloto. Biji sambiloto dimasukkan dalam plastik klip bersih dan diirradiasi pada mesin *Gamma Chamber* Cobalt 60 di PATIR-BATAN dengan perlakuan dosis 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 125, 150, 175, 200, 225, 250, 275 dan 300 Gy.

Penghitungan letal dosis iradiasi (LD_{50}). Biji *sambiloto* hasil iradiasi sebanyak 100 biji direndam dalam larutan bakterisida dan fungisida selama 24 jam kemudian dicuci bersih menggunakan air. Biji yang telah bersih ditanam pada *pot tray* dengan menggunakan media sekam bakar, pupuk kandang dan tanah dengan perbandingan 1:1:1. Pertumbuhan biji diamati dan dihitung *letal dosis radiation* (LD_{50}), dengan menghitung persentase 50% kematian tanaman pada 6 minggu setelah iradiasi. Data yang didapat dianalisa menggunakan analisa *CurveExpert* 1.3 untuk menentukan LD_{50} .

Penanaman dan subkultur *sambiloto* hasil iradiasi. Tanaman *sambiloto* hasil iradiasi (generasi M1V0) berumur 6 minggu setelah tanam (MST) dipindah dalam polibag berukuran 15x15 menggunakan media yang sama pada saat penyemaian. Kemudian tanaman *sambiloto* generasi M1V0 berumur 10 MST di perbanyak secara vegetatif dengan cara melakukan pemotongan pucuk-pucuk dengan ukuran ± 10 cm untuk dilakukan subkultur perbanyak secara *ex vitro*. Pucuk-pucuk tersebut direndam dalam larutan bakterisida dan fungisida untuk selanjutnya pada pangkalnya diolesi hormon perakaran dan ditanam pada polibag. Media yang digunakan untuk perbanyak secara *ex vitro* sama dengan media pada saat penyemaian. Pucuk tanaman diinkubasi dalam sungkup selama 2 MST sampai terbentuk akar kemudian dipindah dalam screen house sampai berumur 8 MST. Hasil subkultur tanaman generasi M1V1 pada umur 8 MST dilakukan pemotongan kembali pucuk-pucuk dan dilakukan subkultur seperti cara diatas untuk mendapatkan tanaman generasi M1V2-M1V3.

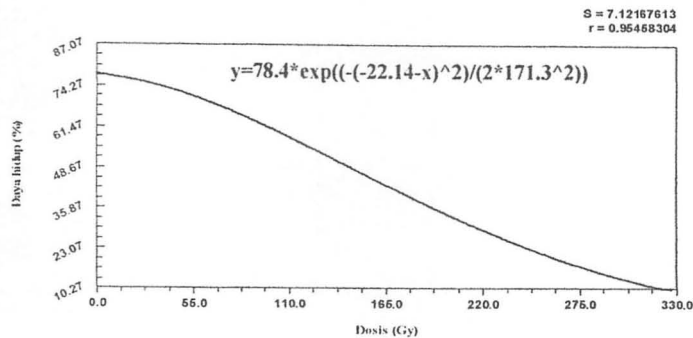
Perubahan morfologi *sambiloto* dari generasi M1V0-M1V3. Pengamatan morfologi dilakukan pada mutan *sambiloto* generasi M1V0, M1V1, M1V2 dan M1V3. Parameter fenotif generasi M1V0-M1V3 yang diamati adalah: tinggi tanaman, jumlah nodus, jumlah daun, panjang dan lebar daun serta jumlah cabang tanaman hasil iradiasi dibandingkan dengan kontrol. Data pertumbuhan tanaman di analisa dengan menggunakan analisis varian (ANOVA) dan jika data berbeda dilanjutkan dengan uji Tukey pada taraf kepercayaan $P < 0.05$ menggunakan software Minitab 16.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh iradiasi pada germinasi biji *sambiloto*

Sensitivitas iradiasi pada biji *sambiloto* dapat dilihat dari daya hidup germinasi biji pada kisaran dosis iradiasi dibandingkan dengan biji tanpa iradiasi (kontrol). Semakin tinggi dosis yang diberikan semakin rendah germinasi biji yang tumbuh. Hasil yang sama juga didapatkan pada germinasi biji *Helianthus annuus* (Erdem & Oldacay, 2004),

Orthosiphon stamineus (Kiong *et al.* 2008) dan *Jatropha curcas* (Dhakshanamoorthy *et al.* 2010) setelah perlakuan iradiasi. Dikatakan oleh Kiong *et al.* (2008) bahwa peningkatan dosis ini kemungkinan dapat menyebabkan peningkatan kerusakan kromosom yang berakibat pada rendahnya kemampuan germinasi dan pengurangan daya hidup serta pertumbuhan tanaman.



Gambar 1. Kurva Gaussian Model dari daya hidup germinasi biji sambiloto setelah perlakuan iradiasi

Pada penelitian ini analisa dengan menggunakan *CurveExpert 1.3* didapatkan bentuk persamaan dan LD₅₀ dari biji yang diirradiasi. Dari iradiasi dengan menggunakan sinar gamma cobalt 60 dengan berbagai variasi dosis didapatkan angka letal dosis iradiasi (LD₅₀) berada pada dosis 180 Gy (Gambar 1). Pada penelitian ini fungsi *Gaussian Model* merupakan model terbaik untuk mendeskripsikan pola kematian populasi sambiloto dengan $r = 0.954$.

Pengaruh iradiasi pada karakter morfologi generasi M1V0-M1V3

Perbanyakan generasi tanaman sambiloto dilakukan secara *ex vitro* yaitu memperbanyak tanaman dengan menggunakan bagian vegetatif tanaman tersebut. Sehingga klon yang diperbanyak disebut sebagai generasi vegetatif (V). M1V0 merupakan populasi tanaman mutan (M, kependekan dari 'mutan') yang belum diperbanyak secara vegetatif (V0), sedangkan M1V1 merupakan populasi tanaman hasil perbanyakan vegetatif pertama (V1) dari mutan generasi pertama (M1). Sedangkan M1V2 adalah populasi tanaman hasil perbanyakan vegetatif dari M1V1, demikian seterusnya sehingga didapatkan generasi M1V3 (Aisyah dkk. 2009).

Hasil pertumbuhan tanaman sambiloto yang diirradiasi termasuk lambat. Pada saat dilakukan subkultur M1V1 tanaman baru dapat dilakukan subkultur kembali menjadi generasi M1V2 setelah 8 MST. Pada kondisi normal tanaman sambiloto hasil perbanyakan *ex vitro* sudah dapat disubkultur kembali dalam waktu 4-6 MST. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh adanya efek iradiasi yang menyebabkan pertumbuhan tanaman menjadi

lambat. Sedangkan pertumbuhan tanaman sambiloto generasi M1V2 mengalami pertumbuhan generatif yang cepat sehingga tanaman sudah akan berbunga dalam waktu 8 MST begitu juga dengan pertumbuhan tanaman generasi M1V3.

Pertumbuhan tanaman generasi M1V0

Hasil pertumbuhan tanaman sambiloto generasi M1V0, analisa variasi menunjukkan adanya perbedaan pengaruh dosis yang signifikan dari semua parameter yang diamati kecuali pada jumlah daun. Tanaman tertinggi didapatkan pada dosis 100 Gy dengan tinggi 33.30 cm sedangkan terendah pada kontrol yaitu 18.45 cm. Pada generasi M1V0 ini irradiasi dapat meningkatkan tinggi tanaman & jumlah nodus dibandingkan dengan kontrol (tabel 1).

Tabel 1. Nilai tengah pertumbuhan tanaman sambiloto pada generasi M1V0

Dosis	Tinggi (cm)	Jumlah Daun	Jumlah Nodus	Panjang daun (cm)	Lebar daun (cm)
0	18.45 ^b	12.60 ^a	5.89 ^a	1.62 ^a	8.13 ^b
10	19.34 ^b	12.75 ^a	5.58 ^{abc}	1.50 ^{ab}	9.13 ^{ab}
20	21.50 ^{ab}	12.62 ^a	5.14 ^{abcde}	1.30 ^{abc}	9.85 ^{ab}
30	24.68 ^{ab}	14.50 ^a	4.97 ^{abcde}	1.18 ^{bc}	10.14 ^{ab}
40	23.25 ^{ab}	13.78 ^a	5.06 ^{abcde}	1.29 ^{abc}	9.61 ^{ab}
50	22.10 ^{ab}	13.00 ^a	4.84 ^{abcde}	1.27 ^{abc}	9.40 ^{ab}
60	20.00 ^b	13.42 ^a	5.02 ^{abcde}	1.28 ^{bc}	9.29 ^{ab}
70	23.30 ^{ab}	14.77 ^a	5.63 ^{ab}	1.39 ^{abc}	10.41 ^{ab}
80	24.64 ^{ab}	14.71 ^a	5.36 ^{abcd}	1.35 ^{abc}	10.33 ^{ab}
90	25.50 ^{ab}	16.27 ^a	5.07 ^{abcde}	1.24 ^{bc}	10.67 ^a
100	33.54 ^a	17.75 ^a	4.35 ^{de}	1.13 ^{bc}	11.42 ^a
125	23.22 ^{ab}	15.81 ^a	4.12 ^e	1.12 ^c	10.44 ^{ab}
150	19.52 ^b	13.46 ^a	4.60 ^{cde}	1.21 ^{bc}	9.59 ^{ab}
175	20.64 ^b	16.29 ^a	4.49 ^{cde}	1.19 ^{bc}	9.36 ^{ab}
200	22.60 ^{ab}	15.70 ^a	4.61 ^{bcde}	1.15 ^{bc}	9.80 ^{ab}
225	27.85 ^{ab}	17.00 ^a	4.78 ^{abcde}	1.06 ^{bc}	10.88 ^{ab}
250	21.76 ^{ab}	14.33 ^a	4.24 ^{de}	1.51 ^{abc}	9.44 ^{ab}
275	19.80 ^{ab}	14.40 ^a	4.86 ^{abcde}	1.18 ^{abc}	9.20 ^{ab}
300	19.60 ^{ab}	17.40 ^a	4.55 ^{abcde}	1.51 ^{abc}	8.60 ^{ab}

Keterangan : Huruf yang sama dalam kolom tidak berbeda nyata pada taraf kepercayaan

$$P < 0.05$$

Perlakuan iradiasi tidak mempengaruhi jumlah daun yang dihasilkan pada generasi M1V0 dengan nilai tengah tertinggi didapatkan pada dosis 100 Gy yaitu 17.75 sedangkan terendah didapatkan pada kontrol dengan jumlah daun 12.60 daun/tanaman. Karakter panjang dan lebar daun berpengaruh sangat nyata pada perlakuan iradiasi dibandingkan kontrol dengan kecenderungan pengaruh iradiasi menurunkan panjang dan lebar daun

Pertumbuhan tanaman generasi M1V1

Pertumbuhan tanaman sambiloto generasi M1V1 memperlihatkan tinggi tanaman menurun dibandingkan generasi M1V0 tetapi ada peningkatan jumlah daun dan jumlah nodus (tabel 2). Peningkatan jumlah daun dan nodus pada generasi M1V1 ini disebabkan karena adanya pertumbuhan cabang dari tanaman sambiloto hasil subkultur. Karakter panjang dan lebar daun pada pertumbuhan sambiloto generasi M1V1 ini tidak mengalami perubahan dari generasi M1V0.

Tabel 2. Nilai tengah pertumbuhan tanaman sambiloto pada generasi M1V1

Dosis	Tinggi (cm)	Jumlah Daun	Jumlah Nodus	Panjang daun (cm)	Lebar daun (cm)	Jumlah Cabang
0	13.21 ^a	44.38 ^{ab}	5.14 ^{abc}	1.26 ^{ab}	22.25 ^{abcd}	6.13 ^{ab}
10	15.12 ^a	49.76 ^a	6.53 ^a	1.49 ^a	25.35 ^{abc}	7.00 ^{ab}
20	13.67 ^a	35.78 ^{ab}	4.27 ^{bc}	0.96 ^{ab}	15.56 ^{cd}	5.11 ^{ab}
30	14.04 ^a	40.71 ^{ab}	6.09 ^{ab}	1.28 ^{ab}	21.07 ^{bcd}	7.21 ^{ab}
40	13.63 ^a	38.31 ^{ab}	5.65 ^{ab}	1.29 ^{ab}	20.00 ^{bcd}	5.00 ^b
50	13.92 ^a	43.23 ^{ab}	5.63 ^{abc}	1.23 ^{ab}	24.31 ^{abcd}	7.00 ^{ab}
60	14.41 ^a	43.96 ^a	6.27 ^{ab}	1.35 ^a	24.00 ^{abc}	6.75 ^{ab}
70	14.75 ^a	54.88 ^a	6.28 ^{ab}	1.30 ^{ab}	32.13 ^a	8.88 ^a
80	14.61 ^a	51.22 ^a	6.66 ^{ab}	1.48 ^a	30.00 ^{ab}	8.33 ^{ab}
90	14.81 ^a	50.38 ^a	5.87 ^{ab}	1.30 ^{ab}	26.00 ^{abc}	7.63 ^{ab}
100	15.21 ^a	34.00 ^{ab}	5.15 ^{abc}	1.07 ^{ab}	20.29 ^{abcd}	6.00 ^{ab}
125	14.81 ^a	40.38 ^{ab}	5.37 ^{abc}	1.22 ^{ab}	23.00 ^{abcd}	6.56 ^{ab}
150	15.33 ^a	49.75 ^a	5.59 ^{ab}	1.30 ^a	26.33 ^{abc}	7.54 ^{ab}
175	13.22 ^a	23.11 ^b	3.34 ^c	0.78 ^b	12.44 ^d	8.67 ^{ab}
200	12.30 ^a	36.40 ^{ab}	5.87 ^{ab}	1.29 ^{ab}	20.30 ^{bcd}	6.30 ^{ab}
225	14.00 ^a	40.33 ^{ab}	5.39 ^{abc}	1.13 ^{ab}	22.50 ^{abcd}	7.17 ^{ab}
250	13.31 ^a	32.50 ^{ab}	5.30 ^{abc}	1.29 ^{ab}	18.38 ^{bcd}	5.00 ^{ab}
275	12.70 ^a	49.80 ^{ab}	5.45 ^{abc}	1.20 ^{ab}	27.60 ^{abcd}	8.80 ^{ab}
300	14.70 ^a	42.40 ^{ab}	5.77 ^{abc}	1.38 ^{ab}	23.20 ^{abcd}	7.40 ^{ab}

Keterangan : Huruf yang sama dalam kolom tidak berbeda nyata pada taraf kepercayaan

$P < 0.05$

Analisa variasi pada pertumbuhan tanaman sambiloto generasi M1V1 memperlihatkan adanya perbedaan yang signifikan pada karakter jumlah daun, panjang daun, lebar daun, jumlah nodus dan jumlah cabang. Sedangkan pada tinggi tanaman tidak ada perbedaan dosis iradiasi pada pertumbuhan tanaman.

Pertumbuhan tanaman generasi M1V2

Pada pertumbuhan tanaman generasi M1V2, tinggi tanaman, jumlah daun dan nodus mengalami peningkatan dibandingkan pada generasi M1V1 tetapi panjang dan lebar daun menurun (tabel 3). Hal ini disebabkan karena mulai banyaknya tanaman sambiloto yang bercabang yang sekaligus memperbanyak jumlah daun.

Tabel 3. Nilai tengah pertumbuhan tanaman sambiloto pada generasi M1V2

Dosis	Tinggi (cm)	Jumlah Daun	Jumlah Nodus	Panjang daun (cm)	Lebar daun (cm)	Jumlah cabang
0	16.94 ^a	46.00 ^a	27.13 ^{abc}	4.73 ^{ab}	1.33 ^{ab}	8.13 ^{ab}
10	17.35 ^a	46.71 ^a	27.24 ^{bc}	4.26 ^{ab}	1.03 ^{abcd}	7.06 ^b
20	16.56 ^a	57.14 ^a	31.43 ^{abc}	2.95 ^{ab}	1.55 ^a	6.43 ^{ab}
30	17.43 ^a	54.86 ^a	33.50 ^{abc}	5.36 ^a	0.92 ^{bcd}	9.21 ^{ab}
40	16.09 ^a	42.13 ^a	27.75 ^c	4.61 ^{ab}	0.89 ^{bcd}	7.56 ^b
50	20.38 ^a	58.92 ^a	44.00 ^{abc}	2.82 ^b	0.66 ^{cd}	12.00 ^{ab}
60	18.85 ^a	56.82 ^a	37.89 ^{abc}	3.60 ^{ab}	0.89 ^{bcd}	9.89 ^{ab}
70	20.14 ^a	63.80 ^a	54.40 ^a	4.03 ^{ab}	0.96 ^{bcd}	14.33 ^a
80	17.50 ^a	65.17 ^a	48.50 ^{abc}	3.69 ^{ab}	0.80 ^{bcd}	12.50 ^{ab}
90	18.54 ^a	67.29 ^a	39.88 ^{abc}	3.56 ^{ab}	0.79 ^d	10.41 ^{ab}
100	14.92 ^a	50.20 ^a	34.20 ^{abc}	3.91 ^{ab}	0.81 ^{bcd}	8.40 ^{ab}
125	17.96 ^a	62.00 ^a	39.39 ^{abc}	3.68 ^{ab}	0.88 ^{bcd}	9.89 ^{ab}
150	19.34 ^a	62.88 ^a	41.08 ^{abc}	3.98 ^{ab}	0.91 ^{bcd}	9.92 ^{ab}
175	18.00 ^a	64.00 ^a	54.50 ^{abc}	6.03 ^{ab}	1.39 ^{abcd}	12.50 ^{ab}
200	16.66 ^a	56.50 ^a	36.90 ^{abc}	3.58 ^{ab}	0.89 ^{bcd}	9.60 ^{ab}
225	16.90 ^a	73.80 ^a	51.60 ^{abc}	2.71 ^{ab}	0.75 ^{bcd}	13.00 ^{ab}
250	13.59 ^a	44.38 ^a	27.00 ^{abc}	4.43 ^{ab}	1.11 ^{abcd}	6.63 ^{ab}
275	13.92 ^a	53.40 ^a	41.80 ^{abc}	3.60 ^{ab}	0.97 ^{abcd}	10.40 ^{ab}
300	19.20 ^a	54.80 ^a	36.40 ^{abc}	4.33 ^{ab}	1.00 ^{abcd}	8.20 ^{ab}

Keterangan : Huruf yang sama dalam kolom tidak berbeda nyata pada taraf kepercayaan

$$P < 0.05$$

Hasil uji Tukey memperlihatkan tidak adanya perbedaan dosis pada karakter tinggi tanaman dan jumlah daun dibandingkan dengan kontrol. Sedangkan pada karakter jumlah

nodus, panjang daun, lebar daun dan jumlah cabang memperlihatkan perbedaan yang nyata antar perlakuan dosis.

Pertumbuhan tanaman generasi M1V3

Tinggi tanaman generasi M1V3 mengalami peningkatan dibandingkan dengan generasi M1V2 begitu juga dengan jumlah nodus (tabel 4). Tetapi pertumbuhan jumlah, panjang dan lebar daun semakin menurun. Hasil uji Tukey memperlihatkan pertumbuhan yang signifikan hanya pada karakter tinggi tanaman sedangkan pada karakter jumlah daun, jumlah nodus, panjang dan lebar daun serta jumlah cabang tidak dipengaruhi oleh dosis.

Tabel 4. Nilai tengah tinggi tanaman sambiloto pada generasi M1V3

Dosis	Tinggi (cm)	Jumlah Daun	Jumlah Nodus	Panjang daun (cm)	Lebar daun (cm)	Jumlah Cabang
0	25.19 ^a	42.88 ^a	3.57 ^a	0.89 ^a	45.63 ^a	10.63 ^a
10	16.91 ^{abcd}	36.88 ^a	4.68 ^a	1.15 ^a	46.06 ^a	11.44 ^a
20	21.00 ^{abcd}	41.75 ^a	4.66 ^a	1.13 ^a	41.75 ^a	9.75 ^a
30	20.67 ^{abcd}	31.08 ^a	4.23 ^a	1.07 ^a	43.83 ^a	11.67 ^a
40	23.14 ^{ab}	29.73 ^a	3.85 ^a	0.93 ^a	44.82 ^a	12.36 ^a
50	18.38 ^{abcd}	21.62 ^a	3.95 ^a	0.80 ^a	37.77 ^a	10.69 ^a
60	18.41 ^{abcd}	37.00 ^a	3.41 ^a	1.10 ^a	41.22 ^a	12.85 ^a
70	19.09 ^{abcd}	31.13 ^a	3.70 ^a	0.93 ^a	40.13 ^a	10.31 ^a
80	23.17 ^{abcd}	39.00 ^a	3.53 ^a	0.92 ^a	37.00 ^a	8.33 ^a
90	21.17 ^{abcd}	29.67 ^a	3.48 ^a	0.83 ^a	42.75 ^a	10.25 ^a
100	18.60 ^{abcd}	23.00 ^a	4.09 ^a	0.94 ^a	38.40 ^a	10.00 ^a
125	21.79 ^{abcd}	24.76 ^a	3.56 ^a	0.93 ^a	44.76 ^a	13.12 ^a
150	15.75 ^d	30.62 ^a	3.69 ^a	0.90 ^a	45.86 ^a	12.14 ^a
175	11.00 ^{abcd}	29.50 ^a	4.58 ^a	1.20 ^a	29.50 ^a	9.50 ^a
200	22.25 ^{abcd}	31.75 ^a	3.29 ^a	0.82 ^a	46.25 ^a	12.58 ^a
225	11.25 ^{cd}	23.75 ^a	3.99 ^a	0.89 ^a	38.00 ^a	13.00 ^a
250	15.90 ^{abcd}	38.40 ^a	3.54 ^a	0.89 ^a	45.40 ^a	13.80 ^a
275	12.30 ^{bcd}	27.50 ^a	3.26 ^a	0.83 ^a	50.25 ^a	13.75 ^a
300	17.00 ^{abcd}	35.00 ^a	4.02 ^a	0.81 ^a	49.60 ^a	10.94 ^a

Keterangan : Huruf yang sama dalam kolom tidak berbeda nyata pada taraf kepercayaan $P < 0.05$

Pada pengamatan hasil pertumbuhan sambiloto dari 4 generasi dapat dikatakan bahwa analisa variasi pada tinggi tanaman menunjukkan hasil yang sangat signifikan dengan uji Tukey 0.05% pada generasi M1V0 dan M1V3 sedangkan pada generasi M1V1 dan M1V2 tidak ada perbedaan. Pada jumlah daun menunjukkan adanya perbedaan dosis

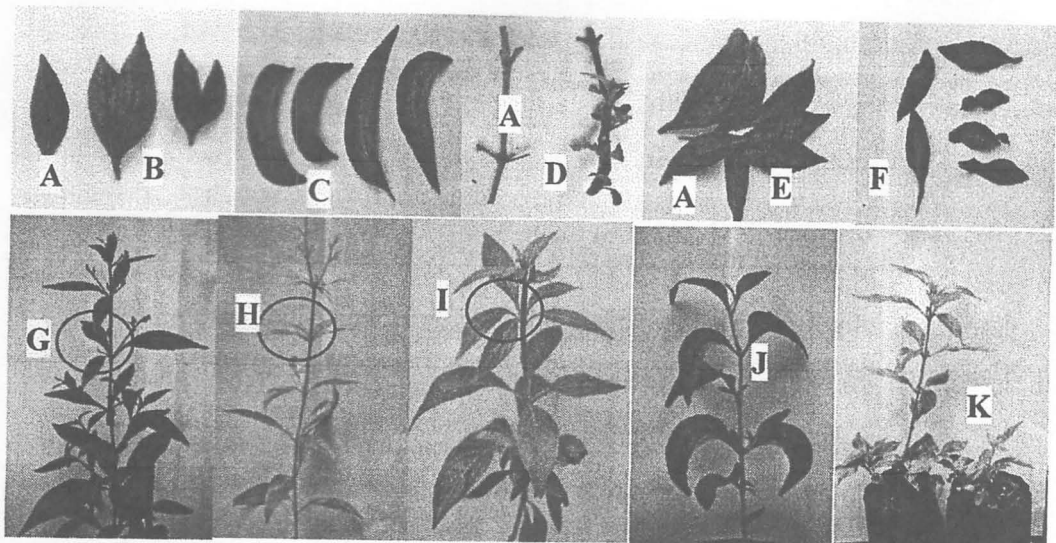
yang signifikan hanya pada generasi M1V1, dan tidak berbeda pada generasi M1V0, M1V2 dan M1V3. Jumlah nodus berbeda sangat nyata pada generasi M1V0, M1V1 dan M1V2 sedangkan pada generasi M1V3 tidak berbeda nyata. Pengamatan jumlah cabang menunjukkan hasil yang sangat signifikan pada generasi M1V1 dan M1V2 dan tidak berbeda pada generasi M1V3.

Perubahan morfologi mutan sambiloto

Dari pengamatan yang telah dilakukan pada mutan hasil irradiasi biji sambiloto, terjadi beberapa perubahan karakter morfologi dari karakter asalnya. Pengamatan perubahan morfologi ini telah diketemukan pada saat pertumbuhan tanaman generasi M1V0 sampai dengan subkultur tanaman pada generasi M1V3. Perubahan morfologi yang sangat nyata terlihat pada karakter bagian daun dibandingkan bagian yang lainnya.

Ciri morfologi daun sambiloto adalah sederhana, daun tunggal, letak berhadapan bersilang, bertangkai (petiole) pendek, berbentuk pedang (lanset) dengan tepi rata (integer), pangkal runcing, ujung meruncing dan permukaannya halus, permukaan atas berwarna hijau tua, bagian bawah berwarna hijau muda, panjangnya 2–12 cm dan lebar 1–3 cm (Mishra *et al.* 2007, Jarumkajorn & Nemoto. 2008, Subramanian *et al.* 2012)

Beberapa karakter morfologi yang mengalami perubahan adalah: **daun belah** yaitu satu petiole muncul daun yang kemudian membelah seperti ada satu daun dengan dua tulang daun (Gambar 2B), **daun asimetris**: tulang daun tidak membelah daun sama luasnya (Gambar 2C), **batang ulir**: batang berulir (Gambar 2D), **daun keriting**: permukaan daun bergelombang dan seperti keriting (Gambar 2E), **daun gulung**: daun menggulung tidak rata (Gambar 2F), **daun 3**: satu nodus dengan 3 daun (Gambar 2G), **daun 4**: satu nodus dengan 4 daun (Gambar 2H), **daun 5**: satu nodus dengan 5 daun (Gambar 2I), dan **tanaman kerdil**: tanaman tidak tumbuh normal dan kecenderungan roset (Gambar 2J).



Gambar 2. Perubahan morfologi tanaman sambiloto hasil irradiasi sinar gamma pada generasi M1V2, A: daun/batang normal, B: daun belah, C: daun asimetris, D: batang ulir, E: daun keriting, F: daun gulung, G: daun 3, H: daun 4, I: daun 5, J: tanaman berdaun asimetri dan K: tanaman kerdil.

Tabel 5. Perubahan karakter mutan hasil radiasi pada generasi M1V2

No	Karakter	Dosis
1	Daun Keriting	90, 150, 175, 200, 225, 250, 275, 300
2	Daun Belah	50, 60, 70, 90, 275
3	Daun Empat	275
4	Daun Gulung	40, 60, 70, 125, 150, 200, 275, 300
5	Daun Tiga	90, 100, 125, 150, 200, 250, 300
6	Tanaman Kerdil	275
7	Batang Cabang Tiga	150

Pada penelitian ini didapatkan 31 kandidat mutan (tabel 5) yang berdasarkan karakter morfologi berbeda dibandingkan dengan kontrol. Sebagian besar perubahan karakter morfologi terdapat pada bagian daun dibanding bagian yang lainnya. Karakter kandidat mutan yang paling banyak ditemukan pada dosis 275 dengan 5 kandidat mutan diikuti dengan dosis 200 dan 300 dengan 3 mutan. Dosis irradiasi yang mulai memperlihatkan adanya perubahan morfologi ditemukan pada dosis 40 Gy sampai dengan 300 Gy. Dari kondisi perubahan morfologi mutan yang didapat belum dapat menyimpulkan dosis yang paling tepat untuk mendapatkan mutan dengan ciri morfologi tertentu.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan pada penelitian ini adalah:

1. Didapatkan LD50 pada dosis 180 Gy.
2. Didapatkan 31 mutan tanaman sambiloto dengan perbedaan karakter morfologi mutan yang ditemukan berbeda dengan *wild type*.
3. Perubahan morfologi yang sangat nyata terlihat pada karakter bagian daun dibandingkan dengan karakter yang lain.

Saran pada penelitian ini adalah perlu dilanjutkan penelitian analisa perubahan profil DNA dan profil fitokimia pada mutan-mutan yang terbentuk sehingga dapat dipastikan bahwa mutan yang terbentuk bersifat stabil.

DAFTAR PUSTAKA

1. Aisyah SI, H Aswidinnoor, A Saefuddin, B Marwoto dan S Sastrosumarjo. 2009. Induksi Mutasi pada Stek Pucuk Anyelir (*Dianthus caryophyllus* Linn.) melalui Iradiasi Sinar Gamma. *J. Agron. Indonesia*. 37 (1): 62 – 70.
2. Akbar S. 2011. *Andrographis paniculata*: A review of pharmacological activities and clinical effect. *Monograph Alternative Medicine Review*. 16 (1): 66-77.
3. Anwar FS, Ahmad N, Gulzar A, Shidiq AM, Rahman S, Ahmad I and Rauf A. 2004. Effect of Gamma Radiation on Growth and Yield of Barley under Different Nitrogen Levels. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 7 (6): 981-983.
4. Borzouei A, Kafi M, Khazae H, Naseriyan B and Majdabadi A. 2010. Effects of Gamma Radiation on Germination and Physiological Aspects of Wheat (*Triticum Aestivum* L.) Seedlings. *Pak. J. Bot.*, 42(4): 2281-2290.
5. Chobkarjing U. 2004. Chemical Investigation of irradiated medicinal Plant (*Andrographis paniculata*). Master Thesis. Mahidol University. Bangkok. 1-73.
6. Chowdhury A, SK Biswas, SZ Raihan, J Das and S Paul. 2012. Pharmacological potensials of *Andrographis paniculata*: an overview. *International J. of Pharmacology*. 8(1): 6-9.
7. Dhakshanamoorthy D, Selvaraj R and Chidambaram A. 2010. Physical and chemical mutagenesis in *Jatropha curcas* L to induce variability in seed germination, growth and yield traits. *Rom. J. Biol. – Plant Biol*. 55(2) 113–125.
8. Erdem G and S. Oldacay. 2004. Employment of RAPD technique to assess the genetic stability of *Helianthus annuus* treated with different mutagenic agents. *J. of Applied Sciences*. 4(2): 277-281.
9. Jarukamjorn K, and Nemoto N. 2008. Pharmacological Aspects of *Andrographis paniculata* on Health and its Major Diterpenoid Constituent Andrographolide. *J. of Health Science*. 54(4)370-381.

10. Kiong ALP, Lai AG, Hussein S and Harun AR. 2008. Physiological Responses of *Orthosiphon stamineus* Plantlets to Gamma Irradiation. *American-Eurasian J. of Sustainable Agriculture*. 2(2): 135-149.
11. Lattoo SK, Khan S, Dhar AK, Choudhary DK, Gupta KK and Sharma PR. 2006. Genetics and mechanism of induced male sterility in *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees and its significance. *Current Science*. Vol. 91, No. 4,25. 515-519.
12. Lattoo SK, Dhar RS, Khan S, Bamotra S, Bhan MK, Dhar AK and Gupta KK. 2008. Comparative analysis of genetic diversity using molekuler and morphometric markers in *Andrographis paniculata* (Burm.f) Nees. *Genet. Resour. Crop Evol.* 55: 33-43.
13. Maison T, H Volkaert, U Boonprakob, and Y Paisooksantivatana. 2005. Genetic Diversity of *Andrographis paniculata* Wall. ex Nees as Revealed by Morphological Characters and Molecular Markers. *Kasetsart J. (Nat. Sci.)*. 39: 388 -399.
14. Mamatha A, K S Patil, P Ashok, Kushal, Soujanya and Gokul. 2010. Effect of gamma irradiation on pharmacological activity of *Andrographis paniculata*. *Journal of Pharmacy Research*. 3(11) 2638-2639.
15. Mishra SK, Sangwan NS and Sangwan RS. 2007. Phcog Rev.: Plant Review *Andrographis paniculata* (Kalmegh): A Review. *Pharmacognosy Reviews*. Vol 1, Issue 2, 283-298.
16. Minn M, Khai AA and Lwin KM. 2008. Study on the Effect of Gamma Radiation on Rice Sin Thwe Latt (IR53936). GMSARN International Conference on Sustainable Development: Issues and Prospects for the GMS. 12-14 Nov. 2008
17. Novak FJ and Brunner H. 1992. Plant breeding: Induced mutation technology for crop improvement. *IAEA BULLETIN*, 4. pp. 25-33.
18. Pandey AK and Mandal AK. 2010. Variation in morphological characteristics and andrographolide content in *Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees of Central India. *Iranica J. of Energy & Environment*. 1(2): 165-169.
19. Sakuanrungrsirikul S, Jetana A, Buddanoi P, and Dithachaiyawong J. 2008. Intraspecific Variability Assesment of *Andrographis paniculata* collections using molecular markers. *ISHS Acta Horticulturae* 786: International Workshop on Medicinal and Aromatic Plants.
20. Sharma SN, Sinha RK, Sharma DK and Jha Z. Assessment of intra-specific variability at morphological, molecular and biochemical level of *Andrographis paniculata* (Kalmegh). *Current Sci.* 2009. 96(3): 402-408.
21. Subramanian R, MZ Asmawi and A Sadikun. 2012. A bitter plant with a sweet future? A comprehensive review of an oriental medicinal plant: *Andrographis paniculata*. *Phytochem Rev.* 11:39-75.
22. Timprasert S, T Boonruad, K Nouuhpramool, P Setakanna, J Rattanasiri, A Pannanususorn, P Kaewchoung and W Orankanok. 2005. Effect of irradiation on chemical changes and contaminated microorganisms in turmeric and creat powder. *International Symposium "New frontier of irradiated food and non food products"*. 22-23 September 2005. KMUTT Bangkok Thailand.
23. Wijarat P, Keeratinijakal V, Toojinda T, Vanavichi A, and Tragoonrung S. 2011. Genetic diversity and inbreeder specie of *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees

by randomly amplified polymorphic deoxyribonucleic acid (RAPD) and floral architecture analysis. *J. of Plant Breeding and Crop Science*. 3(12): 327-334.

24. Wijarat P, Keeratinijakal V, Toojinda T, Vanavichit A and Tragoonrung, S. 2012. Genetic evaluation of *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees revealed by SSR, AFLP and RAPD markers. *J. of Medicinal Plants Research*. 6(14): 2777-2788.