

**Induksi Mutasi Kromosom dengan Iradiasi Sinar Gamma Cobalt<sup>60</sup> untuk Merakit Padi  
(*Oryza sativa*) Tahan Kekeringan Secara *In Vitro***

*Induction of chromosomal mutation by gamma ray irradiation of Cobalt<sup>60</sup> to raft drought tolerant paddy  
(*Oryza sativa*) in vitro*

**Indah Permata Dewi<sup>1</sup>, Ni Made Armini Wiendi<sup>2\*</sup>**

<sup>1</sup>Program Studi Agronomi dan Hortikultura Departemen Agronomi dan Hortikultura,  
Institut Pertanian Bogor (IPB University)

<sup>2</sup>Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor, (IPB University)  
Jl. Meranti, Kampus IPB Darmaga, Bogor 16680, Indonesia

\*Penulis Korespondensi: nmarmini@gmail.com

Disetujui: 31 Januari 2023 / *Published Online* Mei 2023

**ABSTRACT**

*A lot of people in the world choose rice as their main source of carbohydrate beside maize and wheat. The increasing of world population make increasing of the rice demand. Increasing of the rice demand doesn't followed by the rice supply. In order to solve that problem, researcher try to find a new paddy cultivar which is can be planted in dry area. This research aims to study the osmotic pressure that still can be accepted by paddy var. Sintanur, to study LD50 (lethal dose 50) value in the paddy especially in Sintanur and to study the interaction between irradiation and the osmotic pressure. In this research, paddy var. Sintanur is irradiated by gamma ray of Cobalt<sup>60</sup> at six dosages 0 Gy, 100 Gy, 200 Gy, 300 Gy, 400 Gy, 500 Gy. Then each irradiated seed is planted at four kind of mediums that contains Polyethylene glycol (PEG) at four levels of concentration are I0 (0 g L<sup>-1</sup> PEG), I1 (116.538 g L<sup>-1</sup> PEG), I2 (174.6 g L<sup>-1</sup> PEG) and I3 (219.547 g L<sup>-1</sup> PEG). Based on the data analyzed, the highest PEG concentration for drought tolerant selection in paddy var. Sintanur is 174,674 g L<sup>-1</sup> PEG. There is an interaction between irradiation and PEG medium that influencing plant height and shoot multiplication. LD 50 (lethal dose 50) of paddy var. Sintanur is 375 Gy.*

*Keyword : LD 50, sintanur, polyethylene glycol*

**ABSTRAK**

Banyak orang di dunia memilih nasi sebagai sumber karbohidrat utama selain jagung dan gandum. Meningkatnya jumlah penduduk membuat kebutuhan beras meningkat. Meningkatnya permintaan beras tidak diikuti oleh pasokan beras. Untuk mengatasi masalah tersebut, peneliti mencoba mencari kultivar padi baru yang dapat ditanam di lahan kering. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari tekanan osmotik yang masih dapat diterima oleh padi var. Sintanur, mempelajari nilai LD 50 (*lethal dose 50*) pada padi khususnya di Sintanur dan mempelajari interaksi antara iradiasi dengan tekanan osmotik. Dalam penelitian ini, padi var. Sintanur diiradiasi menggunakan sinar gamma Cobalt<sup>60</sup> dengan enam dosis 0 Gy, 100 Gy, 200 Gy, 300 Gy, 400 Gy, 500 Gy. Kemudian masing-masing benih hasil iradiasi ditanam pada empat jenis media yang mengandung Polyethylene glycol (PEG) dengan empat tingkat konsentrasi yaitu I0 (0 g L<sup>-1</sup> PEG), I1 (116.538 g L<sup>-1</sup> PEG), I2 (174.6 g L<sup>-1</sup> PEG) dan I3 (219.547 g L<sup>-1</sup> PEG). Berdasarkan data yang dianalisis, konsentrasi PEG tertinggi untuk seleksi toleran kekeringan pada padi var. Sintanur adalah 174.674 g L<sup>-1</sup> PEG. Terdapat interaksi antara iradiasi dan medium PEG yang mempengaruhi tinggi tanaman dan perbanyakan tunas. LD 50 (*lethal dose 50*) dari padi var. Sintanur adalah 375 Gy.

Kata kunci: LD 50, sintanur, polyethylene glycol

## PENDAHULUAN

Beras merupakan salah satu sumber karbohidrat utama penduduk dunia selain jagung dan gandum. Pemilihan beras sebagai sumber karbohidrat karena kandungan gizinya tinggi, mudahnya proses pengolahan hingga siap dikonsumsi, serta rasanya yang enak dibandingkan sumber karbohidrat lain. Keunggulan beras dengan sumber karbohidrat lain terletak pada kandungan lisinnya yang lebih tinggi dibandingkan dengan sumber karbohidrat lain (Hanny, 2002).

Perakitan varietas dalam pemuliaan tanaman dapat dilakukan secara konvensional maupun secara kultur *in vitro*. Perakitan varietas melalui pemuliaan konvensional salah satunya dapat dilakukan dengan melakukan persilangan, sedangkan pemuliaan tanaman melalui kultur *in vitro* dapat dilakukan melalui beberapa cara yaitu:

1. Induksi variasi somaklonal yang menyebabkan mutasi pada kromosom saat pembelahan sel kalus dan suspensi sel sehingga muncul keragaman genetik yang tidak tampak pada induk asalnya.
2. Mutasi dan transformasi seperti mutasi pada klorofil yang menyebabkan tanaman menjadi albino.
3. Hibridisasi somatik, dan lain-lain (Hartman *et al.*, 1990).

Perakitan varietas dengan induksi mutasi kromosom dapat dilakukan melalui induksi radiasi. Radiasi dapat dilakukan dengan menggunakan sinar gelombang elektromagnetik seperti ultraviolet, sinar-x dan sinar gamma. Sinar gamma dan sinar-x memiliki energi yang cukup tinggi untuk mengionisasi atom pada molekul yang terpapar. Selain cara di atas, radiasi juga dapat terjadi secara alami. Dosis yang diterima oleh objek dipengaruhi oleh jarak antara sumber dan objek radiasi. Dosis yang diterima berbanding terbalik dengan jarak sehingga semakin besar jarak antara sumber dan objek maka radiasi yang diterima akan semakin kecil (Harten, 1998). Tingkat efektivitas radiasi yang diterima tanaman dipengaruhi oleh beberapa faktor internal dan eksternal. Faktor internal yang mempengaruhi tingkat efektivitas radiasi adalah sensitivitas objek yang akan diradiasi. Faktor eksternal yang mempengaruhi tingkat efektivitas radiasi adalah oksigen, kandungan air, kondisi selama penyimpanan setelah radiasi dan suhu (Harten, 1998).

Cekaman kekeringan pada padi dataran rendah varietas IR20 dan IR72 telah diteliti oleh Wopereis *et al.* (1996) dengan cara menanam padi pada pot PVC (*polyvinyl chloride*). Berdasarkan penelitian tersebut, titik kritis tekanan osmotik

tanaman padi yang berada pada pertengahan fase pertumbuhan disaat musim kemarau berkisar antara -50 kPa (kilopascal) hingga -160 kPa, sedangkan pada musim hujan, titik kritis tekanan osmotik berkisar antara -50 kPa hingga -260 kPa (pada umur tanaman yang sama). Apabila permukaan air tanah diturunkan menjadi <-200 kPa, akan mengakibatkan penggulungan daun pada semua varietas dan perlakuan. Penggulungan daun secara penuh akan terjadi bila tekanan osmotik turun hingga -1 Mpa (megapascal) atau lebih rendah.

Berdasarkan penelitian Husni *et al.* (2006), induksi cekaman kekeringan pada tanaman kedelai dapat dilakukan dengan menambahkan *Polyethylene glycol* (PEG) ke dalam media tanam dengan konsentrasi 10%-30%. Hasil penelitian Husni *et al.* (2006) menunjukkan bahwa pembentukan eksplan kedelai akan menurun seiring dengan kenaikan konsentrasi PEG. Pemberian induksi cekaman pada tanaman padi juga telah dilakukan oleh Biswas *et al.* (2001) dengan cara menambahkan PEG sebanyak 5 g L<sup>-1</sup> hingga 15 g L<sup>-1</sup> ke dalam media tanam beras pecah kulit yaitu Murashige and Skoog (MS). Induksi cekaman kekeringan telah dilakukan pula oleh Lestari dan Mariska (2005) pada beberapa jenis padi ladang (gogo), yaitu dengan memberikan PEG dengan konsentrasi 10% (-1,9 bar) hingga 20% (-6,7 bar) pada media saat mengecambahkan benih dengan suhu 29 °C. Berdasarkan penelitian Musa (2008), induksi cekaman kekeringan pada tanaman tebu dapat dilakukan dengan memberikan 10 g L<sup>-1</sup> hingga 20 g L<sup>-1</sup> PEG. Tujuan penelitian ini adalah mempelajari dosis iradiasi sinar gamma cobalt<sup>60</sup> terhadap induksi keragaman genetik pada padi khususnya varietas Sintanur, mempelajari tekanan osmotik (cekaman kekeringan) yang masih dapat diterima padi var. Sintanur hasil induksi mutasi genetik, serta diperoleh calon galur-galur baru yang tahan terhadap kekeringan.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan, Departemen Agronomi dan Hortikultura, Institut Pertanian Bogor. Induksi mutasi kromosom padi dilakukan di Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi Badan Tenaga Atom dan Nuklir (PATIR-BATAN), Jakarta Selatan.

Bahan yang 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, agar-agar, serta *Polyethylene glycol* (PEG) 6000 sebagai penginduksi cekaman kekeringan pada eksplan.

Bahan tanaman yang dipakai adalah benih padi varietas Sintanur. Bahan sterilisasi yang digunakan adalah Sodium Hipoklorit ( $\text{NaClO}_3$ ) 5% dan alkohol. Bahan lain yang digunakan adalah aquades, spirtus, alkohol 70%, *tissue* dan plastik *wrap*. Alat yang dibutuhkan untuk penelitian ini adalah alat iradiasi gamma Chamber dengan sumber radioaktif Cobalt<sup>60</sup>, botol kultur, alat-alat kultur, *autoclave* dan *Laminar Air Flow Cabinet*.

Disain perlakuan dan ulangan menggunakan rancangan acak lengkap faktorial dengan dua faktor yaitu perbedaan dosis iradiasi sebagai faktor I dan perbedaan konsentrasi PEG sebagai faktor II. Perlakuan dosis iradiasi yang digunakan terdiri dari enam taraf yaitu R0=0 Gy, R1=100 Gy, R2=200 Gy, R3=300 Gy, R4=400 Gy, dan R5=500 Gy. Iradiasi sinar gamma yang digunakan berasal dari Cobalt<sup>60</sup>. Jumlah PEG yang dibutuhkan untuk seleksi cekaman kekeringan dapat dihitung dengan menggunakan rumus:

$$Y = -(1.18 \times 10^{-2})C - (1.18 \times 10^{-4})C^2 + (2.67 \times 10^{-4})CT + (8,39 \times 10^{-7})C^2T$$

Y = Tekanan osmotik (bar)

C = Konsentrasi PEG 6000 ( $\text{g L}^{-1}$ )

T = Suhu ( $^{\circ}\text{C}$ ) (Michel and Kaufmann, 1973).

Perlakuan konsentrasi PEG terdiri dari empat taraf yaitu I0 = 0  $\text{g L}^{-1}$ , I1 = 116.538  $\text{g L}^{-1}$  (-0.2 bar), I2 = 174.674  $\text{g L}^{-1}$  (-0.4 bar) dan I3 = 219.547  $\text{g L}^{-1}$  (-0.6 bar). Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 5 ulangan, setiap ulangan terdiri dari 10 benih sehingga terdapat 1,200 satuan amatan. Data yang dihasilkan dianalisis menggunakan uji F, apabila perlakuan berpengaruh nyata pada taraf 5% dilakukan uji lanjut *Duncan Multiple Range Test* (DMRT).

Pelaksanaan percobaan dimulai dari **Sterilisasi Alat Tanam**. Semua peralatan yang akan dipakai dalam kultur jaringan dalam keadaan steril untuk mengurangi persentase kontaminasi. Alat tanam, botol kultur serta *Laminar Air Flow Cabinet* disterilisasi terlebih dahulu sebelum digunakan. Sterilisasi botol kultur, alat kultur serta air steril dilakukan dengan cara memasukkan ke dalam *autoclave* dengan suhu  $121^{\circ}\text{C}$  dan tekanan 17.5 psi (*pound per square inch*) selama 60 menit, sedangkan untuk sterilisasi *Laminar Air Flow Cabinet* dilakukan menggunakan alkohol 70%.

**Persiapan Media Tanam**. Media tanam yang dipakai untuk kultur *in vitro* setelah benih diiradiasi adalah media dasar Murashige-Skoog ditambahkan NAA 0.1  $\text{mg L}^{-1}$  dan BAP 1  $\text{mg L}^{-1}$  serta PEG. PEG yang diberikan sesuai dengan tingkat cekaman pada masing-masing perlakuan. Media yang digunakan disterilkan menggunakan *autoclave* dengan suhu  $121^{\circ}\text{C}$  tekanan 17.5 psi selama 20 menit.

**Iradiasi Bahan Tanam**. Benih yang digunakan sebagai bahan eksplan diiradiasi sesuai dengan dosis yang telah ditentukan. Iradiasi dilakukan pada bulan Maret di 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<sup>60</sup>. Masing-masing dosis iradiasi dilakukan pada 300 butir benih yang telah dimasukkan ke dalam botol kultur bervolume 200 ml.

**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.

**Subkultur**. Subkultur dilakukan setelah kecambah berumur satu bulan setelah tanam dan diulang setiap satu bulan sekali untuk mencegah kematian karena kekurangan unsur hara. Bila kecambah yang akan dipindah tanam memiliki lebih dari dua anakan maka dilakukan pemisahan terlebih dahulu.

Pengamatan yang dilakukan pada masing-masing sampel yaitu LD 50 pada benih yang telah diiradiasi, waktu benih berkecambah dan tipe perkecambahan benih, tinggi tunas, jumlah tunas yang terbentuk dan nilai koefisien keragaman fenotipe (KKF) dengan rumus:

$$\text{KKF} = \frac{\text{Standar deviasi populasi perlakuan}}{\text{Rataan populasi perlakuan}} \times 100\%$$

Kategori keragaman berdasarkan % KKF:

0.00 < % KKF ≤ 24.91	sempit (S)
24.91 < % KKF ≤ 49.71	agak sempit (AS)
49.71 < % KKF ≤ 74.71	agak luas (AL)
74.71 < % KKF ≤ 99.65	luas (L)
>99.65	sangat luas (SL)

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Kondisi Umum

Secara umum eksplan yang di tanam pada media tanpa perlakuan PEG mulai tumbuh saat empat hari setelah tanam. Eksplan yang ditanam

pada media seleksi I1 (116.538 g L<sup>-1</sup> PEG), I2 (174.674 g L<sup>-1</sup> PEG) dan I3 (219.547 g L<sup>-1</sup> PEG) mulai tumbuh pada satu minggu setelah tanam dan semakin tinggi konsentrasi PEG pertumbuhan eksplan semakin terhambat.

Kontaminasi pada kultur terjadi saat eksplan berumur satu minggu setelah tanam (MST). Kontaminasi pada minggu awal disebabkan eksplan yang dipakai merupakan eksplan yang diambil dari lapang. Kontaminasi eksplan semakin tinggi saat dilakukan subkultur pada eksplan. Kontaminasi sebelum subkultur disebabkan oleh cendawan, sedangkan setelah subkultur disebabkan oleh bakteri, dan pada beberapa kultur disertai dengan kontaminasi cendawan.

Eksplan yang diiradiasi mulai menunjukkan pembentukan anakan pada saat berumur 2 MST, sedangkan pada eksplan yang tidak diiradiasi (kontrol) mulai membentuk anakan setelah berumur 4 MST. Jumlah anakan pada setiap perlakuan semakin meningkat setelah dilakukan subkultur akan tetapi penambahan anakan tidak menunjukkan pola tertentu. Pembentukan akar pada eksplan tidak menunjukkan perbedaan yang berarti, akan tetapi pada beberapa perlakuan pembentukan akar terjadi sangat cepat. Beberapa eksplan pada perlakuan tertentu tidak mampu membentuk akar setelah disubkultur. Perbedaan morfologi lainnya adalah perbedaan lebar daun.

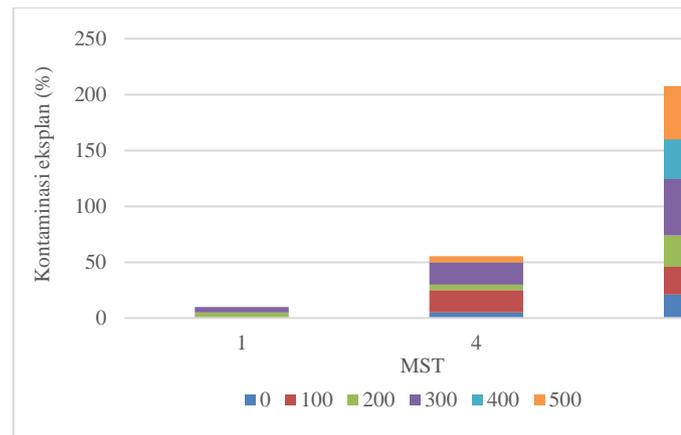
**Kontaminasi**

Kontaminasi pada kultur disebabkan baik oleh cendawan maupun bakteri. Sumber kontaminan dapat berasal dari faktor eksternal maupun faktor internal. Kontaminan yang berasal dari eksternal dapat berasal dari kebersihan ruang tanam, alat tanam serta laminar yang digunakan. Faktor luar lain yang mempengaruhi kontaminasi eksplan adalah kurangnya ketelitian pada saat menanam. Kontaminan yang berasal dari faktor internal adalah dari bahan tanam yang digunakan.

Kontaminasi pada kultur mulai terlihat pada saat satu minggu setelah tanam dan semakin meningkat hingga minggu ke delapan (Tabel 1. Rekapitulasi sidik ragam pengaruh iradiasi Co<sup>60</sup> dan PEG terhadap tinggi kecambah padi var. Sintanur

Umur Eksplan	Perlakuan			KK (%)
	Iradiasi	Media	Iradiasi*Media	
1 MST	**	**	**	29.16 6
5 MST	**	**	**	61.61 8

Keterangan: \*\* menunjukkan pengaruh yang sangat nyata menurut uji DMRT taraf α=1%, KK = koefisien keragaman

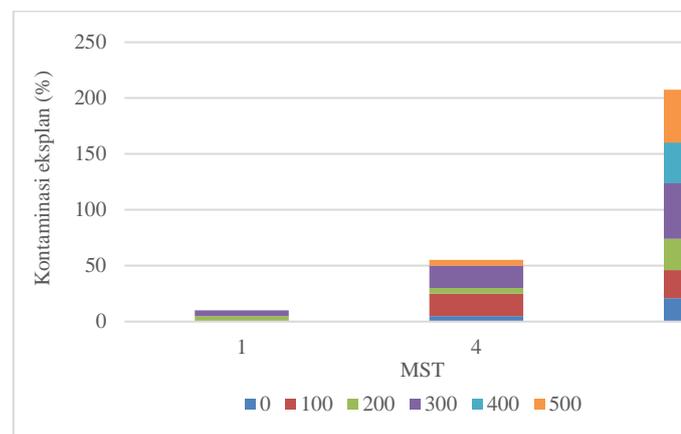


). Kontaminasi semakin meningkat setelah dilakukan subkultur. Kontaminasi yang terjadi didominasi oleh kontaminasi media akibat cendawan.

Kontaminasi yang terjadi pada minggu pertama setelah tanam dapat disebabkan oleh kegagalan sterilisasi bahan tanam. Persentase kontaminasi yang sangat tinggi dapat juga disebabkan oleh jumlah eksplan yang ditanam perbotol. Jumlah eksplan yang terlalu banyak di tanam dalam botol menyebabkan kontaminasi cepat menyebar. Selain itu, media PEG yang cair menyebabkan sulitnya menyelamatkan eksplan yang belum terkontaminasi. Persentase kontaminasi yang semakin meningkat setelah dilakukan subkultur (Tabel 1. Rekapitulasi sidik ragam pengaruh iradiasi Co<sup>60</sup> dan PEG terhadap tinggi kecambah padi var. Sintanur

Umur Eksplan	Perlakuan			KK (%)
	Iradiasi	Media	Iradiasi*Media	
1 MST	**	**	**	29.16 6
5 MST	**	**	**	61.61 8

Keterangan: \*\* menunjukkan pengaruh yang sangat nyata menurut uji DMRT taraf α=1%, KK = koefisien keragaman



) dapat disebabkan oleh kurang bersihnya laminar

yang dipakai pada saat subkultur serta terlalu lamanya eksplan berada di luar botol kultur.

**Daya Berkecambah dan Morfologi Eksplan**

Selain ditanam pada media kultur, benih juga dikecambahkan dengan menggunakan metode uji kertas digulung didirikan dalam plastik (UKDdp). Benih yang dikecambahkan disimpan pada wadah yang telah diatur agar kelembabannya tinggi serta mendapatkan sinar matahari yang cukup. Setelah tujuh hari, hasil uji dapat dilihat dan dikelompokkan ke dalam kriteria kecambah normal, abnormal dan mati. Daya berkecambah benih dilihat dari perbandingan jumlah kecambah normal dengan jumlah kecambah abnormal dan mati. Kecambah dapat dikategorikan sebagai kecambah abnormal jika tidak memiliki akar primer, akar sekunder serta plumula (calon daun) tidak berkembang.

Berdasarkan hasil uji UKDdp terhadap daya berkecambah yang telah dilakukan, perlakuan R0 (tanpa iradiasi) memiliki daya berkecambah yang paling tinggi, sedangkan perlakuan R5 (500 Gy) memiliki daya berkecambah yang paling rendah (**Error! Reference source not found.**). Diperoleh data, semakin tinggi dosis iradiasi daya berkecambah benih semakin menurun. Hal ini

menunjukkan bahwa iradiasi yang dilakukan membuat viabilitas benih semakin menurun. Diperkirakan iradiasi yang diberikan merusak komponen benih, baik fisiologi maupun genetik benih.

LD50 (*lethal dose 50*) merupakan dosis iradiasi yang menyebabkan kematian eksplan 50% dari populasi objek yang diiradiasi (Harten, 1998). LD 50 diamati pada benih yang ditanam pada media I0 (media kontrol) hal ini bertujuan untuk meminimalisir pengaruh kematian eksplan karena tekanan osmotik tinggi. Selain itu LD 50 pada saat kultur berumur lima minggu, bertujuan untuk mempelajari kemampuan hidup eksplan setelah diiradiasi oleh sinar gamma (Gambar ).

Berdasarkan hasil analisis data, dosis iradiasi berpengaruh sangat nyata terhadap persentase kematian eksplan dengan respon linier dengan persamaan  $y = -2.19 + 0.139 x$  dan nilai  $R^2 = 0.86$  (Gambar ). Penambahan dosis iradiasi meningkatkan persentase kematian kecambah. Berdasarkan persamaan di atas LD 50 untuk padi varietas Sintanur diperoleh pada dosis iradiasi 375 Gy yaitu dengan cara:

$$Y = -2.19 + 0.139x$$

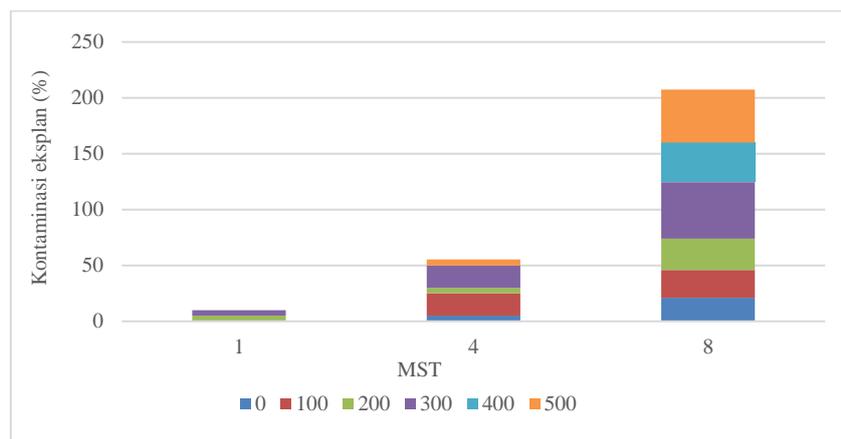
$$50 = -2.19 + 0.139x \rightarrow x = \frac{50 + 2.19}{0.139}$$

$$= 375.467 \rightarrow \approx 375 \text{ Gy}$$

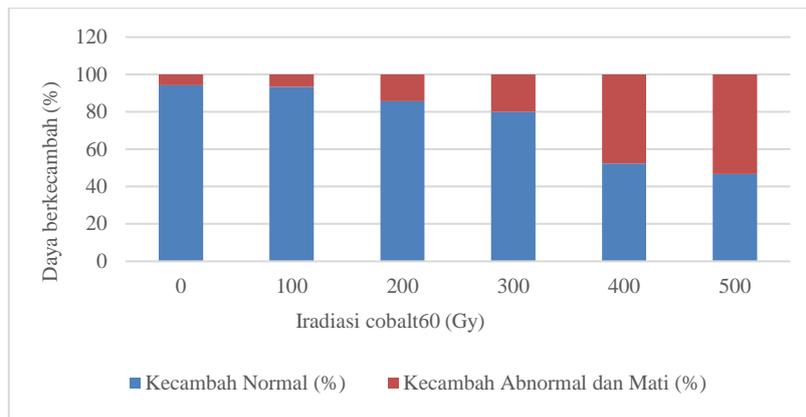
Tabel 1. Rekapitulasi sidik ragam pengaruh iradiasi  $Co^{60}$  dan PEG terhadap tinggi kecambah padi var. Sintanur

Umur Eksplan	Perlakuan			KK (%)
	Iradiasi	Media	Iradiasi*Media	
1 MST	**	**	**	29.166
5 MST	**	**	**	61.618

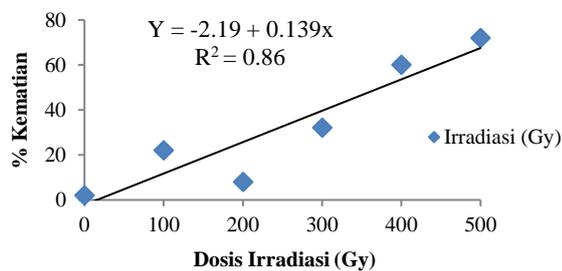
Keterangan: \*\* menunjukkan pengaruh yang sangat nyata menurut uji DMRT taraf  $\alpha=1\%$ , KK = koefisien keragaman



Gambar 1. Persentase kontaminasi eksplan kultur padi secara *in vitro* hasil iradiasi sinar gamma  $Co^{60}$



Gambar 2. Persentase daya berkecambah benih padi varietas Sintanur yang telah diberi perlakuan iradiasi sinar gamma  $Co^{60}$



Gambar 3. Grafik pengaruh dosis iradiasi terhadap persentase kematian kecambah padi

Beberapa benih yang telah ditanam pada media kultur perlahan-lahan memperlihatkan tanda-tanda kematian seperti menghitamnya daun sebelum dilakukan subkultur. Pada beberapa eksplan lainnya tanda-tanda kematian mulai terlihat setelah dilakukan subkultur. Eksplan yang mulai mengalami gejala kematian sebelum dilakukan subkultur dapat disebabkan oleh rusaknya embrio akibat iradiasi sinar gamma yang tinggi maupun proses sterilisasi yang dilakukan. Iradiasi sinar gamma diperkirakan menyebabkan susunan DNA dan membran rusak sehingga eksplan yang diiradiasi tidak mampu bertahan hidup seperti eksplan kontrol (tanpa iradiasi).

Beberapa eksplan yang telah disubkultur mulai berwarna kehitaman terutama pada bagian daun tua, pangkal daun dan akar yang terpotong. Pada awalnya hanya bagian yang terluka karena dipotong dengan pisau *scalpel* saja yang menunjukkan tanda kematian yaitu berwarna menghitam. Akan tetapi setelah satu minggu kemudian daun muda hingga titik tumbuh menghitam. Menghitamnya eksplan disebabkan oleh terbentuknya senyawa fenolik yang teroksidasi. Senyawa fenolik yang teroksidasi akan membentuk fenoksil radikal. Fenoksil radikal yang terbentuk ada yang mudah terdegradasi dan ada

pula yang sulit terdegradasi. Fenoksil radikal yang sulit terdegradasi inilah yang membahayakan tanaman (Sakihama *et al.*, 2002).

Secara alami, tanaman yang diberi cekaman kekeringan akan membentuk mekanisme ketahanan yaitu dengan cara meningkatkan pembentukan senyawa tertentu seperti antosianin, flavonoid, fenolik, hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ), serta *malondialdehyde* (Sakihama *et al.*, 2002 dan Basu *et al.*, 2010). Senyawa  $H_2O_2$  yang dihasilkan oleh tanaman akan menonaktifkan beberapa enzim yang terkait dengan siklus Calvin pada proses fotosintesis (Smirnov, 1993). Terganggunya siklus Calvin menyebabkan terbentuknya *singlet* oksigen ( $O_2^{\cdot}$ ). *Singlet* oksigen terbentuk secara alami pada tanaman seperti pada klorofil, *protoporphyrin IX*, serta pada komponen sekunder (*quinones*, *thiopenes*, *furanocoumarines* serta *polyacetylenes*) dan relatif bersifat reaktif. Singlet oksigen juga bersifat elektrofilik sehingga mampu menggantikan ikatan ganda (oksidasi) komponen tanaman seperti asam lemak tak jenuh, *histidine*, *methionine*, *tryptophan* dan guanin (Smirnov, 1993, Sakihama *et al.*, 2002 dan Li *et al.*, 2010). Diduga oksidasi asam lemak serta denaturasi protein yang terjadi pada klorofil yang menyebabkan tanaman menjadi kehilangan klorofil dan mati.

Pada dasarnya tanaman mampu membentuk senyawa antioksidan untuk mempertahankan hidupnya. Akan tetapi hal tersebut dapat dilakukan bila tanaman terkena cekaman kekeringan dalam periode waktu yang singkat. Apabila tanaman terkena cekaman kekeringan dalam waktu yang relatif lama, tanaman tidak mampu menyeimbangkan pembentukan antioksidan dengan senyawa reaktif oksigen (De Carvalho, 2008) seperti yang terlihat pada Gambar .

Secara morfologi, kecambah memiliki beberapa perbedaan terutama pada tinggi dan jumlah anakan. Perbedaan tinggi eksplan sangat dipengaruhi oleh faktor iradiasi dan media

perlakuan seperti yang terlihat pada Pemberian dosis iradiasi yang semakin tinggi akan menghambat metabolisme, sehingga akan menghambat pertumbuhan tinggi eksplan.

Selain perlakuan R0, nilai tinggi eksplan yang lebih besar belum dapat dikatakan bahwa perlakuan tersebut yang menghasilkan mutan yang terbaik. Hal ini disebabkan mutasi yang terjadi pada setiap benih masih bersifat acak dan membutuhkan kegiatan subkultur hingga tanaman yang dihasilkan memiliki penampilan serta genetik yang seragam. Selain itu, perbedaan penampilan dapat disebabkan oleh respon masing-masing benih terhadap perlakuan berbeda.

Eksplan yang ditanam pada media IO menunjukkan pertumbuhan tinggi rata-rata yang paling besar (**Error! Reference source not found.**). Hal ini disebabkan media IO tidak ditambahkan PEG sehingga eksplan tidak

. Koefisien keragaman (KK) yang terlihat pada minggu pertama setelah tanam lebih kecil bila dibandingkan dengan minggu kelima setelah tanam. Hal ini terjadi karena pada minggu pertama belum semua benih berkecambah dan rata-rata pertumbuhannya seragam, sedangkan pada minggu kelima setelah tanam mulai terlihat pengaruh dari perlakuan iradiasi dan media yang diberikan. Selain itu KK yang tinggi menandakan adanya pengaruh iradiasi yang menyebabkan genetik setiap eksplan berbeda.

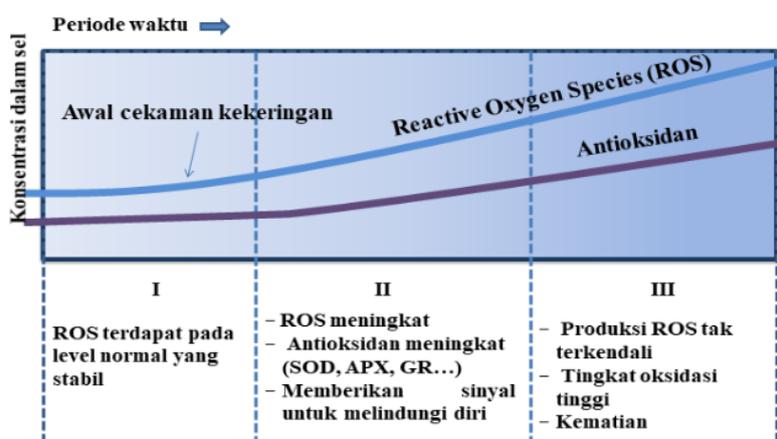
Tinggi kecambah pada setiap perlakuan meningkat dari minggu pertama hingga kelima, namun pertumbuhan tinggi pada masing-masing

mengalami hambatan pertumbuhan. Rata-rata tinggi eksplan semakin menurun seiring dengan meningkatnya konsentrasi PEG. Keadaan ini menunjukkan bahwa simulasi cekaman kekeringan yang diberikan menghambat proses pertumbuhan eksplan. Cekaman kekeringan bahkan dapat menyebabkan terganggunya proses metabolisme tanaman serta menyebabkan kematian.

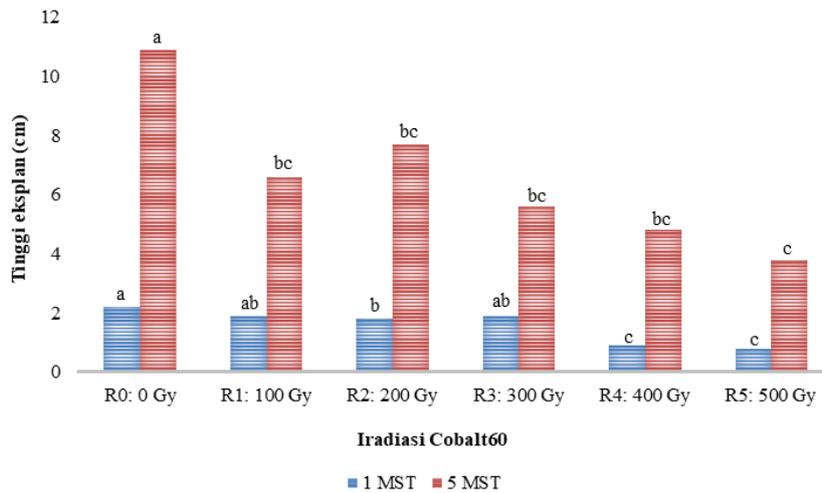
### Jumlah anakan

Iradiasi sinar gamma yang diberikan menyebabkan kecambah mampu menghasilkan jumlah anakan yang lebih banyak bila dibandingkan dengan kecambah yang tidak diberi perlakuan iradiasi. Pada media kontrol (IO) planlet yang tidak diberi perlakuan iradiasi (R0) mampu menghasilkan paling banyak 13 anakan pada minggu terakhir (Gambar 7).

perlakuan berbeda. Nilai rata-rata tinggi yang paling besar ditunjukkan oleh kecambah yang tidak diiradiasi (R0) dan pertumbuhan yang paling kecil adalah R5 (Gambar 5). Perlakuan iradiasi sinar gamma sebagian besar memberikan pengaruh pertumbuhan yang lambat. Akan tetapi pada minggu kelima, tinggi eksplan pada perlakuan R2 lebih tinggi dibandingkan dengan tinggi eksplan pada perlakuan R1 (Gambar 5). Hal ini membuktikan bahwa pengaruh iradiasi sinar gamma terhadap tanaman bersifat acak, sehingga diperlukan pembuktian secara genetik untuk melihat mutasi yang terjadi. Hal yang sama terjadi pada wasabi (Hung, 2008) dan *Tricyrtis hirta/Japanese toad lily* (Nakano et al., 2010).



Gambar 4. Reaksi tanaman bila diberikan cekaman kekeringan dengan periode tertentu. (De Carvalho, 2008)



Gambar 5. Pengaruh perlakuan iradiasi cobalt<sup>60</sup> terhadap rata-rata tinggi kecambah pada minggu pertama dan kelima

Pemberian dosis iradiasi yang semakin tinggi akan menghambat metabolisme, sehingga akan menghambat pertumbuhan tinggi eksplan.

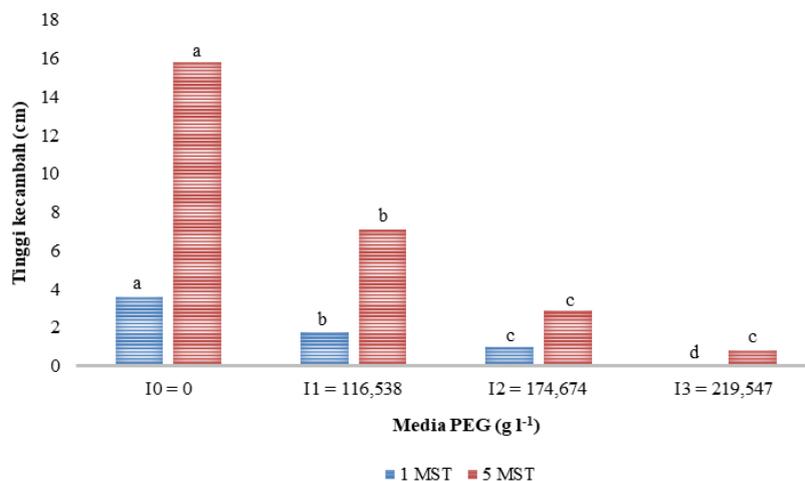
Selain perlakuan R0, nilai tinggi eksplan yang lebih besar belum dapat dikatakan bahwa perlakuan tersebut yang menghasilkan mutan yang terbaik. Hal ini disebabkan mutasi yang terjadi pada setiap benih masih bersifat acak dan membutuhkan kegiatan subkultur hingga tanaman yang dihasilkan memiliki penampilan serta genetik yang seragam. Selain itu, perbedaan penampilan dapat disebabkan oleh respon masing-masing benih terhadap perlakuan berbeda.

Eksplan yang ditanam pada media IO menunjukkan pertumbuhan tinggi rata-rata yang paling besar (**Error! Reference source not found.**). Hal ini disebabkan media IO tidak ditambahkan PEG sehingga eksplan tidak

mengalami hambatan pertumbuhan. Rata-rata tinggi eksplan semakin menurun seiring dengan meningkatnya konsentrasi PEG. Keadaan ini menunjukkan bahwa simulasi cekaman kekeringan yang diberikan menghambat proses pertumbuhan eksplan. Cekaman kekeringan bahkan dapat menyebabkan terganggunya proses metabolisme tanaman serta menyebabkan kematian.

### Jumlah anakan

Iradiasi sinar gamma yang diberikan menyebabkan kecambah mampu menghasilkan jumlah anakan yang lebih banyak bila dibandingkan dengan kecambah yang tidak diberi perlakuan iradiasi. Pada media kontrol (IO) planlet yang tidak diberi perlakuan iradiasi (R0) mampu menghasilkan paling banyak 13 anakan pada minggu terakhir (Gambar 7).



Gambar 6. Pengaruh perlakuan media PEG terhadap rata-rata tinggi kecambah padi var. Sintanur setelah iradiasi yang ditumbuhkan secara *in vitro*

Sedangkan pada kecambah yang diberi perlakuan iradiasi sinar gamma, jumlah anakan terbanyak yang dihasilkan mencapai 54 anakan yaitu pada perlakuan R4 (Gambar 7). Pada media dengan penambahan PEG sebesar 116.538 g L<sup>-1</sup> (I2) jumlah anakan terbanyak dihasilkan oleh perlakuan kontrol yaitu sebesar 23 anakan (Gambar 7). Perlakuan iradiasi sinar gamma 500 Gy memiliki jumlah anakan tertinggi pada media dengan penambahan 174.674 g L<sup>-1</sup> (I3). Pada media I3 dengan penambahan 219.547 g L<sup>-1</sup> PEG, tidak ada planlet yang mampu membentuk anakan (Gambar ). Hal ini dapat disebabkan oleh cekaman kekeringan yang terlalu tinggi menyebabkan kematian pada kecambah.

Multiplikasi anakan terjadi pada semua perlakuan baik kontrol maupun pada kecambah yang diberi perlakuan iradiasi dan cekaman kekeringan. Multiplikasi anakan terjadi mulai dari minggu kedua setelah tanam seperti yang terlihat pada Tabel . Sebagian besar perlakuan memberikan pengaruh terhadap jumlah anakan. Namun saat minggu keenam perlakuan iradiasi tidak memberikan pengaruh terhadap jumlah anakan. Perlakuan media memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap jumlah anakan mulai dari minggu kedua pengamatan hingga minggu terakhir pengamatan.

Berdasarkan Gambar , perlakuan iradiasi sinar gamma 400 Gy (R4) memiliki jumlah anakan terbanyak mulai minggu kedua hingga minggu keenam dan minggu kedelapan setelah tanam. Akan tetapi pada minggu ketiga terjadi penurunan jumlah anakan, yang disebabkan oleh adanya eksplan yang terkontaminasi dan mati.

Perlakuan iradiasi 200 Gy (R2) memiliki jumlah anakan tertinggi pada minggu ketujuh pengamatan (7 MST). Meskipun memiliki jumlah anakan yang tertinggi pada minggu ketiga, jumlah anakan pada perlakuan R4 mengalami penurunan. Penurunan jumlah anakan disebabkan oleh kematian eksplan pada perlakuan tersebut. Kematian eksplan dapat terjadi akibat perlakuan radiasi dosis tinggi maupun kontaminasi.

Meskipun pada minggu kedelapan perlakuan R4 memiliki jumlah anakan yang tinggi hingga mencapai 54 anakan (Gambar 7). Akan tetapi rata-rata jumlah anakan yang dihasilkan hanya sebesar 1.502 anakan (Gambar ). Hal ini disebabkan oleh banyaknya eksplan yang tidak menghasilkan anakan pada media perlakuan lainnya. Benih perlakuan R4 yang di tanam pada media kontrol I0 mampu menghasilkan jumlah anakan yang banyak karena pada media tersebut tidak terjadi cekaman kekeringan. Sedangkan benih yang ditanam pada media seleksi cekaman kekeringan (I1,I2 dan I3) tidak mampu membentuk anakan, bahkan sebagian besar mati, sehingga nilai rata-rata jumlah anakan yang dihasilkan kecil.

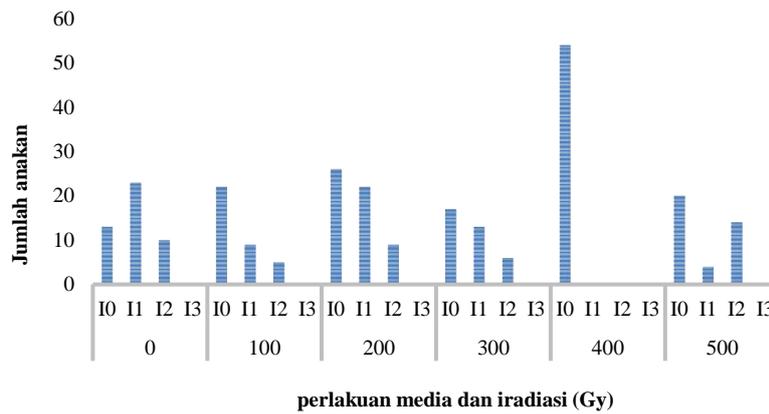
Eksplan yang ditanam pada media tanpa PEG (I0) memiliki rata-rata jumlah anakan yang lebih banyak bila dibandingkan dengan jumlah anakan pada media dengan penambahan PEG. Seperti yang telah dibahas sebelumnya, mekanisme tanaman bila terkena cekaman kekeringan akan menghasilkan beberapa senyawa yang mampu menghambat pertumbuhan eksplan sehingga eksplan akan mati. Pada media seleksi I3 (219.547 g L<sup>-1</sup> PEG), tidak ada eksplan yang mampu membentuk anakan. Hal ini dapat disebabkan padi varietas sintanur tidak mampu tumbuh dengan baik apabila terkena cekaman kekeringan -0,6 bar.

Berbeda dengan benih padi, wasabi yang diradiasi dengan sinar gamma 10 Gy, 20 Gy, 40 Gy dan 80 Gy memiliki jumlah tunas yang lebih sedikit seiring dengan meningkatnya dosis (Hung, 2008). Akan tetapi berdasarkan penelitian telah dilakukan pada *Tricyrtis hirta*, iradiasi ion <sup>12</sup>C<sup>+6</sup> mampu meningkatkan jumlah tunas per eksplan (Nakano *et. al.*, 2010). Namun pada saat dosis iradiasi 20 Gy, jumlah tunas lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan dosis 10 Gy (Nakano *et. al.*, 2010). Berdasarkan data di atas, terdapat 82 padi mutan yang memiliki potensi untuk dikembangkan menjadi klon yang tahan kekeringan. Selain itu, terdapat 139 mutan potensial yang belum diuji ketahanan kekeringan lebih lanjut.

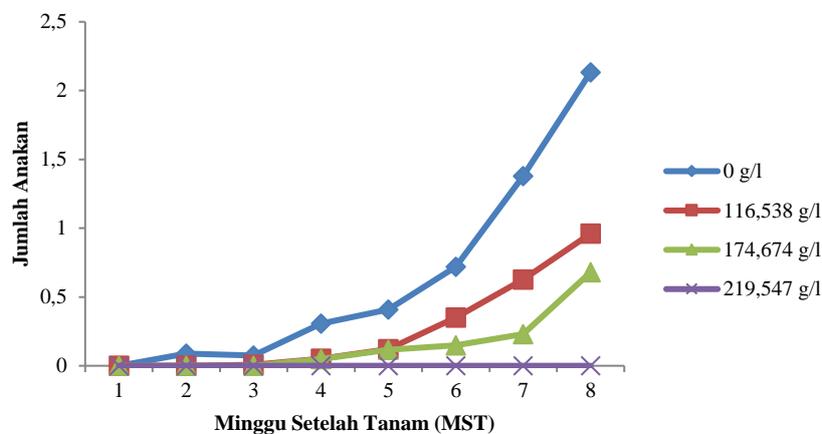
Tabel 2. Rekapitulasi sidik ragam pengaruh perlakuan iradiasi dan media PEG terhadap jumlah anakan

Umur Kultur	Perlakuan			KK (%)
	Iradiasi	Media	Iradiasi*Media	
2 MST	**	**	**	7.02
3 MST	**	**	**	3.71
4 MST	**	**	**	13.04
5 MST	tn	**	**	16.88
6 MST	tn	**	**	19.45
7 MST	tn	**	*	26.25
8 MST	tn	**	**	33.78

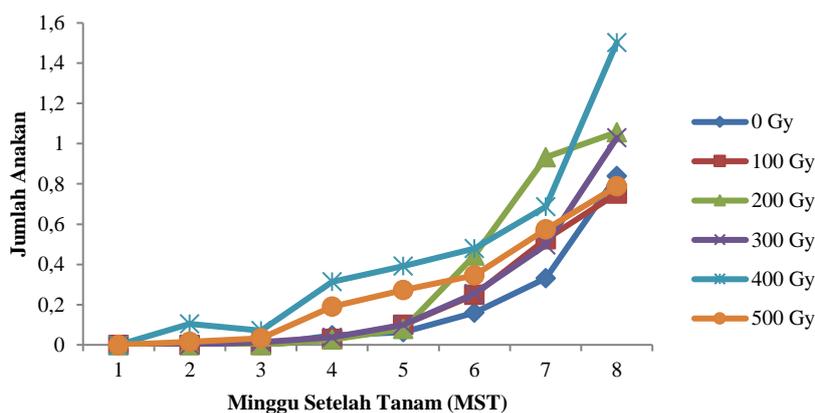
Keterangan: \*\* menunjukkan pengaruh yang sangat nyata menurut uji DMRT taraf 1%. \* menunjukkan pengaruh nyata menurut uji DMRT taraf 5%. KK = koefisien keragaman. Data telah ditransformasi dengan rumus  $\sqrt{(x + 0,5)}$



Gambar 7. Pengaruh perlakuan iradiasi dan media terhadap jumlah anakan terbanyak pada minggu kedelapan



Gambar 8. Pengaruh perlakuan PEG terhadap rata-rata jumlah anakan



Gambar 9. Grafik pengaruh perlakuan iradiasi sinar gamma cobalt<sup>60</sup> terhadap rata-rata jumlah anakan

### Jumlah akar

Perlakuan iradiasi sinar gamma tidak memberikan pengaruh yang berbeda terhadap pertumbuhan akar. Akan tetapi pada beberapa mutan ditemukan pertumbuhan akar yang lebih cepat dibandingkan dengan kecambah lainnya, yaitu pada perlakuan iradiasi 300 Gy dan 500 Gy.

Perlakuan seleksi kekeringan memberikan pengaruh terhadap pembentukan akar. Semakin tinggi konsentrasi PEG dalam media maka akar yang terbentuk akan semakin sedikit.

### Keragaman fenotipe padi var Sintanur

Iradiasi sinar gamma meningkatkan keragaman tanaman padi var Sintanur terutama

jumlah anakan dan tinggi kecambah. Keragaman yang terjadi pada jumlah anakan dan tinggi kecambah termasuk dalam kategori sangat luas. Nilai KKF tertinggi pada pengamatan jumlah anakan terdapat pada perlakuan iradiasi 300 Gy yaitu sebesar 400. Nilai koefisien keragaman tertinggi pada tinggi kecambah diperoleh pada perlakuan iradiasi 500 Gy yaitu sebesar 153.06. Selain iradiasi, pemberian PEG pada media seleksi juga menyebabkan timbulnya keragaman. Akan tetapi keragaman yang dihasilkan tidak sebesar keragaman yang dihasilkan akibat iradiasi dan cenderung menurun setiap minggu pengamatan. Interaksi antara media PEG dan iradiasi meningkatkan nilai KKF baik pada tinggi maupun pada jumlah anakan. Akan tetapi pada beberapa perlakuan nilai KKF yang dihasilkan menurun pada setiap minggu pengamatan. Hal ini dapat disebabkan oleh banyaknya tanaman yang mati di setiap minggu pengamatan baik oleh kontaminasi maupun akibat seleksi kekeringan.

### KESIMPULAN

Berdasarkan data yang diperoleh, konsentrasi PEG paling tinggi yang dapat digunakan untuk seleksi kekeringan padi varietas Sintanur adalah 174.674 g L<sup>-1</sup>. Hal ini disebabkan tanaman masih dapat berproliferasi pada konsentrasi tersebut. Perlakuan iradiasi sinar gamma dan media seleksi kekeringan meningkatkan keragaman semua peubah pengamatan. Keragaman yang dihasilkan oleh iradiasi dan media seleksi kekeringan termasuk ke dalam kategori sangat luas. Sedangkan interaksi yang dihasilkan dari interaksi keduanya termasuk ke dalam kategori agak luas pada peubah jumlah anakan dan agak sempit pada peubah tinggi kecambah. Berdasarkan percobaan diperoleh 221 mutan potensial. Interaksi antara iradiasi sinar gamma dan media seleksi kekeringan mempengaruhi tinggi kecambah serta jumlah anakan. Iradiasi sinar gamma memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap jumlah anakan pada minggu kedua hingga keempat. Perlakuan media seleksi kekeringan dengan PEG memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap jumlah anakan pada minggu kedua hingga minggu kedelapan. LD 50 padi varietas Sintanur diperoleh saat benih diiradiasi sinar gamma dengan dosis 375 Gy.

### DAFTAR PUSTAKA

Basu, S., A. Roychoudhury, P. P. Saha, D. N. Sengupta. 2010. Differential antioxidative responses of indica rice cultivars to drought stress. *Plant Growth Regul.* 60:51-59.

- Biswas, J., B. Chowdhury, A. Bhattacharya, A. B. Mandal. 2002. In vitro screening for increased drought tolerance in rice. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant.* 38:525-530.
- De Carvalho, M. H. C. 2008. Review drought stress and reactive oxygen species. *Plant Signaling & Behavior.* 3(3):156-165.
- Hanny. 2002. Beras makanan pokok sumber protein. <http://www.gizi.net/cgi-bin/berita/fullnews.cgi?newsid1028376933,9249>. [31 Januari 2011]
- Harten, van A. M. 1998. *Mutation Breeding, Theory and Practical Application*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Hartman, H. T., D. E. Kester, F. T. Davies. 1990. *Plant Propagation, Principles and Practices*. 5th edition. Prentice Hall International, Inc. New Jersey.
- Hung, C. D., K. Johnson. 2008. Effects of ionizing radiation on the growth and allyl isothiocyanate accumulation of *Wasabia japonica* in vitro and ex vitro. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant.* 44:51-58.
- Husni, A., M. Kosmiatin, I. Mariska. 2006. Peningkatan toleransi kedelai sindoro terhadap kekeringan melalui seleksi *in vitro*. *Bul. Agron.* 34(1):25-31.
- Lestari, E. G., I. Mariska. 2006. Identifikasi somaklon padi Gajahmungkur, Towuti dan IR 64 tahan kekeringan menggunakan *polyethylene glycol*. *Bul. Agron.* 34(2):71-78.
- Li, Z. H., Q. Wang, X. Ruan, C. D. Pan, D. A. Jiang. 2010. Phenolics and plant allelopathy. *Molecules* 15:8933-8952.
- Michel, B. E., M. R. Kaufmann. 1973. The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. *Plant Physiol.* 51:914-916.
- Musa, Y. 2008. Penggunaan *polyethylene glycol* (PEG) sebagai seleksi ketahanan kalus dan planlet beberapa varietas tebu terhadap sifat kekeringan. *J. Agrivigor* 7:130-140.
- Nakano, M., J. Amano, Y. Watanabe, T. Nomizu, M. Suzuki, K. Mizunashi, S. Mori, S. Kuwayama, D. S. Han, H. Saito, H. Ryuto, N. Fukunishi, T. Abe. 2010. Morphological variation in *Tricyrtis hirta* plants regenerated from heavy ion beam-irradiated embryogenic calluses. *Plant Biotechnology.* 27:155-160.
- Sakihama, Y., M. F. Cohen, S. C. Grace, H. Yamasaki. 2002. Plant phenolic antioxidant and prooxidant activities: phenolics-induced oxidative damage mediated by metals in plants. *Toxicology.* 177:67-80.

Smirnoff, N. 1993. Tansley Review No. 52: The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and dessication. *New Phytol.* 125:27-58.

Wopereis, M.C.S., M.J. Kropff, A.R. Maligaya, T.P. Tuong. 1996. Drought-stress responses of two lowland rice cultivars to soil water status. *Field Crops Research.* 46:21-39.