

Pengaruh Iradiasi Sinar Gama terhadap Pertumbuhan dan Regenerasi Kalus Padi Varietas Ciherang dan Inpari 13

Rossa Yunita^{1*}, Nurul Khumaida², Didy Sopandie², dan Ika Mariska¹

¹Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian, Jl. Tentara Pelajar 3A, Bogor 16111
Telp. (0251) 8337975; Faks. (0251) 8338820; *E-mail: rossa_yunita@yahoo.com

²Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor

Diajukan: 12 Agustus 2014; Diterima: 6 November 2014

ABSTRACT

Effect of Gamma Irradiation on the Growth Callus and Regeneration of Rice Variety Ciherang and Inpari 13. *Rossa Yunita, Nurul Khumaida, Didy Sopandie, and Ika Mariska.* Effect of gamma irradiation on rice callus depends on the irradiation dose used. Irradiation dose is one of the factors that affect the genetic changes in the cells of plants. High doses can result in tissue death, meanwhile low doses will result in abnormal changes in plant phenotype. The level of sensitivity of a plant tissue against gamma irradiation is different. This study aimed to evaluate the growth and regeneration of callus in various irradiation doses of gamma ray. The plant materials used were mature embryos of rice var. Ciherang and Inpari 13. This study used a completely randomized design with gamma irradiation treatment at doses of 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, and 100 Gy. Each treatment consisted of 10 replicates with 5 embryogenic calli per bottle. The results showed that the increasing doses of gamma irradiation increased the percentage of dead callus, inhibited callus growth, and its ability to regenerate. The high percentages of callus of Ciherang and Inpari 13 that formed green spots and adventitious shoots were mostly obtained from controls. The percentages decreased at irradiation doses of 10, 20, 30, and 40 Gy. Moreover, the calli of Ciherang and Inpari 13 were not able to form adventitious shoots at irradiation doses higher than 40 Gy and 30 Gy, respectively.

Keywords: Irradiation dose, lethal dose irradiation, rice callus, gamma ray.

ABSTRAK

Pengaruh Iradiasi Sinar Gama terhadap Pertumbuhan dan Regenerasi Kalus Padi Varietas Ciherang dan Inpari 13. *Rossa Yunita, Nurul Khumaida, Didy Sopandie, dan Ika Mariska.* Pengaruh iradiasi sinar gama terhadap kalus padi bergantung pada dosis iradiasi yang digunakan. Dosis iradiasi merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi perubahan sifat genetik pada sel tanaman. Dosis iradiasi yang tinggi dapat mengakibatkan kematian jaringan, sedangkan dosis iradiasi rendah akan mengakibatkan perubahan abnormal pada fenotipe tanaman. Tingkat sensitivitas suatu jaringan tanaman terhadap iradiasi sinar gama berbeda-beda. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pertum-

buhan dan regenerasi kalus pada berbagai dosis iradiasi sinar gama. Bahan tanaman yang digunakan pada penelitian ini adalah embrio dewasa padi varietas Ciherang dan Inpari 13. Untuk induksi kalus digunakan media MS + 2,4-D 3 mg/l + kasein hidrolisat 3 g/l + prolin 100 mg/l, sedangkan untuk regenerasi digunakan MS + BA 5 mg/l + TDZ 0,1 mg/l + prolin 100 mg/l. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan perlakuan iradiasi sinar gama pada dosis 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, dan 100 Gy. Setiap perlakuan terdiri atas 10 ulangan dengan 5 kalus embriogenik per botol. Hasil penelitian menunjukkan dengan peningkatan dosis iradiasi sinar gama, persentase kalus yang mati meningkat, pertumbuhan kalus terhambat, dan kemampuan kalus untuk beregenerasi menurun. Persentase kalus membentuk spot hijau dan tunas adventif pada varietas Ciherang dan Inpari 13 paling banyak berasal dari kontrol. Persentasenya menurun dengan perlakuan iradiasi pada dosis 10, 20, 30, dan 40 Gy. Pada perlakuan iradiasi pada dosis yang lebih tinggi daripada 40 Gy untuk Ciherang dan 30 Gy untuk Inpari 13, kalus tidak mampu membentuk tunas adventif.

Kata kunci: Dosis iradiasi, iradiasi dosis letal, kalus padi, sinar gama.

PENDAHULUAN

Mutasi buatan merupakan salah satu metode yang telah terbukti dapat meningkatkan keragaman genetik yang dapat diaplikasikan untuk mendukung program pemuliaan tanaman. Mutasi buatan dapat dilakukan dengan perlakuan bahan mutagen, baik fisik maupun kimiawi. Mutagen fisik, yaitu radiasi sinar X dan sinar gama, dan mutagen kimia, yaitu EMS dan DEMS, sering digunakan dalam pemuliaan tanaman (Kovacs dan Keresztes, 2002).

Dari kedua mutagen tersebut, yang paling banyak digunakan adalah mutagen fisik sinar gama karena frekuensi hasil mutasi lebih tinggi dan lebih mudah diaplikasikan (Van Hatén dan Tomson, 1998). Energi yang berasal dari iradiasi dapat menyebabkan perubahan struktur dan jumlah kromosom, mengganggu sistem pembelahan sel, sehingga dapat mengubah aktivitas gen. Hal ini akan menyebabkan terjadinya perubahan genetik dalam sel somatik (mutasi somatik)

yang berakibat terjadinya perubahan fenotipe dan sifat yang diwariskan pada turunannya. Metode ini paling banyak digunakan dalam kurun waktu 70 tahun terakhir dan telah dilepas 2.250 varietas tanaman mutan di seluruh dunia (Maluszynski *et al.*, 2000). Pada tanaman padi, metode ini dapat dimanfaatkan untuk merakit varietas baru yang memiliki karakter adaptasi yang baik terhadap cekaman, baik biotik maupun abiotik (Maluszynski *et al.*, 1995).

Untuk menghasilkan tanaman padi mutan, perlakuan iradiasi umumnya diberikan pada biji. Radiasi sinar gama pada biji padi dapat mengakibatkan mutasi pada berbagai segmen kromosom dari sel embrio seperti daerah *scutelum* dan sumbu embrio zigotik. Hal ini memungkinkan terbentuknya individu yang bersifat kimera, yaitu perubahan genetik yang dihasilkan tidak terjadi pada seluruh sel dari individu tersebut dan tidak dapat diwariskan. Untuk menghasilkan varian baru, perlakuan iradiasi dapat memberikan hasil yang lebih baik apabila dilakukan pada populasi sel somatik seperti kalus. Iradiasi pada tingkat kalus akan menghasilkan frekuensi varian yang lebih tinggi dibanding dengan jaringan tanaman karena pada tingkat kalus sel-selnya masih bersifat meristematik sehingga lebih responsif terhadap bahan radioaktif (Van Harten, 1998). Iradiasi sinar gama pada kalus *in vitro* umumnya dilakukan pada dosis rendah (Al-Safadi *et al.*, 2000; La Vina *et al.*, 2001). Menurut Van Harten (1998), pemberian iradiasi sinar gama 10–30 Gy pada kalus dapat meningkatkan keragaman somaklonal.

Respon kalus terhadap iradiasi sinar gama bergantung pada laju dosis iradiasi yang digunakan yang merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi respon tanaman terhadap efek radioaktif sinar gama (Soeranto, 2003). Laju dosis iradiasi ialah jumlah dosis terserap per satuan waktu (rad per detik atau Gy per detik). Dosis iradiasi yang tinggi dapat mengakibatkan kematian jaringan. Pemberian dosis iradiasi rendah akan mengakibatkan perubahan abnormal pada fenotipe tanaman. Sensitivitas terhadap iradiasi dapat diukur berdasarkan nilai dosis letal/*lethal dose* (LD), yaitu dosis yang dapat menyebabkan kematian tanaman yang diiradiasi. Tingkat sensitivitas tanaman terhadap iradiasi sinar gama dipengaruhi oleh jenis tanaman, fase tumbuh, ukuran dan kondisi fisiologis eksplan, dan bahan yang akan dimutasi, serta sangat bervariasi antar jenis tanaman dan antar genotipe. Penggunaan dosis sebesar LD₅₀ telah terbukti dapat menghasilkan varietas baru tanpa merusak sifat agronomis yang baik. Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa

dosis optimum dalam induksi mutasi yang dapat menghasilkan mutan terbanyak diperoleh pada LD₅₀ (Datta, 2001). Variabilitas mutan tertinggi terdapat pada mutan hasil iradiasi sinar gama sekitar LD₂₀ dan LD₅₀ (Soeranto, 2012). Nilai LD₅₀ pada kalus padi sangat bervariasi pada masing-masing varietas (Hossain dan Alam, 2001; Saleem, 2005).

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengevaluasi pertumbuhan dan regenerasi kalus pada berbagai dosis iradiasi sinar gama.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan, Kelti Biologi Sel dan Jaringan, Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian, Bogor. Iradiasi sinar gama dilakukan di Pusat Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi (PATIR), Badan Tenaga Nuklir Nasional (Batan), Jakarta. Penelitian dilaksanakan dari bulan Mei sampai dengan November 2013. Bahan tanaman yang digunakan sebagai eksplan adalah embrio zigotik dari benih padi varietas Ciherang dan Inpari 13.

Percobaan menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan perlakuan iradiasi sinar gama pada dosis 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, dan 100 Gy. Setiap perlakuan terdiri atas 10 ulangan dengan 5 kalus embriogenik per botol. Biji disterilisasi di dalam *laminar flow* menggunakan bahan-bahan sterilan seperti alkohol dan kloroks. Setelah itu, dilakukan isolasi embrio zigotik. Selanjutnya, eksplan ditanam pada media induksi kalus, yaitu media Murashige-Skoog (MS) + 2,4-D 3 mg/l + kasein hidrolisat 3 g/l. Pada media MS yang digunakan ditambahkan sukrosa 3% dan agar 0,8%. Botol yang telah ditanami eksplan diinkubasi di dalam rak kultur dalam keadaan gelap dan ditutup dengan kain berwarna hitam.

Kalus embriogenik yang digunakan merupakan kalus yang berumur 4 minggu dengan diameter lebih kurang 4 mm, memiliki struktur yang remah, dan berwarna putih kekuningan. Kalus embriogenik dari masing-masing varietas (Ciherang dan Inpari 13) diberi perlakuan iradiasi sinar gama sesuai dengan taraf dosis perlakuan. Kalus yang sudah diberi perlakuan mutagen fisik selanjutnya dipindahkan ke media yang sama untuk induksi kalus selama 4 minggu. Peubah yang diamati adalah jumlah kalus yang mati (berwarna cokelat kehitaman), jumlah kalus yang hidup dan dapat tumbuh berproliferasi (berwarna putih ke-

kuningan), perubahan bobot basah kalus per minggu, serta penampakan kalus. Persentase kalus yang mati dianalisis dengan program *best curve-fit analysis* untuk menentukan persamaan model terbaik untuk mendapatkan nilai LD_{50} (Soeranto, 2003).

Setelah 4 minggu di media induksi kalus, populasi sel somatik yang telah diiradiasi dipindahkan ke media regenerasi tunas, yaitu MS + BA 5 mg/l + TDZ 0,1 mg/l + prolin 100 mg/l. Peubah yang diamati adalah persentase kalus yang membentuk spot hijau, jumlah spot hijau per kalus, persentase kalus membentuk tunas, dan jumlah tunas per kalus. Data dianalisis dengan Analisis Sidik Ragam apabila terdapat pengaruh yang nyata dari perlakuan terhadap peubah yang diamati, kemudian dilakukan uji jarak berganda Duncan pada taraf kepercayaan 95%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

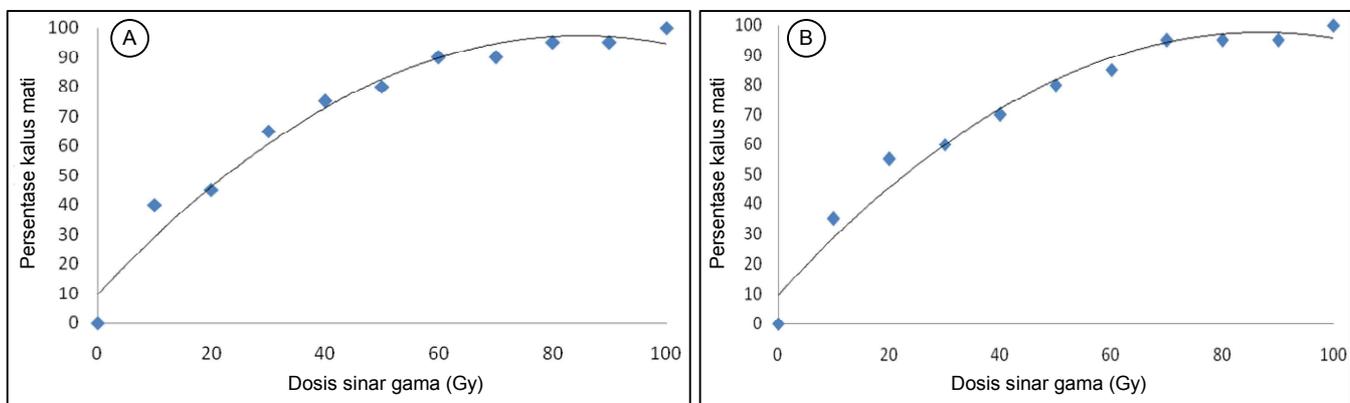
Pengaruh Iradiasi Sinar Gama terhadap Persentase Kematian Kalus

Iradiasi sinar gama pada dosis 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, dan 100 Gy memberikan persentase yang berbeda terhadap kematian kalus padi. Semakin tinggi dosis iradiasi yang diberikan, semakin meningkat persentase kalus yang mati (Gambar 1). Populasi sel somatik yang telah diiradiasi mengalami pencokelatan dan selanjutnya mati karena terjadi degradasi pada enzim indolasetol dehidrogenase yang berperan dalam biosintesis IAA yang dibutuhkan untuk regenerasi populasi sel somatik.

Gambar 1 menunjukkan persentase kalus mati sejalan dengan kenaikan dosis iradiasi. Pemberian perlakuan iradiasi pada dosis 30 Gy pada padi varietas

Ciherang dan Inpari 13 menyebabkan kematian kalus di atas 50%. Pada peningkatan dosis iradiasi hingga 40 Gy terjadi kematian kalus lebih dari 70%. Bila dilihat secara umum, pengaruh dosis iradiasi terhadap kematian kalus pada padi varietas Ciherang dan Inpari 13 tidak terlalu berbeda.

Dari hasil analisis program *best curve-fit analysis* untuk menentukan LD_{50} , diperoleh persamaan model terbaik berdasarkan jumlah kalus mati, yaitu $Y = 9,685 + 2,067X - 0,021X^2$ untuk kalus varietas Ciherang; $Y = 10,224 + 1,055X - 0,010X^2$ untuk kalus varietas Inpari 13. Berdasarkan persentase kalus mati hingga umur 4 minggu setelah perlakuan iradiasi, diperoleh nilai LD_{50} untuk varietas Ciherang adalah 22,468 Gy, sedangkan untuk varietas Inpari 13 adalah 23,124 Gy. Perbedaan nilai LD_{50} , menunjukkan kedua varietas yang digunakan memiliki sensitivitas yang berbeda terhadap iradiasi sinar gama. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian lain yang mendapatkan nilai LD_{50} berbeda terhadap beberapa varietas padi pada fase kalus. Sebagai contoh, nilai LD_{50} varietas Binnatoa adalah 5,0 Gy dan varietas Pokali, BR-16, dan BR-26 adalah 4,0 Gy (Hossain dan Alam, 2001), sedangkan untuk varietas Bastami 50 Gy (Saleem *et al.*, 2005). Pada *Brachiaria decumbens*, antar varietas dalam spesies yang sama juga mempunyai kepekaan yang berbeda terhadap iradiasi sinar gama (Hussin, 2002). Perbedaan tingkat radiosensitivitas suatu eksplan terhadap iradiasi dipengaruhi antara lain oleh bentuk fisik dan bentuk morfologi eksplan yang dapat mempengaruhi ketahanan fisik sel saat menerima iradiasi sinar gama (Roux, 2004), serta kondisi fisiologis, genetik, dan faktor lingkungan, seperti kadar air eksplan, penyimpanan pascairadiasi, dan suhu saat inkubasi (Soeranto, 2003).



Gambar 1. Grafik persentase kalus mati padi varietas Ciherang (A) dan Inpari 13 (B) hasil iradiasi sinar gama, pada umur 4 minggu.

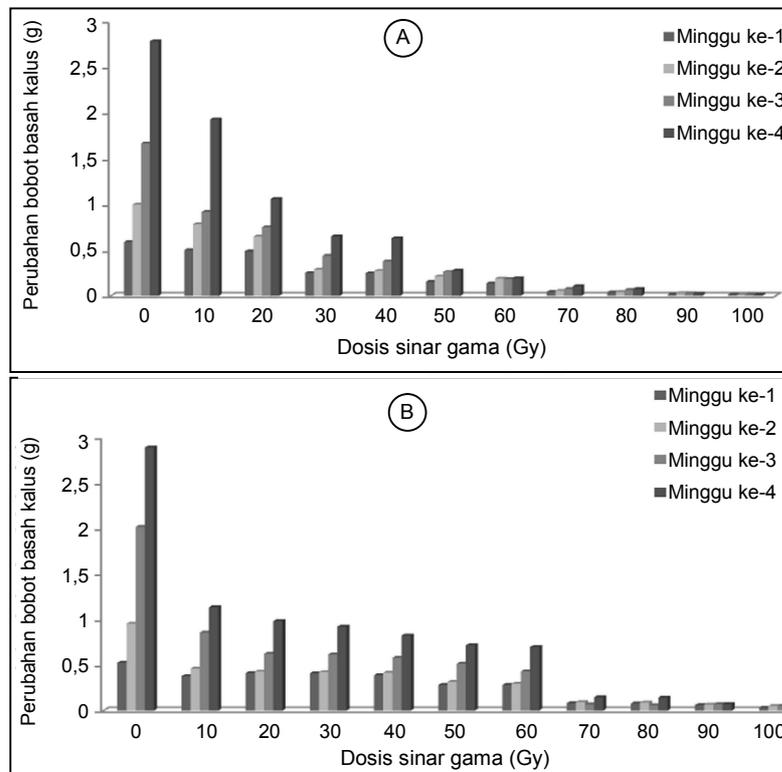
Pengaruh Iradiasi Sinar Gama terhadap Pertumbuhan Kalus

Pemberian iradiasi sinar gama pada kalus padi sangat berpengaruh terhadap perubahan bobot basah kalus pada setiap minggunya. Gambar 2A dan 2B menunjukkan bahwa peningkatan dosis iradiasi menurunkan bobot segar kalus. Hal ini mengindikasikan bahwa dosis iradiasi sinar gama yang tinggi dapat menghambat pertumbuhan kalus.

Dari Gambar 2 terlihat bahwa sensitivitas iradiasi sinar gama sangat bergantung pada varietas tanaman. Pada varietas Ciherang, perlakuan iradiasi sinar gama pada dosis 10 Gy mengakibatkan pertumbuhan kalus terhambat hingga minggu ketiga, akan tetapi setelah minggu keempat terjadi penambahan bobot basah kalus. Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan iradiasi pada dosis yang relatif rendah mengakibatkan kerusakan kalus yang bersifat sementara karena pada minggu berikutnya kalus tumbuh kembali yang dicirikan dengan penambahan bobot basah kalus. Perlakuan dosis iradiasi 50 Gy mengakibatkan pertumbuhan kalus menjadi sangat terhambat. Kondisi ini dapat diketahui dari pertambahan bobot kalus pada setiap minggu tidak begitu terlihat perubahannya

(Gambar 1A). Pertambahan bobot basah kalus yang sangat kecil akibat dari perlakuan iradiasi pada dosis yang relatif tinggi juga terjadi pada kalus tanaman *Gerbera jamesonii* (Hasbullah, 2012).

Perlakuan iradiasi pada kalus padi varietas Inpari 13 sebesar 10 Gy mengakibatkan penambahan bobot basah kalus mulai terhambat hingga perlakuan dosis 60 Gy penurunan bobot kalus cenderung sama. Peningkatan dosis iradiasi hingga 70 Gy mengakibatkan penambahan bobot kalus sangat kecil sekali. Hal ini menunjukkan pada dosis iradiasi tersebut, populasi sel somatik mengalami kerusakan. Kondisi tersebut terlihat dari penampilan warna kalus yang berubah menjadi cokelat kehitaman. Pada kalus kontrol (tanpa diiradiasi), peningkatan bobot basah kalus terjadi lebih cepat dan warna kalusnya putih kekuningan. Pencokelatan pada kalus yang diiradiasi diduga disebabkan karena terjadinya oksidasi fenol setelah degradasi membran sel atau disorganisasi sel yang dilanjutkan dengan degradasi klorofil. Proses tersebut merupakan indikator dari terbentuknya quinon karena adanya aktivitas enzim polifenol oksidase (Laukkanen *et al.*, 2000).



Gambar 2. Perubahan bobot basah kalus padi varietas Ciherang (A) dan Inpari 13 (B) akibat perlakuan iradiasi sinar gama.

Pemberian iradiasi sinar gama pada dosis mulai 50 Gy pada kalus varietas Ciherang dan 70 Gy untuk kalus varietas Inpari 13 menghambat pembelahan populasi sel somatik dalam membentuk kalus. Hal ini terjadi karena adanya kerusakan enzim yang berperan dalam menyintesis IAA yang sangat radiosensitif. Kematian populasi sel somatik karena iradiasi dapat terjadi secara langsung dan tidak langsung. Akibat langsung, selain degradasi enzim yang berperan untuk biosintesis IAA, juga terjadi karena kerusakan DNA dan kromosom yang kerusakannya akan semakin meningkat seiring dengan peningkatan dosis iradiasi (Kim *et al.*, 2004). Akibat tidak langsung, yaitu adanya pengaruh toksik dari radikal bebas H_2O_2 dan OH^- yang dihasilkan dari radiolisis air (Soeranto, 2003). Material yang paling banyak mengalami iradiasi adalah air yang kemudian terurai menjadi H_2O^+ dan e^- . Pada reaksi selanjutnya akan terbentuk radikal bebas yang kemudian bergabung dengan peroksida. Apabila peroksida dan radikal-radikal bebas bereaksi dengan molekul lain, akan terbentuk senyawa yang akan mempengaruhi sistem biologi tanaman (Van Harten, 1998). Kandungan air pada kalus cukup tinggi sehingga kemampuan iradiasi sinar gama dalam menghambat dan me-

matikan kalus berhubungan dengan kandungan air dalam kalus yang tinggi. Selain itu, iradiasi sinar gama juga dapat menurunkan biosintesis hormon endogen pada kalus yang dapat menghambat pertumbuhan kalus (Hasbullah, 2012).

Pengaruh Iradiasi Sinar Gama terhadap Daya Regenerasi Kalus

Pemberian iradiasi sinar gama pada umumnya dapat menghambat kemampuan kalus beregenerasi membentuk tunas. Dari data pada Tabel 1 dan 2 dapat dilihat bahwa peningkatan dosis iradiasi pada kalus varietas Ciherang maupun Inpari 13 memberikan pengaruh yang nyata terhadap rerata jumlah spot hijau dan rerata jumlah tunas. Perlakuan iradiasi cenderung menurunkan kemampuan kalus membentuk spot hijau dan menghasilkan tunas.

Varietas Ciherang

Pada varietas Ciherang (Tabel 1), persentase kalus yang tidak diiradiasi yang mampu membentuk spot hijau sebesar 80%, dengan rerata jumlah spot hijau adalah 4,06%, sedangkan kalus yang mampu membentuk tunas mencapai 65% dengan rerata

Tabel 1. Regenerasi kalus padi varietas Ciherang yang membentuk tunas adventif setelah perlakuan iradiasi sinar gama.

Dosis iradiasi sinar gama (Gy)	Persentase kalus membentuk spot hijau	Rerata jumlah spot hijau per kalus*	Persentase pembentukan tunas adventif	Rerata jumlah tunas adventif per kalus*
0	80	4,06a	65	4,65a
10	55	2,65b	40	3,125ab
20	35	2,57b	25	2,2b
30	20	2b	15	1,33b
40	15	1,66b	5	1b
50	15	1c	0	0c
60	10	1c	0	0c
70	0	0d	0	0c
80	0	0d	0	0c
90	0	0d	0	0c
100	0	0d	0	0c

*Angka pada satu kolom yang diikuti oleh huruf yang sama berbeda tidak nyata pada taraf 5% menurut uji jarak berganda Duncan.

Tabel 2. Regenerasi kalus padi varietas Inpari 13 yang membentuk tunas adventif setelah perlakuan iradiasi sinar gama.

Dosis iradiasi sinar gama (Gy)	Persentase kalus membentuk spot hijau	Rerata jumlah spot hijau per kalus*	Persentase pembentukan tunas adventif	Rerata jumlah tunas adventif per kalus*
0	80	4,83a	70	5,36a
10	60	4,2a	45	3,44b
20	45	2,33b	20	2,5b
30	25	2,22b	15	1,66b
40	20	1,33b	0	0c
50	0	0c	0	0c
60	0	0c	0	0c
70	0	0c	0	0c
80	0	0c	0	0c
90	0	0c	0	0c
100	0	0c	0	0c

*Angka pada satu kolom yang diikuti oleh huruf yang sama berbeda tidak nyata pada taraf 5% menurut uji jarak berganda Duncan.

jumlah tunas adventif 4,65. Pemberian iradiasi sinar gama pada dosis 10 Gy memberikan pengaruh yang nyata, yaitu penurunan kemampuan kalus membentuk spot hijau (55%) dengan jumlah spot hijau 2,65 dan penurunan persentase kalus yang dapat membentuk tunas. Demikian pula pada dosis iradiasi 20, 30, dan 40 Gy. Akan tetapi, terdapat pengaruh yang tidak berbeda nyata di antara perlakuan tersebut terhadap pembentukan spot hijau dan tunas adventif.

Peningkatan dosis iradiasi cenderung menurunkan kemampuan kalus untuk membentuk spot hijau. Pada dosis iradiasi 60 Gy, persentase kalus yang membentuk spot hijau hanya 10% dengan jumlah spot hijau 1. Pada dosis iradiasi hingga 70 Gy, kalus tidak mampu membentuk spot hijau dan tunas, sedangkan untuk dosis iradiasi 40 Gy persentase kalus yang membentuk tunas hanya 15% dengan jumlah tunas 1, bahkan pada dosis iradiasi 50 Gy kalus tidak mampu beregenerasi membentuk tunas adventif. Sejalan dengan hasil penelitian Edi (2004), perlakuan iradiasi sinar gama pada kalus padi menurunkan daya regenerasi kalus dalam membentuk tunas. Hal yang sama juga terjadi pada tanaman *Triticum aestivum* L. (Chauduri, 2002) dan *Gerbera jamesonii* (Hasbullah, 2012).

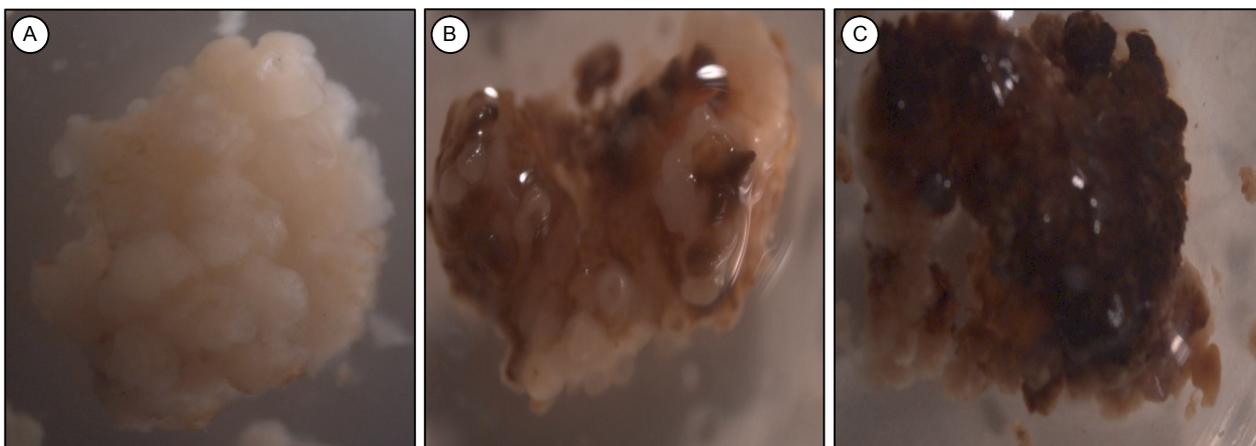
Varietas Inpari 13

Kalus varietas Inpari 13 juga memperlihatkan respon yang sama terhadap iradiasi sinar gama. Pada Tabel 2 dapat dilihat bahwa perlakuan iradiasi sinar gama memberikan pengaruh yang nyata terhadap kemampuan kalus membentuk spot hijau dan tunas adventif. Perlakuan tanpa iradiasi sinar gama menghasilkan persentase kalus membentuk spot hijau 80% dengan rerata jumlah spot hijau 4,832. Perlakuan tersebut tidak berbeda nyata dengan perlakuan iradiasi

sinar gama 10 Gy yang menghasilkan kalus dengan jumlah rerata spot hijau 4,2 dan persentase kalus membentuk spot hijau sebesar 60%. Pemberian dosis iradiasi yang relatif rendah dapat meningkatkan aktivitas hormon pada sel somatik atau terbentuknya anti oksidan pada sel tanaman (Wi *et al.*, 2007).

Peningkatan dosis iradiasi menjadi 20, 30, dan 40 Gy memberikan pengaruh yang nyata dalam menurunkan kemampuan kalus membentuk spot hijau. Peningkatan dosis iradiasi menjadi 50 Gy mengakibatkan kalus tidak mampu membentuk spot hijau dan tunas adventif. Pada perlakuan tanpa iradiasi sinar gama dapat diregenerasikan kalus yang membentuk tunas adventif sebesar 70% dengan 5,36 tunas adventif per kalus. Perlakuan dosis iradiasi 10 Gy menyebabkan persentase kalus yang beregenerasi menurun menjadi 45% dibanding dengan kontrol. Dengan semakin meningkatnya dosis iradiasi lebih dari 40 Gy, kalus tidak mampu beregenerasi membentuk tunas adventif. Terjadinya penurunan daya regenerasi berhubungan dengan rendahnya kualitas kalus karena iradiasi sinar gama. Hal serupa terjadi pada kalus tanaman melon (Venkateshwarlu, 2008).

Rendahnya kemampuan kalus beregenerasi menyebabkan jumlah tunas adventif per kalus yang dihasilkan juga menurun. Pada kontrol, dihasilkan 5,36 tunas adventif per kalus. Perlakuan iradiasi sinar gama pada dosis 10 Gy menurunkan pembentukan tunas adventif, yaitu 3,44 tunas per kalus. Di antara perlakuan 10, 20, dan 30 Gy, jumlah tunas adventif yang terbentuk tidak berbeda nyata, yaitu 3,44; 2,50; dan 1,66. Dosis iradiasi yang tinggi, yaitu 40 Gy, menyebabkan kalus tidak dapat membentuk tunas adventif dan penampilan populasi sel somatik berubah menjadi



Gambar 3. Keragaan penampilan kalus padi Inpari 13 setelah diberi perlakuan iradiasi sinar gama 0 Gy (A), 20 Gy (B), dan 100 Gy (C).

cokelat. Hal yang sama juga terjadi pada tanaman manggis (Qosim *et al.*, 2007) dan purwoceng (Roostika *et al.*, 2013), peningkatan dosis iradiasi menurunkan kemampuan kalus untuk beregenerasi membentuk tunas adventif. Keragaan penampilan kalus padi Inpari 13 setelah diberi perlakuan iradiasi sinar gama 0, 20, dan 100 Gy disajikan pada Gambar 3.

KESIMPULAN

Berdasarkan uraian di atas, diketahui bahwa peningkatan dosis iradiasi sinar gama pada kalus padi menyebabkan peningkatan persentase kalus yang mati dan penurunan pertambahan bobot basah kalus dan kemampuan kalus beregenerasi. Di samping itu, semakin meningkat dosis sinar gama, semakin menurun kemampuan kalus beregenerasi membentuk tunas adventif. Pada perlakuan iradiasi pada dosis 50 Gy untuk Ciherang dan 40 Gy untuk Inpari 13, kalus tidak mampu beregenerasi membentuk tunas adventif. Persentase kalus membentuk spot hijau dan tunas adventif pada varietas Ciherang paling banyak berasal dari kontrol dan berbeda nyata dengan perlakuan iradiasi pada 10, 20, 30, dan 40 Gy. Demikian juga pada varietas Inpari 13, jumlah spot hijau dan jumlah tunas adventif paling banyak terbentuk pada kontrol dan berbeda nyata dengan perlakuan iradiasi sinar gama 10, 20, dan 30 Gy. Perlakuan dosis iradiasi yang lebih tinggi daripada 40 Gy untuk Ciherang dan 30 Gy untuk Inpari 13 menyebabkan kalus tidak mampu beregenerasi membentuk tunas adventif.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Safadi, B., Z. Ayyoubi, and A. Jawdat. 2000. The effect of gamma irradiation on potato microtuber production *in vitro*. *Plant Cell Tiss. Org.* 61:181-187.
- Chauduri, K.S. 2002. A simple and reliable method to detect gamma irradiated lentil (*Lens culinaris* Medik.) seeds by germination efficiency and seedling growth test. *Radiat. Phys. Chem.* 64:131-136.
- Datta, S.K. 2001. Mutation studies on garden chrysanthemum: A review. *Sci. Hort.* 7:159-199.
- Edi, S. 2004. Peningkatan ketenggangan terhadap aluminium dan pH rendah pada tanaman padi melalui keragaman somaklonal dan iradiasi sinar gama. Disertasi S3, Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor. 120 hlm.
- Hasbullah, N.A., R.M. Taha, A. Saleh, and N. Mahmad. 2012. Irradiation effect on *in vitro* organogenesis callus growth and plant led development of *Gerbera jamesonii*. *Hortic. Bras.* 30:252-257.
- Hussin, G., A.R. Harun, and S. Samsuddin. 2002. Study on mutagenesis of signal grass (*Brachiaria decumbens*) by gamma radiation. Malaysian Institute for Technology Research (MINT), Malaysia. 20 p.
- Hosain, M.F. and M.S. Alam. 2001. Effect of gamma irradiation on the callus, developed from indica rice. *Pak. J. Biol. Sci.* 4(6):670-671.
- Kim, J.H., M.H. Bae K., B.Y. Chung, S.G. Wi, and J.S. Kim. 2004. Alterations in the photosynthetic pigments and antioxidant machineries of red pepper (*Capsicum annum* L.) seedlings from gamma-irradiated seeds. *J. Plant Biol.* 47:314-321.
- Kovacs, E. and A. Keresztes. 2002. Effect of gamma and UV-B/C radiation on plant cell. *Micron.* 33:199-210.
- La Vina, G., A.B. Munoz, and F.P. Alfaro. 2001. Effect of culture media and irradiance level on growth and morphology of *Persea americana* Mill. microcutting. *Plant Cell Tiss. Org.* 65:229-237.
- Laukkanen, H., L. Rautiainen, E. Taulavuori, and A. Hohtola. 2000. Changes in cellular structure and enzymatic activities during browning of scots pine callus derived from mature buds. *Tree Physiol.* 20:467-475.
- Maluszynski, P.M., B.S. Ahloowalia, and B. Sigurbjornsson. 1995. Application of *in vivo* and *in vitro* mutation techniques for crop improvement. *Euphytica* 85:303-315.
- Maluszynski, M.K., L. Nichterlein, Van Zanten, and B.S. Ahloowalia. 2000. Officially released mutant varieties the FAO/IAEA database. *Mut. Breed. Rev.* 12:1-84.
- Qosim, W.A., R. Purwanto, G.A. Wattimena, dan Witjaksono. 2007. Pengaruh iradisi sinar gama terhadap kapasitas regenerasi kalus nodular tanaman manggis. *Hayati* 14(4):140-144.
- Roostika, I., I. Darwati, dan Yudiwanti. 2013. Peningkatan keragaman genetik purwoceng melalui iradiasi sinar gama dan seleksi *in vitro*. *J. Litri* 19(2):88-98.
- Roux, N., R. Afza, H. Brunner, Morpurgo, and M. Van Duren M. 2004. Complementary approaches to cross-breeding and mutation for *Musa* improvement and testing. p. 232-238. *In Jones (ed.) The Improvement and Testing of Musa: Global Partnership.* INIBAB.
- Saleem, M.Y., Z. Mukhtar, A.A. Cheema, and B.M. Atta. 2005. Induced mutation and *in vitro* techniques as a method to induce salt tolerance in basmati rice (*Oryza sativa* L.). *Int. J. Environ. Sci. Tech.* 2(2):141-145.
- Soeranto, H. 2003. Peran Iptek Nuklir dalam Pemuliaan Tanaman untuk Mendukung Industri Pertanian. Pusat Penelitian dan Pengembangan Teknologi Isotop dan Radiasi. Badan Tenaga Nuklir Nasional. Jakarta. 20 hlm.
- Soeranto, H. 2012. Pemanfaatan teknologi nuklir untuk pemuliaan sorghum. Workshop on the Current Status and Challenges in Sorghum Development in Indonesia. Seameo Biotrop. Bogor, 25-26 September 2012. 120 hlm.

Van Harten, A.M. 1998. Mutation Breeding. Theory and Practical Application. Cambridge University Press. New York, USA. p. 342.

Venkateshwarlu, H. 2008. Effect of gamma rays on different explants of callus treatment of multiple shoots in *Cucumis melo* cv. Bathasa. J. Environ. Biol. 29(5):789-792.

Wi, S.G., B.Y. Chung, J.S. Kim, J.H. Kim, M.H. Baek, J.W. Lee, and Y.S. Kim. 2007. Effects of gamma irradiation on morphological changes and biological responses in plants. Micron. 38(6):553-564.
