

**Radiosensitivitas dan Seleksi Mutan Putatif Jeruk Keprok Garut
(*Citrus reticulata* L.) berdasarkan Penanda Morfologi**

Radiosensitivity and Selection Putative Mutans Mandarin cv. Garut Based on Morphological Markers

Karyanti^{1*}, Agus Purwito², dan Ali Husni³

¹Balai Pengkajian Bioteknologi-BPPT, Kawasan Puspiptek

Jl. Raya Puspiptek, Serpong, Tangerang, Provinsi Banten, Indonesia

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

³Balai Besar Bioteknologi dan Sumberdaya Genetika Pertanian

Jl. Tentara Pelajar No. 3A, Bogor 16111, Indonesia.

Diterima 15 Desember 2014/Disetujui 22 Mei 2015

ABSTRACT

Mandarin Citrus cv. garut is a of local citrus variety with several superiority, but not competitive to imported citrus. Quality improvement have been the subject of citrus breeding programme. The objective of this research was to determine lethal dose 50 (LD₅₀) and putative mutans regenerant selected based on morphological markers. Callus was irradiated at doses of 0, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 and 100 Gy and regenerated through somatic embryogenesis. The result of radiosensitivity showed that lethal dose 50 (LD₅₀) analyzed by Curve Expert 1.4 software was 75.31 Gy. Observation on callus showed variation on morphology and weight of callus. Callus growth was not inhibited at doses 0-50 Gy but at doses 60-100 Gy callus growth was inhibited. Gamma irradiation also affected the formations of somatic embryos. After six weeks on maturation medium, the highest number of embryo somatic was produced from doses of 20 and 100 Gy and following culture on germination medium, the highest number of planlet was produced from doses of 20 and 40 Gy. Based on morphological characters, the selected regenerants had variability of 0-58%.

Keywords: gamma irradiation, germination, lethal dosis 50 (LD₅₀), maturation, somatic embryo

ABSTRAK

Jeruk keprok garut adalah jeruk komoditas lokal yang memiliki beberapa keunggulan, tetapi jeruk ini tidak dapat bersaing dengan jeruk dari negara lain. Oleh karena itu perlu dilakukan peningkatan kualitas jeruk melalui program pemuliaan. Tujuan penelitian ini adalah mendapatkan dosis letal 50 (LD₅₀) dari kalus jeruk keprok garut dan melakukan seleksi tunas mutan putative hasil regenerasi melalui penanda morfologi. Kalus diradiasi pada dosis 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, dan 100 Gy dan diregenerasi melalui tahapan embryogenesis somatik. Hasil analisis melalui program Curve Expert 1.4 software diperoleh radiosensitivitas LD₅₀ dari kalus jeruk keprok garut adalah 75.31 Gy. Hasil pengamatan menunjukkan adanya variasi pada morfologi dan berat kalus. Kalus yang diiradiasi pada dosis 0-50 Gy pertumbuhannya tidak terhambat sedangkan kalus yang diiradiasi di atas 60-100 Gy pertumbuhannya terhambat. Iradiasi sinar gamma juga berpengaruh pada pembentukan embrio somatik. Jumlah embrio somatik tertinggi pada media pendewasaan dihasilkan pada perlakuan dosis 20 dan 100 Gy, dan dalam media perkecambahan dihasilkan planlet terbanyak pada perlakuan dosis 20 dan 40 Gy. Keragaman berdasarkan morfologi hasil seleksi tunas regeneran yang dihasilkan sekitar 0-58%.

Kata kunci: dosis letal 50 (LD₅₀), iradiasi gamma, pendewasaan, perkecambahan, somatic embrio

PENDAHULUAN

Jeruk keprok garut adalah salah satu jenis jeruk unggulan nasional. SK Menteri Pertanian No. 760 tahun 1999 menetapkan jeruk keprok garut sebagai varietas unggul (Balitbangtan, 1999). Keprok garut mempunyai rasa asam manis, kulitnya mudah dikupas, warna kulit hijau kekuningan

dan mempunyai biji sekitar 12-15 butir per buah. Saat ini kriteria buah jeruk yang digemari oleh konsumen dan pasar global adalah buah jeruk yang mempunyai biji sedikit atau tanpa biji (*seedless*), mudah dikupas dan memiliki warna yang menarik. Beberapa kriteria tersebut belum dimiliki oleh keprok garut sehingga kalah bersaing di pasar global.

Peningkatan kualitas buah jeruk keprok garut yang telah memiliki karakter unggul dapat dilakukan dengan teknik pemuliaan mutasi. Aplikasi pemuliaan mutasi

* Penulis untuk korespondensi. e-mail: kUSDARSONO@yahoo.com

dapat dilakukan secara *in vitro*, adanya keragaman yang ditimbulkan dan diregenerasi melalui kultur *in vitro* maka terbuka peluang untuk mendapatkan genotipe baru yang unggul (Hutami *et al.*, 2006). Teknologi kultur jaringan yang dapat dikombinasikan untuk mengoptimalkan hasil yaitu metode embriogenesis somatik. Proses embrio somatik dimulai dengan terbentuknya sel-sel embriogenik berukuran kecil dengan isi sitoplasma yang penuh, nukleus yang membesar, vakuola yang kecil dan kaya akan butir-butir pati yang padat, kemudian sel-sel tersebut berubah menjadi preembrio yang berkembang menjadi fase globular, jantung dan kotiledon, dan ciri struktur bipolar yaitu memiliki dua calon meristem (akar dan tunas) (Husni *et al.*, 2010).

Aplikasi induksi mutasi dengan menggunakan iradiasi sinar Gamma telah banyak dilakukan seperti pada tanaman anggrek *Spathoglottis plicata* Blume (Romeida *et al.*, 2012) dan bunga anyelir (Aisyah, 2009) yang berhasil menginduksi perubahan pada warna bunga. Aplikasi iradiasi sinar gamma pada Jeruk Mandarin Kinnow varietas lokal di Pakistan menghasilkan jeruk tanpa biji (Altaf *et al.*, 2004).

Peningkatan kualitas dapat dilakukan melalui kombinasi pemuliaan mutasi dan teknik kultur jaringan yaitu eksplan diberikan perlakuan mutasi fisik berupa iradiasi sinar gamma dan diregenerasi menjadi tanaman baru dengan bantuan teknologi kultur jaringan. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan dosis letal 50 (LD₅₀) dan mengidentifikasi adanya keragaman pada planlet mutan putatif jeruk keprok garut berdasarkan penanda morfologi.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan dari Bulan Oktober 2011 sampai dengan September 2012 di Laboratorium Kultur Jaringan Departemen Agronomi dan Hortikultura Institut Pertanian Bogor. Perlakuan iradiasi sinar Gamma dilakukan di Pusat Aplikasi Teknologi Isotop dan Radiasi, Badan Tenaga Nuklir Nasional (PATIR-BATAN).

Bahan tanaman yang digunakan adalah kalus embriogenik jeruk keprok garut hasil penelitian sebelumnya. Media yang digunakan sebagai hara makro dan mikro bersumber dari media dasar MS (Murashige & Skoog) sedangkan untuk vitamin digunakan vitamin dari media dasar MW (Morel & Wetmore), bahan lainnya yaitu zat pengatur tumbuh (BAP, ABA, GA₃), *Casein Hydrolisat*, gula, agar pemat, dan alkohol 70%. Alat yang digunakan diantaranya peralatan iradiasi ⁶⁰Co, *laminar air flow*, mikroskop dan kamera digital (Sony *super steady shot*-DSC T10-7.2 *pixels*).

Kalus diberi perlakuan iradiasi sinar Gamma, dengan memasukkan kalus ke dalam alat *Gamma Chamber* ⁶⁰Co (laju dosis saat perlakuan 0.648 KGy jam⁻¹) dengan dosis perlakuan 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, dan 100 Gy. Kalus selanjutnya ditanam dalam media kombinasi hara makro dan mikro media dasar MS dengan vitamin media dasar MW tanpa zat pengatur tumbuh dan diinkubasi dalam ruang kultur pada suhu 24-25 °C dengan intensitas cahaya 1.000-1.500 lux selama 6 minggu. Pertumbuhan dan warna kalus diamati sebagai data untuk menentukan radiosensitivitas dari kalus jeruk keprok garut. Kalus hasil iradiasi sinar

gamma selanjutnya diregenerasi dalam media pendewasaan yaitu kombinasi hara makro dan mikro media dasar MS ditambahkan vitamin MW, 2.5 mg L⁻¹ ABA dan 300 mg L⁻¹ Casein Hydrolisat. Satu botol kultur berisi lima *clump* (setiap *clump* berisi 100 proembrio) dan setiap perlakuan diulang masing-masing 10 botol. Kalus yang berhasil diregenerasi setelah berkembang menjadi kotiledon selanjutnya ditanam dalam media perkecambahan yaitu kombinasi hara makro dan mikro media dasar MS ditambah vitamin MW dan 2.5 mg L⁻¹ GA₃ (Merigo, 2011). Pengamatan dilakukan pada setiap tahap regenerasi mulai dari kalus embriogenik hingga menjadi planlet, dan selanjutnya planlet ditumbuhkan dalam media tanpa zat pengatur tumbuh yang selanjutnya diamati karakter pertumbuhannya yaitu : jumlah daun, warna daun, bentuk daun, tinggi tunas, jumlah cabang, kondisi batang, ketegakan tunas dan jumlah akar.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Radiosensitivitas dan Pengaruh Iradiasi terhadap Pertumbuhan Kalus

Kalus hasil iradiasi mulai tumbuh pada minggu ke-3 dan ke-4 sedangkan perubahan warna kalus terlihat jelas pada minggu ke-5 setelah iradiasi. Pada minggu ke-6 terdapat perubahan warna kalus khususnya pada dosis 40, 50, 60, 70, 80, 90, dan 100 Gy. Dosis 0 (kontrol), 20 dan 30 Gy menghasilkan warna kalus yang tidak berubah (putih kekuningan), sedangkan pada dosis 40, 50, dan 60 Gy sebagian kalus berubah menjadi putih kecoklatan. Peningkatan dosis iradiasi 70 Gy merubah semua warna kalus menjadi putih kecoklatan, sedangkan dosis 80, 90, dan 100 Gy semua warna kalus menjadi coklat (Tabel 1).

Berat kalus pada umur 6 minggu setelah iradiasi tidak berbeda nyata pada dosis 0-50 Gy tetapi berbeda nyata dengan dosis 60-100 Gy. Peningkatan dosis iradiasi sinar gamma menghambat pembelahan sel sehingga menurunkan berat kalus. Kalus jeruk keprok garut yang terpapar iradiasi sinar gamma pada dosis 20 dan 30 Gy masih mampu berproliferasi sehingga berat kalus yang dihasilkan tidak berbeda nyata dengan berat kalus tanpa iradiasi atau kontrol (Tabel 1). Kerusakan yang dihasilkan dapat berpengaruh secara fisiologis seperti terjadinya perubahan warna kalus dan terhambatnya pembelahan sel. Sel-sel yang mengalami kerusakan fisiologis dan mampu memperbaiki dirinya akan dapat bertahan dan berdiferensiasi pada tahap selanjutnya. Pada nilam terjadi kerusakan fisiologis pada kalus yang diberi iradiasi sinar gamma di atas 20 Gy, yakni berubah warna dari putih kekuningan menjadi kecoklatan pada hari ke-30 setelah iradiasi (Kadir *et al.*, 2007). Dosis iradiasi 60 Gy pada tanaman jeruk mandarin kinnow dapat menghambat proliferasi kalus (Altaf *et al.*, 2004), begitu pula pada tanaman nilam, proliferasi terhambat pada dosis 20 Gy (Kadir *et al.*, 2007), tanaman jeruk siam pada dosis 10 Gy (Husni dan Kosmiatin, 2011), dan kalus asal embrio kelapa sawit terhambat proliferasi dan regenerasinya pada dosis 10 Gy (Rohani *et al.*, 2012).

Perubahan warna kalus dan terhambatnya proliferasi sel menunjukkan tingkat sensitivitas kalus jeruk keprok

Tabel 1. Persentase perubahan warna kalus 6 minggu setelah iradiasi sinar gamma

| Dosis iradiasi sinar gamma (Gy) | Warna kalus | | |
|---------------------------------|------------------|------------------|--------|
| | Putih kekuningan | Putih kecoklatan | Coklat |
| | -----%----- | | |
| 0 (kontrol) | 100 | 0 | 0 |
| 20 | 100 | 0 | 0 |
| 30 | 100 | 0 | 0 |
| 40 | 60 | 40 | 0 |
| 50 | 40 | 60 | 0 |
| 60 | 20 | 80 | 0 |
| 70 | 0 | 100 | 0 |
| 80 | 0 | 0 | 100 |
| 90 | 0 | 0 | 100 |
| 100 | 0 | 0 | 100 |

garut terhadap iradiasi sinar gamma yang diberikan. Kalus hasil iradiasi ditumbuhkan dalam media proliferasi selama 6 minggu dan selanjutnya ditimbang berat kalus akhir untuk menentukan radiosensitivitas kalus jeruk yang diuji. Data hasil standarisasi berat kalus (%) diolah dengan menggunakan Curve Expert 1.4 untuk menentukan radiosensitivitas kalus jeruk keprok garut (Tabel 2). Hasil percobaan ini memberikan persamaan kuadrat $y = a + bx + cx^2$, dengan koefisien data: $a = 10.26$, $b = -0.041$, $c = -0.0087$, sehingga persamaan yang diperoleh adalah $y = 10.26 - 0.041x - 0.0087x^2$ (Gambar 1). Berdasarkan persamaan tersebut dapat ditentukan bahwa tingkat reduksi pertumbuhan kalus jeruk keprok garut sebesar 50% (LD_{50}) akibat perlakuan iradiasi sinar gamma pada siklus pertama (M1) diperoleh pada dosis iradiasi 73.31 Gy. Dosis di sekitar LD_{50} diharapkan dapat menghasilkan keragaman yang tinggi, dan sebagai acuan dalam penelitian-penelitian selanjutnya.

Regenerasi Kalus Hasil Iradiasi Sinar Gamma

Regenerasi kalus hasil iradiasi sinar gamma dalam media pendewasaan merupakan tahap yang paling sulit. Dibutuhkan media yang tepat dan optimal untuk meregenerasikan kalus embriogenik menjadi tanaman. Kalus hasil iradiasi diregenerasikan dalam media pendewasaan. Kalus embriogenik yang terdiri dari 100 proembrio per *clumps* ditanam dalam media pendewasaan dan mulai mengalami perubahan pada minggu ke-3 setelah tanam. Perubahan awal yang terjadi adalah membesarnya sel-sel

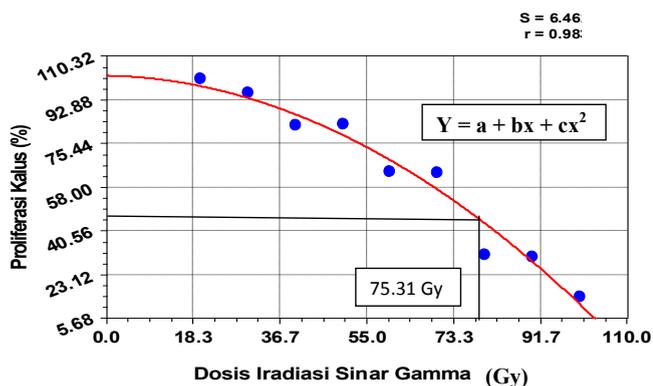
proembrio membentuk globular yang selanjutnya berubah menjadi seperti jantung, torpedo dan kotiledon. Perubahan ini terjadi secara bertahap.

Regenerasi sel yang berkembang menjadi embrio somatik dipengaruhi oleh kemampuan sel dalam menerima pengaruh iradiasi sehingga mampu beradaptasi dalam media pendewasaan. Berdasarkan beberapa penelitian pada jeruk keprok batu (Merigo, 2011), jeruk siam (Husni *et al.*, 2010), nenas simadu (Purnamaningsih *et al.*, 2009), kelapa sawit (Sumaryono *et al.*, 2008), ABA banyak berperan untuk mematangkan embrio dalam meningkatkan perkembangan embrio sehingga mampu berdiferensiasi menjadi embrio dewasa.

Pengaruh mutasi yang bersifat acak terlihat dari hasil regenerasi kalus yang diberi perlakuan iradiasi. Pembentukan embrio somatik yang dihasilkan tidak menunjukkan pola yang teratur. Pembentukan embrio somatik pada setiap dosis menunjukkan respon yang berbeda. Pola ini terlihat dari jumlah embrio somatik yang dihasilkan antar dosis iradiasi tidak sama. Hasil ini menunjukkan pengaruh acak dari ionisasi sinar gamma sehingga kita tidak bisa menduga hasil akhir yang akan diperoleh. Sifat acak dapat terlihat pada sejumlah embrio somatik yang dihasilkan. Dosis iradiasi 20 Gy dan 100 Gy menghasilkan embrio somatik dengan jumlah tinggi sedangkan pada dosis iradiasi 90 Gy menghasilkan embrio somatik paling rendah (Tabel 3). Hasil tersebut menunjukkan bahwa pengaruh iradiasi yang menyebabkan terjadinya mutasi dapat bersifat positif maupun negatif. Sifat positif muncul karena mutasi yang terjadi dapat mengaktifkan gen-gen yang berperan dalam

Tabel 2. Rataan berat kalus setelah iradiasi dan ditumbuhkan dalam media proliferasi selama 6 minggu

| | Dosis iradiasi (Gy) | | | | | | | | | |
|---|---------------------|--------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | 0 (kontrol) | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 | 70 | 80 | 90 | 100 |
| M1 (setelah iradiasi dan proliferasi) (g) | 1.08 | 1.10 | 1.04 | 0.90 | 0.90 | 0.70 | 0.69 | 0.34 | 0.33 | 0.16 |
| Standarisasi berat kalus (%) | 100.00 | 101.60 | 96.10 | 82.90 | 83.30 | 64.60 | 64.10 | 31.30 | 30.30 | 14.40 |



Gambar 1. Penentuan LD₅₀ berdasarkan penghambatan proliferasi kalus jeruk keprok Garut yang diberi perlakuan iradiasi sinar gamma

mekanisme pembentukan embrio, sedangkan sifat negatif muncul jika gen-gen pembentuk embrio menjadi tidak aktif.

Sebanyak 887 embrio somatik yang terbentuk selanjutnya ditumbuhkan dalam media perkecambahan dan dihasilkan 283 embrio berkecambah atau sekitar 31.76% (Tabel 3). Dalam media perkecambahan embrio somatik akan membentuk tunas dan akar. Persentase dan jumlah embrio somatik yang berkecambah pada setiap dosis iradiasi beragam. Kecambah yang dihasilkan memiliki morfologi yang beragam. Kecambah yang ditanam dalam media MS tanpa ZPT pada minggu ke-4 menunjukkan respon yang beragam. Keragaman yang muncul seperti bakal tunas yang abnormal, bentuk daun yang abnormal, tunas roset, tunas *vitrous*, banyaknya jumlah cabang, tunas yang tidak berkembang. Selanjutnya untuk memastikan karakter yang diturunkan, dilakukan penanaman berulang dalam media MS tanpa ZPT. Planlet normal (pertumbuhannya tidak roset dan *vitrous*) dihasilkan sejumlah 46 planlet atau 5.18%, yang berasal dari dosis iradiasi 20 Gy (8 tunas regeneran), 30 Gy (7 tunas regeneran), 40 Gy (7 tunas

regeneran) dan 50 Gy (7 tunas regeneran), sedangkan jumlah yang lebih sedikit dihasilkan dosis iradiasi 60 Gy (2 tunas regeneran) dan 100 Gy (2 tunas regeneran) (Tabel 3). Hasil ini menunjukkan terjadinya penghambatan pada embrio somatik untuk berkecambah. Pengaruh ionisasi akibat iradiasi sinar gamma ini dapat terbawa pada setiap tahap diferensiasi. Mutasi yang terjadi pada setiap sel tidak sama sehingga pengaruh yang munculpun tidak sama. Kalus yang mampu berdiferensiasi membentuk embrio memiliki kemampuan yang berbeda pula untuk berkecambah, dan kecambah yang dihasilkanpun bervariasi berupa kecambah normal atau kecambah abnormal (roset dan *vitrous*). Hasil yang sama juga dilaporkan bahwa peningkatan dosis iradiasi sinar gamma menghambat kemampuan regenerasi embrio tanaman nilam (Kadir *et al.*, 2007), manggis (Qosim *et al.*, 2007) dan krisan (Yamaguchi *et al.*, 2008)

Analisis Keragaman Tunas Regeneran Berdasarkan Penanda Morfologi

Keberhasilan induksi mutasi sangat tergantung pada bagian tanaman yang digunakan dan dosis iradiasi yang diaplikasikan. Pengamatan morfologi dilakukan berdasarkan karakter kuantitatif yang diamati pada populasi 46 tunas regeneran yang dihasilkan. Berdasarkan hasil analisis rata-rata dan ragam diperoleh nilai rata-rata karakter tinggi tunas dan jumlah akar pada semua populasi menunjukkan perbedaan, sedangkan pada karakter jumlah daun dan jumlah cabang diperoleh nilai rata-rata yang berbeda. Hasil tersebut menunjukkan pengaruh iradiasi menghasilkan respon yang berbeda terhadap perkembangan tunas regeneran. Data kuantitatif hasil pengamatan dianalisis dan diperoleh nilai ragam dan standar deviasi. Hasil nilai ragam dan standar deviasi dievaluasi berdasarkan kisaran nilai yang diperoleh, hal ini karena tunas regeneran yang dihasilkan pada setiap dosis iradiasi berbeda jumlahnya.

Nilai ragam dan standar deviasi tertinggi dapat dilihat dari kisaran nilai setiap karakter yang diamati. Kisaran

Tabel 3. Regenerasi kalus berdasarkan jumlah embrio somatik, embrio berkecambah dan tunas regeneran

| Dosis iradiasi sinar gamma (Gy) | Jumlah embrio somatik (umur 4 minggu) | Jumlah embrio berkecambah | Jumlah tunas regeneran | Jumlah planlet dengan karakter tertentu |
|---------------------------------|---------------------------------------|---------------------------|------------------------|---|
| 0 (kontrol) | 90 | 14 | 4 | |
| 20 | 220 | 122 | 8 | 1 |
| 30 | 87 | 20 | 7 | 1 |
| 40 | 64 | 41 | 7 | 1 |
| 50 | 70 | 23 | 7 | 2 |
| 60 | 43 | 8 | 2 | 1 |
| 70 | 41 | 10 | 4 | 1 |
| 80 | 98 | 23 | 5 | 1 |
| 90 | 14 | 0 | 0 | 0 |
| 100 | 160 | 22 | 2 | 1 |
| Jumlah | 887 | 283 (31.76%) | 46 (5.19%) | 9 |

ditentukan berdasarkan nilai pengamatan terendah sampai tertinggi. Data secara keseluruhan pada Tabel 4 dengan kisaran data ragam dan standar deviasi yang cukup besar yaitu pada karakter jumlah daun dan jumlah cabang.

Hasil analisis nilai ragam terbesar yaitu pada karakter tinggi tunas (2.73 cm) yang dihasilkan dari populasi M80 (iradiasi 80 Gy), jumlah akar (4.00) dihasilkan dari populasi M50 (iradiasi 50 Gy), jumlah daun (108.92) dan jumlah cabang (101.58) dihasilkan populasi M70 (iradiasi 70 Gy) (Tabel 4). Nilai ragam karakter jumlah daun pada populasi perlakuan iradiasi menghasilkan nilai lebih besar dibandingkan kontrol kecuali populasi M100 (iradiasi 100 Gy). Begitu pula karakter jumlah akar dan jumlah cabang pada populasi perlakuan iradiasi menghasilkan nilai ragam lebih besar dibandingkan kontrol. Pada karakter tinggi tunas, perlakuan tanpa iradiasi (kontrol) menghasilkan nilai ragam lebih besar dibandingkan populasi M20 (iradiasi 20 Gy), M60 (iradiasi 60 Gy), M70 (iradiasi 70 Gy) dan M100 (iradiasi 100 Gy). Hasil ini menunjukkan bahwa pemberian iradiasi dapat mempengaruhi perkembangan tunas regeneran yang dihasilkan. Pengaruh yang muncul akan terjadi secara acak dan sulit diketahui kearah mana perkembangan yang akan muncul. Hasil pengamatan menunjukkan perlakuan iradiasi memberikan pengaruh yang berbeda dibandingkan kontrol pada karakter jumlah akar dan jumlah cabang, sedangkan pemberian dosis yang tinggi sekitar 100 Gy dapat menghambat perkembangan tunas regeneran khususnya pada karakter jumlah daun.

Populasi sejumlah 46 tunas regeneran yang dihasilkan pada semua dosis iradiasi dievaluasi pula berdasarkan pada karakter kualitatif. Identifikasi karakter kualitatif didasarkan pada pengamatan visual. Hasil pengamatan visual dipilih 10 planlet yang memiliki keragaman yang besar. Pemilihan ini didasarkan karakter dominan yang dihasilkan seperti bentuk batang berkerut, bentuk daun memanjang, tunas regeneran dengan kondisi tunasnya tegak terbuka dan planlet berwarna hijau tua (Tabel 5). Hasil identifikasi visual yang diperoleh menunjukkan bahwa iradiasi sinar gamma yang diberikan berpengaruh pada karakter kualitatif dan kuantitatif tunas regeneran yang dihasilkan. Hasil serupa diamati oleh Indrayanti *et al.* (2011) pada iradiasi planlet pisang cv. Ampyang yang menghasilkan keragaman yang terlihat secara fenotipik.

Untuk memperkuat seberapa besar tingkat keragaman yang dihasilkan perlakuan induksi iradiasi pada kalus jeruk keprok garut, data pengamatan secara kualitatif dan kuantitatif yang dihasilkan dapat dianalisis dengan program NTSYS versi 2.02. Pengelompokan didasarkan pada 10 karakter yang diamati dari 10 tunas regeneran yang dipilih (9 planlet hasil perlakuan dan 1 planlet sebagai kontrol). Dari hasil analisis diperoleh dendrogram dengan nilai kemiripan 0.42-1.00 atau keragaman morfologi 0-8% (Gambar 2). Nilai korelasi matriks kesamaan $MxComp$ $r = 0.793$ artinya dendrogram yang dihasilkan berdasarkan *goodness of fit* kurang sesuai dalam menggambarkan pengelompokan berbagai keragaman fenotipe.

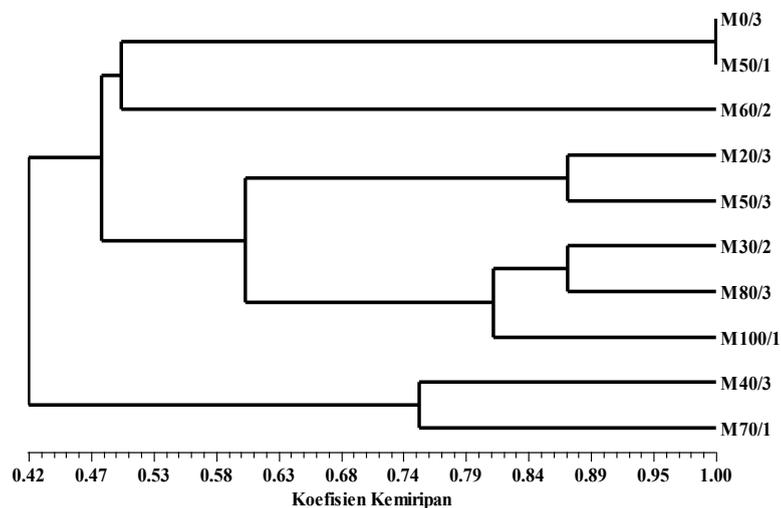
Tabel 4. Data kisaran, rata-rata, ragam dan standar deviasi karakter tinggi tunas, jumlah akar, jumlah daun, jumlah cabang

| Populasi tunas regeneran | Tinggi tunas (cm) | | | | Jumlah akar | | | |
|--------------------------|-------------------|-----------|--------|-----------------|---------------|-----------|--------|-----------------|
| | Kisaran | Rata-rata | Ragam | Standar deviasi | Kisaran | Rata-rata | Ragam | Standar deviasi |
| M0 (kontrol) | 2.7-4.5 | 3.35 | 0.63 | 0.79 | 1.0-2.0 | 1.50 | 0.33 | 0.58 |
| M20 | 2.6-3.7 | 3.11 | 0.14 | 0.38 | 1.0-3.0 | 1.63 | 0.55 | 0.74 |
| M30 | 2.4-4.5 | 3.31 | 0.63 | 0.80 | 0.0-3.0 | 1.29 | 0.90 | 0.95 |
| M40 | 2.6-4.8 | 3.50 | 0.70 | 0.84 | 1.0-3.0 | 1.43 | 0.62 | 0.79 |
| M50 | 2.3-5.4 | 3.39 | 1.31 | 1.14 | 0.0-5.0 | 2.00 | 4.00 | 2.00 |
| M60 | 2.0-2.2 | 2.10 | 0.02 | 0.14 | 1.0-2.0 | 1.50 | 0.50 | 0.71 |
| M70 | 2.3-3.0 | 2.53 | 0.11 | 0.33 | 2.0-4.0 | 3.25 | 0.92 | 0.96 |
| M80 | 2.2-6.3 | 3.52 | 2.73 | 1.65 | 0.0-2.0 | 1.20 | 0.70 | 0.84 |
| M100 | 2.0-2.2 | 2.20 | 0.00 | 0.00 | 0.0-2.0 | 0.50 | 0.50 | 0.71 |
| | Jumlah daun | | | | Jumlah cabang | | | |
| M0 (kontrol) | 6.0-12 | 8.75 | 7.58 | 2.75 | 2.0-6.0 | 4.00 | 3.33 | 1.83 |
| M20 | 5.0-22 | 13.63 | 36.27 | 6.02 | 1.0-18 | 4.38 | 32.27 | 5.68 |
| M30 | 4.0-28 | 17.29 | 37.90 | 6.16 | 1.0-19 | 9.71 | 43.90 | 6.63 |
| M40 | 20.0-36 | 12.00 | 63.67 | 7.98 | 1.0-19 | 4.86 | 40.48 | 6.36 |
| M50 | 11.0-36 | 23.71 | 68.24 | 8.26 | 2.0-10 | 6.71 | 7.24 | 2.69 |
| M60 | 21.0-28 | 24.50 | 24.50 | 4.95 | 9.0-12 | 10.50 | 4.50 | 2.12 |
| M70 | 7.0-30 | 16.75 | 108.92 | 10.44 | 1.0-22 | 9.75 | 101.58 | 10.08 |
| M80 | 5.0-11 | 7.40 | 5.30 | 2.30 | 2.0-90 | 5.60 | 10.30 | 3.21 |
| M100 | 5.0-8.0 | 6.50 | 4.50 | 2.12 | 2.0-7.0 | 4.50 | 12.50 | 3.54 |

Tabel 5. Hasil pengamatan keragaman morfologi tunas regeneran

| Individu tunas regeneran | Bentuk batang | | Bentuk daun | | Ketegapan tunas | | Warna daun | | Akar | |
|--------------------------|---------------|---|-------------|----|-----------------|----|------------|----|------|---|
| | N | B | P | BT | T | TB | H | HM | A | T |
| M0 (kontrol) | √ | - | - | √ | √ | - | √ | - | √ | - |
| M20 | √ | - | √ | - | √ | - | √ | - | √ | - |
| M30 | √ | - | - | √ | - | √ | √ | - | √ | - |
| M40 | - | √ | √ | - | √ | - | √ | - | √ | - |
| M50 | √ | - | - | √ | √ | - | √ | - | √ | - |
| M50 | - | √ | √ | - | √ | - | √ | - | √ | - |
| M60 | √ | - | - | √ | √ | - | √ | - | √ | - |
| M70 | - | √ | - | √ | - | √ | √ | - | √ | - |
| M80 | √ | - | √ | - | - | √ | √ | - | - | √ |
| M100 | √ | - | - | √ | - | √ | √ | - | - | √ |

Keterangan: Bentuk batang: N = Normal; B = Berkerut. Bentuk daun: P = Memanjang; BT = Membulat. Ketegapan tunas: T = Tegak; TB = Tegak terbuka. Warna daun: H = Hijau; HM = Hijau muda. Akar: A = Berakar; T = Tidak berakar



Gambar 2. Dendrogram kemiripan hasil analisis dengan metode pengelompokan UPGMA berdasarkan karakter morfologi dari 10 tunas regeneran *in vitro* hasil iradiasi sinar gamma (M0: planlet sebagai kontrol, M20-M100: planlet hasil iradiasi)

KESIMPULAN

Lethal dose (LD₅₀) kalus embriogenik jeruk keprok garut adalah 75.31 Gy. Tahap regenerasi kalus menghasilkan 887 embrio somatik dengan 31.76% mampu berkecambah dan 5.19% mampu beregenerasi menjadi 46 planlet. Iradiasi gamma pada dosis 70 Gy menghasilkan populasi planlet dengan keragaman yang luas. Pengamatan kualitatif secara visual pada populasi planlet yang dihasilkan terpilih 9 planlet dengan karakter beragam dan diperoleh keragaman planlet berdasarkan penanda morfologi sebesar 0-58%.

DAFTAR PUSTAKA

Altaf, N., M.M. Iqbal, E.U. Khan. 2004. Towards a seedless cultivar of Kinnow Mandarin VII natural and induced variability. Pak. J. Bot. 36:93-102.

Aisyah, S.I. 2009. Induksi mutasi pada stek pucuk anyelir (*Dianthus caryophyllus* Linn) melalui iradiasi sinar Gamma. J. Agron. Indonesia 37:62-70.

[Balitbangtan] Badan Penelitian dan Pengembangan Departemen Pertanian. 1999. Surat Keputusan Menteri Pertanian Nomor 760/kpts/TP.240/6/99 tentang Pelepasan Jeruk Keprok Garut sebagai varietas unggul. Jakarta: Balitbangtan Deptan.

Husni, A., A. Purwito, I. Mariska, Sudarsono. 2010. Regenerasi jeruk Siam melalui embriogenesis somatik. J. AgroBiogen. 6:75-83.

Husni, A., M. Kosmiatin. 2011. Keragaman genetik dan morfologi jeruk siam Pontianak hasil radiasi sinar Gamma. Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi Nuklir. Bandung: Batan, 22 Januari 2011.

- Hutami, S., I. Mariska, Y. Supriati. 2006. Peningkatan keragaman genetik tanaman melalui keragaman somaklonal. *J. AgroBiogen*. 2:81-88.
- Indrayanti, R., N.A. Matjjik, A. Setiawan, Sudarsono. 2011. Radiosensitivitas pisang cv. Ampyang dan potensi penggunaan iradiasi Gamma untuk induksi varian. *J. Agron. Indonesia* 39:112-118.
- Kadir, A., S.H. Sutjahjo, G.A. Wattimena, I. Mariska. 2007. Pengaruh iradiasi sinar Gamma pada pertumbuhan kalus dan keragaman planlet tanaman nilam. *J. AgroBiogen*. 3:24-31.
- Merigo, A.J. 2011. Studi regenerasi tanaman jeruk keprok Batu 55 (*Citrus reticulata*) melalui jalur embrio somatik. Tesis. Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Purnamaningsih, R., I. Mariska, Y. Supriati. 2009. Penggunaan ABA dan paklobutrazol dalam perbanyakan nenas Simadu melalui kultur *in vitro*. *Ber Bio*. 9:751-758.
- Qosim, W.A., R. Poerwanto, G.A. Wattimena, Witjaksono. 2007. Pengaruh iradiasi sinar Gamma terhadap kapasitas regenerasi kalus nodular tanaman manggis. *Hayati J. Biosci*. 14:140-144.
- Rohani, O., K.R. Samsul, R. Rajinder, M.B. Nasir. 2012. Mutation induction using gamma irradiation on oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq) cultures. *J. Oil Palm Res*. 24:1448-1458.
- Romeida, A., S.H. Sutjahjo, A. Purwito, D. Sukma, Rustikawati. 2012. Variasi genetik mutan anggrek *Spathoglottis plicata* Blume. berdasarkan marker ISSR. *J. Agron. Indonesia* 40:218-224.
- Sumaryono, I. Riyadi, P.D. Kasi, G. Ginting. 2008. Growth and differentiation of embryogenic callus and somatic embryos of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) in temporary immersion system. *Indonesian J. Agric*. 1:109-114.
- Yamaguchi, H., A. Shimizu, K. Degi, T. Morishita. 2008. Effects of dose and dose rate of gamma ray irradiation on mutation induction and nuclear DNA content in *Chrysanthemum*. *Breeding Sci*. 58:331-335.