

Pengaruh Mutagen Etil Metan Sulfonat terhadap Kapasitas Regenerasi Tunas Hibrida *Phalaenopsis In Vitro*

Qosim, WA ¹⁾, Istifadah, N¹⁾, Djatnika, I ²⁾, dan Yunitasari¹⁾

¹⁾Fakultas Pertanian, Universitas Padjadjaran, Jl. Raya Bandung-Sumedang Km 21 Jatinangor, Sumedang 45363

²⁾Balai Penelitian Tanaman Hias, Jl. Raya Ciherang-Pacet, Cianjur 43253

Naskah diterima tanggal 29 Agustus 2012 dan disetujui untuk diterbitkan tanggal 26 November 2012

ABSTRAK. Perakitan kultivar yang tahan terhadap penyakit busuk lunak yang disebabkan *Erwinia carotovora* dapat dilakukan dengan teknik induksi mutasi. Tujuan penelitian ialah mengetahui pengaruh mutagen etil metan sulfonat (EMS) terhadap perubahan genetik di antaranya kapasitas regenerasi tanaman angrek *Phalaenopsis* pada kultur *in vitro* dan mengetahui *lethal concentration* (LC) mutagen EMS pada angrek hibrida *Phalaenopsis*. Percobaan ditata dalam rancangan acak lengkap dengan sembilan perlakuan konsentrasi EMS dan diulang tiga kali. Mutagen kimia yang digunakan yaitu EMS dengan konsentrasi 0 ; 0,025 ; 0,050 ; 0,075 ; 0,1 ; 0,125 ; 0,15 ; 0,175; dan 0,2%. Eksplan berupa meristem aksilar angrek hibrida *Phalaenopsis* ditanam pada medium dasar MS+ 2 ml/l BA + 1 ml/l NAA dan diinkubasi pada ruang kultur. Hasil penelitian menunjukkan bahwa etil metan sulfonat memberi pengaruh pada pertumbuhan meristem hibrida *Phalaenopsis* dalam membentuk tunas. EMS dengan konsentrasi 0,025 dan 0,05% memberi pengaruh yang lebih baik terhadap jumlah tunas dan tinggi tunas. LC₅₀ untuk karakter persentase pembentukan tunas ialah 0,112%. Terdapat dua konsentrasi EMS, yaitu 0,025 dan 0,05% yang memberi pengaruh terbaik pada pembentukan tunas hibrida *Phalaenopsis*. Diperoleh beberapa regenerasi mutan potensial dari berbagai perlakuan < 0,15% EMS yang perlu diuji dengan isolat *Erwinia carotovora*.

Katakunci: Hibrida angrek *Phalaenopsis*; Induksi mutasi; EMS

ABSTRACT. Qosim, WA, Istifadah, N, Djatnika, I, and Yunitasari 2012. Effect of Ethyl Methane Sulphonate Mutagent to Capacity of Shoot Regenerations on *In Vitro Phalaenopsis Hybrid*. To improve cultivars resistance to soft rot disease caused by *Erwinia carotovora* can be done by using mutation induction. The research objective was to determine the effect of EMS mutagent *Phalaenopsis* hybrid to change the genetic i.e. capacity of plant regeneration *in vitro* culture and the lethal concentration (LC) of EMS mutagent in *Phalaenopsis* hybrid. The experiment was arranged in a completely randomized design with nine concentrations of EMS treatment and repeated three times. The mutagent of EMS concentrations used were 0, 0.025; 0.050; 0.075; 0.1; 0.125; 0.15; 0.175; and 0.2%. The meristem axilar as explant was be grown on basic medium MS supplemented with 2 ml/l BA + 1 ml/l NAA and incubated in culture room. The results showed that the influence on growth of EMS meristem *Phalaenopsis* hybrids. The EMS mutagent with concentration of 0.025 and 0.05% gave better effect to the high number of shoots and buds. LC₅₀ of the percentage of bud formation character was 0.112%. Two EMS concentrations were 0.025 and 0.05% provided the best influence on the formation of shoot *Phalaenopsis* hybrid. There were many regenerants potential mutant from several EMS treatments < 0.15 % that should be tested by isolate of *E. carotovora*.

Keywords: *Phalaenopsis* hybrid; Induced mutation; EMS

Tanaman angrek termasuk ke dalam famili Orchidaceae, merupakan salah satu jenis tanaman hias komersial yang populer baik di Indonesia maupun di dunia, karena memiliki jenis, variasi bentuk, warna, dan karakter bunga yang sangat indah dan unik, serta mempunyai nilai ekonomi dan estetika tinggi. Spesies angrek yang banyak diminati ialah *Cattleya*, *Vanda*, *Phalaenopsis*, *Dendrobium*, *Oncidium*, dan *Aranthera*. Angrek *Phalaenopsis* (angrek bulan) merupakan salah satu genus angrek yang memiliki 40-60 spesies. Jumlah varietasnya sekitar 140 jenis, 60 di antaranya terdapat di Indonesia. Angrek *Phalaenopsis* menduduki ranking atas dalam perdagangan tanaman angrek di Indonesia (Virnanto 2010), sangat disukai oleh konsumen, dan memiliki harga yang relatif terjangkau, namun memiliki penampilan bunga yang

sangat indah dan bahkan bunganya dapat bertahan sampai kisaran 6 bulan, sehingga dengan keunggulan tersebut angrek bulan diangkat sebagai bunga nasional dengan sebutan Puspa Pesona (Direktorat Tanaman Hias 2004). Salah satu jenis *Phalaenopsis* hibrida yang digemari masyarakat ialah Timothy Christoper dan Leopard Prince. Timothy Christoper memiliki ciri-ciri yaitu 4-5 kuntum bunga, ujung sepal berbentuk *obtuse*, corak sepal polos, dan warna dasar sepal putih, sedangkan Leopard Prince ciri-cirinya yaitu memiliki 3-4 kuntum bunga, ujung sepal berbentuk *obtuse*, corak sepal berbintik, dan berbintik.

Pemuliaan angrek lebih difokuskan pada perbaikan bentuk, warna, ukuran, dan panjang tangkai bunga serta ketahanan terhadap hama dan penyakit. Salah satu penyakit yang merugikan angrek ialah penyakit



busuk lunak. Usaha pemuliaan terhadap karakter ketahanan terhadap penyakit busuk lunak tanaman anggrek hibrida *Phalaenopsis* dapat dilakukan dengan induksi mutasi. Proses pembentukan mutan tanaman anggrek hibrida *Phalaenopsis* dapat dilakukan relatif lebih cepat. Mutan yang terbentuk selanjutnya diseleksi untuk mendapatkan tanaman yang diinginkan, apabila karakter tersebut memiliki keragaman genetik luas. Oleh karena itu, pembentukan keragaman genetik karakter ketahanan terhadap penyakit busuk lunak pada tanaman anggrek hibrida *Phalaenopsis* dengan induksi mutasi sangat penting.

Mutasi spontan terjadi di alam dengan frekuensi sangat rendah, yaitu 10^{-6} per pembelahan sel (Harten 1998), namun dengan induksi mutasi, maka frekuensi mutasi dapat ditingkatkan. Mutasi merupakan kegiatan pemuliaan yang bermanfaat untuk memperluas keragaman genetik suatu tanaman dan dengan seleksi terarah diperoleh mutan yang diharapkan. Mutasi terdiri dari mutasi alami dan buatan. Mutasi buatan (induksi) dapat dilakukan menggunakan mutagen fisik maupun mutagen kimia. Mutagen kimia yang sering digunakan ialah etil metan sulfonat (EMS). EMS banyak digunakan untuk menginduksi beberapa tanaman hias seperti kerk lily (Priyono & Agung 2002).

Pada penelitian sebelumnya dikembangkan metode regenerasi *in vitro* tanaman anggrek. Regenerasi tunas anggrek menggunakan medium dasar MS + 2 ml/l BA dan 1 ml/l NAA. Tujuan penelitian ialah mengetahui pengaruh mutagen EMS terhadap perubahan genetik di antaranya kemampuan regenerasi pada kultur *in vitro* dan mengetahui letal konsentrasi (LC) mutagen EMS pada anggrek hibrida *Phalaenopsis*. Pada tahap selanjutnya regenerasi mutan dievaluasi ketahanan terhadap penyakit busuk lunak yang disebabkan oleh *Erwinia carotovora*. Hipotesis penelitian ini: (1) mutagen EMS dapat berpengaruh terhadap perubahan genetik di antaranya kemampuan regenerasi tanaman dan (2) konsentrasi EMS tertentu dapat menghasilkan mutan potensial anggrek hibrida *Phalaenopsis*.

BAHAN DAN METODE

Percobaan dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Pemuliaan Tanaman, Fakultas Pertanian Universitas Padjadjaran. Percobaan dilaksanakan mulai bulan Oktober 2009 – Nopember 2010. Bahan-bahan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini ialah jaringan meristem anggrek hibrida *Phalaenopsis* hasil persilangan Timothy Christopher x Leopard

Princess (KP07), medium dasar MS (Murashige & Skoog 1962), 2 ml/l BA dan 1 ml/l NAA, alkohol 70 dan 95%, spirtus, akuades steril, agar, gula pasir, dan mutagen EMS.

Prosedur Penelitian

Jaringan meristem anggrek hibrida *Phalaenopsis* dari tunas aksilar (1–5) mm *in vitro* diisolasi di bawah mikroskop binokuler dan diberi perlakuan mutagen EMS pada *laminar air flow* (LAF). Mutagen EMS terdiri dari sembilan konsentrasi EMS, yaitu 0; 0,025; 0,050; 0,075; 0,1; 0,125; 0,15; 0,175; dan 0,2%. Perlakuan mutagen EMS dengan cara perendaman selama 12 jam pada masing-masing konsentrasi EMS, selanjutnya eksplan disterilisasi dengan alkohol 70% selama 20 menit dan dibilas dengan air steril sebanyak tiga kali. Eksplan ditanam dalam botol kultur berisi 20 ml media MS yang dilengkapi + 2 ml/l BA + 1 ml/l NAA, 3% gula pasir, dan 0,8% agar. Setiap perlakuan terdiri dari tiga unit botol kultur, masing-masing eksplan satu botol kultur. Kemasaman media kultur diatur pada 5,7–5,8 dengan 0,1 M KOH atau HCl dan di-autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1,1 kg cm² selama 20 menit. Eksplan diinkubasi di ruang kultur dengan intensitas fluoresen putih (40 µmol/m²/detik) dengan fotoperiodisitas 16 jam terang, suhu ruang dipertahankan ± 22°C dan kelembaban relatif ± 70 %. Pengamatan dilakukan 16 minggu setelah tanam (MST) dan kultur diamati ketika dilakukan subkultur dalam LAF. Peubah pengamatan dilakukan terhadap persentase eksplan membentuk tunas, jumlah tunas, tinggi tunas, dan jumlah daun.

Analisis Data

Data peubah ditransformasikan dengan $\sqrt{x + 0.5}$, karena data dalam bentuk bilangan bulat dan kecil, kecuali persentase jumlah eksplan membentuk tunas ditransformasikan dengan $\arcsin \sqrt{x}$, karena data dalam bentuk persen. Data analisis statistik menggunakan uji F, jika menunjukkan berbeda nyata, maka dilanjutkan dengan uji gugus berganda duncan. Analisis data menggunakan program SAS Release 6.12 (SAS Inst. 1996). Untuk mengetahui *lethal concentration* 50% (LC₅₀) karakter persentase eksplan membentuk tunas digunakan grafik program *microsoft excel*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa eksplan mulai membentuk tunas pada umur 3 minggu setelah kultur (MSK). Eksplan yang paling cepat membentuk



tunas pada perlakuan 0% EMS (kontrol), sedangkan pada perlakuan 0,175 dan 0,2% tidak membentuk tunas. Pada perlakuan konsentrasi EMS (0; 0,025; 0,05; 0,075; 0,1; 0,125; 0,15; 0,175; 0,2) % memperlihatkan waktu pembentukan tunas sangat bervariasi antara 3–5 MSK.

Berdasarkan analisis varians, F-hitung perlakuan menunjukkan berbeda nyata untuk semua variabel yang diamati pada taraf 5% (Tabel 1). Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi EMS sangat berpengaruh terhadap regenerasi membentuk tunas. Selanjutnya analisis statistik dilanjutkan dengan uji gugus berganda Duncan pada taraf 5%.

0,175 dan 0,2% tidak berbeda nyata (Tabel 2). Pada konsentrasi 0,175 dan 0,2% eksplan tidak dapat beregenerasi membentuk tunas, eksplan berwarna kecoklatan dan mati. Hal tersebut disebabkan oleh pengaruh konsentrasi EMS yang tinggi (> 0,15%) terhadap pembentukan tunas.

Pada karakter jumlah tunas per eksplan pada konsentrasi 0,0% rerata jumlah tunas per eksplan ialah 2,67 tunas, sedangkan pada konsentrasi EMS 0,025% rerata hanya 5,33 tunas. Berdasarkan uji gugus berganda duncan menunjukkan empat kelompok di mana perlakuan EMS 0,0% tidak berbeda nyata dengan (0,075; 0,1; 0,125; 0,15%), sedangkan perlakuan

Tabel 1. Analisis varians perlakuan EMS terhadap pembentukan tunas hibrida *Phalaenopsis* pada media MS setelah 16 minggu kultur (Analysis of variance of EMS treatments for produced shoot of *Phalaenopsis* hybrids on basal medium MS after 16 weeks culture)

| Variabel yang diamati (Observation variables) | Sumber variasi (Variation source) | db | Jumlah Kuadrat (Sum square) | Kuadrat tengah (Mean square) | F _{hitung} (F _{cal}) | F _{0,05} |
|---|-----------------------------------|----|-----------------------------|------------------------------|---|-------------------|
| Eksplan membentuk tunas (Explants formed shoot), % | Perlakuan | 8 | 34250,0 | 4281,25 | 18,09** | 2,51 |
| | Galat | 18 | 8562,0 | 237,33 | | |
| | Total | 26 | 42812,0 | | | |
| Jumlah tunas per eksplan (Number of shoot per explants) | Perlakuan | 8 | 13,645 | 1,705 | 5,667** | 2,51 |
| | Galat | 18 | 5,422 | 0,301 | | |
| | Total | 26 | 9,066 | | | |
| Panjang tunas (Number shoot length) | Perlakuan | 8 | 10,056 | 1,257 | 10,289** | 2,51 |
| | Galat | 18 | 2,199 | 0,122 | | |
| | Total | 26 | 12,255 | | | |
| Jumlah daun (Number of leaf) | Perlakuan | 8 | 2,735 | 0,342 | 7,459** | 2,51 |
| | Galat | 18 | 0,825 | 0,046 | | |
| | Total | 26 | 3,560 | | | |

*berbeda nyata (significant different); **berbeda sangat nyata (very significant different) berdasarkan uji F pada taraf 5% (base on F test of 5% level)

Konsentrasi mutagen EMS dapat berpengaruh terhadap persentase eksplan membentuk tunas. Pada konsentrasi EMS 0,0% (kontrol) menunjukkan 80,6% eksplan membentuk tunas, sedangkan pada konsentrasi EMS 0,175 dan 0,2% masing-masing menghasilkan 0%. Hasil analisis uji gugus berganda duncan menunjukkan bahwa pengaruh konsentrasi (0; 0,025; 0,05; 0,075; 0,1; 0,125; 0,15; 0,175; 0,2%) menunjukkan berbeda nyata, kecuali pada konsentrasi

EMS 0,025 dan 0,05% memperlihatkan jumlah tunas paling baik dengan masing-masing 5,33 dan 3,67 tunas. Pada konsentrasi tersebut EMS dapat memacu pertumbuhan tunas. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Priyono & Agung (2002) semakin rendah konsentrasi EMS yang digunakan maka EMS dapat berfungsi sebagai auksin. Menurut Shah *et al.* (2008) dalam Resti *et al.* (2009), penggunaan mutagen dengan konsentrasi rendah dapat menstimulasi dan

Tabel 2. Pengaruh konsentrasi EMS terhadap persentase eksplan membentuk tunas, jumlah tunas, tinggi tunas, dan jumlah daun *Phalaenopsis* hibrida setelah 100 HST (Effect of EMS concentration for percentage explants produced shoots, number of shoots, shoots height, and number of leaf *Phalaenopsis* hybrid after 100 DAP)

| Perlakuan EMS (EMS treatment), % | Persentase eksplan membentuk tunas (Percentage explants produced shoots) | Jumlah tunas (Number of shoot) | Tinggi tunas (Shoots height), cm | Jumlah daun (Number of leaf) |
|----------------------------------|--|--------------------------------|----------------------------------|------------------------------|
| Kontrol = 0 | 80 cd | 2,67 ab | 0,33 ab | 0,56 ab |
| 0,025 | 89 d | 5,33 b | 1,25 c | 2,22 cd |
| 0,05 | 67 c | 3,67 b | 1,89 d | 1,22 bc |
| 0,075 | 25 b | 1,33 ab | 0,61 bc | 1,76 cd |
| 0,1 | 85 cd | 3,00 ab | 0,30 ab | 0,10 a |
| 0,125 | 19 b | 1,00 ab | 0,88 bc | 1,00 bc |
| 0,15 | 20 b | 2,00 ab | 0,77 bc | 2,54 d |
| 0,175 | 0 a | 0,00 a | 0,00 a | 0,00 a |
| 0,2 | 0 a | 0,00 a | 0,00 a | 0,00 a |

Nilai rerata yang ditandai dengan huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata menurut uji jarak berganda Duncan pada taraf 5% (Average value followed by the same letter in the same column are not significant at 5% duncan multiple range test)



meningkatkan diferensiasi sel. Pada perlakuan EMS lebih dari 0,15% tidak menghasilkan tunas. Hal ini karena pengaruh perlakuan EMS pada jaringan meristem anggrek hibrida *Phalaenopsis*. Begitu juga karakter panjang tunas dan jumlah daun sangat dipengaruhi oleh konsentrasi EMS (Tabel 2). Namun demikian, konsentrasi EMS 0,025 dan 0,05% terdapat beberapa kultur yang memiliki panjang tunas dan jumlah daun yang lebih besar dibandingkan kontrol.

Hasil percobaan menunjukkan bahwa EMS konsentrasi 0,175 dan 0,2% semua eksplan tidak dapat beregenerasi membentuk tunas. Hal ini sesuai dengan pendapat Resti *et al.* (2009), perlakuan EMS dapat mendorong pembelahan sel tanaman, namun semakin tinggi konsentrasi EMS yang digunakan, maka dapat menyebabkan kematian pada sel tanaman.

Untuk mengetahui LC_{50} dapat dilakukan menggunakan grafik. Pada letal konsentrasi 100% (LC_{100}) diketahui dari regenerasi tanaman tanpa perlakuan (kontrol), sedangkan LC_{50} diketahui penurunan 50% dari regenerasi tanaman kontrol. Hubungan persentase eksplan membentuk tunas dengan konsentrasi EMS dapat menggunakan persamaan regresi linier yaitu :

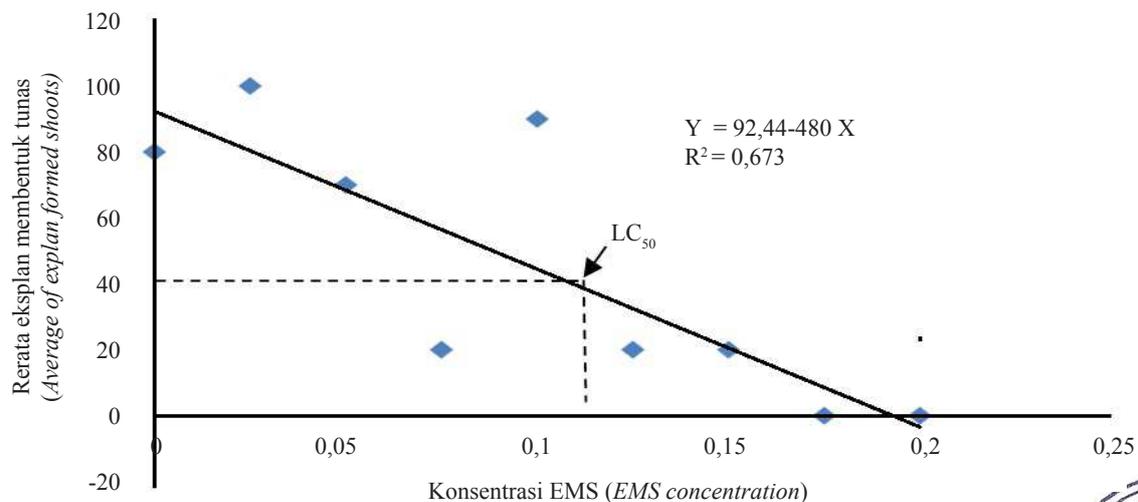
$$Y = 92,44 - 480X$$

di mana:

Y= Persentase eksplan membentuk tunas

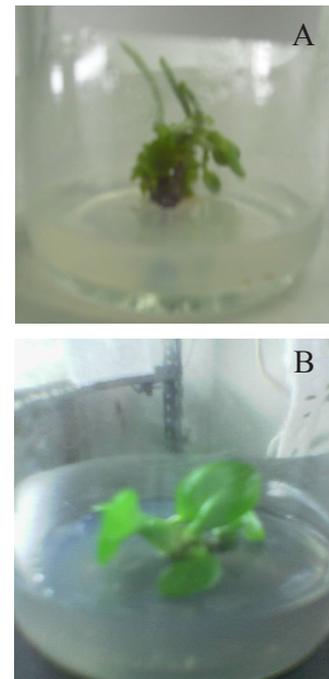
X= Konsentrasi EMS (Gambar 1).

Hubungan persentase eksplan membentuk tunas berbanding terbalik dengan konsentrasi EMS. Semakin tinggi konsentrasi EMS yang digunakan, maka jumlah tunas semakin rendah. Koefisien determinasi (R^2) diketahui sebesar 0,673. LC_{50} terjadi pada konsentrasi EMS 0,112%.



Gambar 1. Pengaruh konsentrasi EMS terhadap persentase eksplan membentuk tunas (*Effect of EMS concentration for percentage produced shoots*)

Konsentrasi EMS yang diuji berpengaruh pada tinggi tunas. Berdasarkan hasil percobaan menunjukkan bahwa EMS pada konsentrasi 0,025 dan 0,05%, memberi pengaruh yang lebih baik dibandingkan dengan konsentrasi EMS yang lain. Pada pengamatan secara visual, tinggi tunas pada perlakuan 0,05% EMS lebih baik jika dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Terdapat beberapa mutan anggrek hibrida *Phalaenopsis* yang diperoleh dari konsentrasi EMS < 0,15%, seperti mutan anggrek dari konsentrasi EMS 0,025 dan 0,05% (Gambar 2).



Gambar 2. Tunas yang terbentuk pada EMS konsentrasi 0,025% (A); 0,05% (B) (*Shoots formed on EMS concentration of 0.025% (A); 0.05% (B)*)

Berdasarkan hasil pengamatan menunjukkan bahwa tidak semua tunas berkembang menjadi daun. Kecepatan tunas untuk berkembang menjadi daun membutuhkan waktu yang berbeda-beda bergantung respons kultur terhadap lingkungan.

Selama masa percobaan, jumlah daun pada perlakuan 0,15% EMS lebih banyak daripada perlakuan lainnya. Hal ini disebabkan karena pada perlakuan lainnya sampai pada masa pengamatan lebih banyak menghasilkan tunas dan perkembangan tunas menjadi daun pada setiap planlet membutuhkan waktu yang berbeda. EMS merupakan senyawa alkil yang berpotensi sebagai mutagen untuk tanaman tingkat tinggi dibandingkan dengan mutagen kimia lainnya. EMS paling banyak digunakan karena mudah dibeli, murah harganya, dan tidak bersifat mutagenik setelah terhidrolisis (Harten 1998). Peningkatan keragaman genetika tanaman dengan induksi EMS telah berhasil dilakukan pada berbagai spesies tanaman seperti tembakau, *Arabidopsis*, kubis bunga, pisang, dan kenaf. Penggunaan EMS dapat menyebabkan terjadinya transisi pasangan basa Guanin-Citosin (GC) menjadi Adenin-Timin (AT) (Harten 1998). Menurut Fisben *et al.* (1970), EMS adalah sejenis mutagen kimiawi penyebab alkilasi yang efektif menginduksi mutasi berbagai jenis organisme. Mutagen kimia dapat menyebabkan metilasi pada basa-basa nitrogen dalam rantai nukleotida DNA tanaman.

Pada konsentrasi EMS lebih dari 0,15% menunjukkan eksplan yang tumbuh sangat sedikit untuk membentuk tunas. Hal ini membuktikan bahwa pengaruh EMS dalam konsentrasi tinggi dapat menyebabkan letalitas/kematian. Mutagen EMS dapat menyebabkan metilasi dalam rantai nukleotida. Proses metilasi mengakibatkan basa-basa molekul DNA salah berpasangan selama replikasi. Dalam kondisi normal guanin (G) berpasangan dengan sitosin (C), apabila guanin mengalami metilasi akibat mutagen EMS, maka terbentuk basa abnormal, yaitu O-6-etilguanin. Enzim DNA polimerasi mengenali O-6-etilguanin menjadi timin yang berpasangan dengan adenin.

Menurut Harten (1998), pada sel yang aktif membelah diri pengaruh EMS dapat terjadi pada tahap sintesis DNA, G_1 , G_2 , dan mitosis. Jika mutagen EMS mengenai sel pada tahap G_1 di mana kromatin DNA belum disintesis, maka sel mengalami duplikasi dan terjadi pemotongan kromosom, sedangkan pada tahap G_2 di mana kromatin DNA sudah disintesis, maka sebagian kromosom terpotong. Tahap sintesis DNA dan G_2 merupakan target untuk perlakuan mutagen, karena pada tahap ini sel mengalami penggandaan kromosom.

Induksi mutasi menggunakan EMS yang menyebabkan terjadinya mutasi pada DNA suatu

tanaman memberi pengaruh morfologi pada tanaman tersebut. Induksi menggunakan beberapa konsentrasi EMS merupakan salah satu cara untuk dapat menghasilkan variabilitas genetik tanaman (Jabeen & Mirza 2004). Pada tanaman hias, hal ini sangat menguntungkan karena yang diharapkan ialah menghasilkan suatu bentuk morfologi tanaman yang berbeda dari tetuanya, sehingga diharapkan dari hasil induksi diperoleh tanaman yang beranekaragam. Berdasarkan penelitian menunjukkan bahwa EMS terbukti dapat menghasilkan mutan antara lain daun variegata pada *Arabidopsis* (Sakamoto *et al.* 2002).

Frekuensi mutasi pada pemuliaan umumnya meningkat dengan meningkatnya konsentrasi mutagen kimia, meskipun survival dan kemampuan eksplan untuk beregenerasi menurun (Bhagwat & Duncan 1998). Hasil pengamatan menunjukkan bahwa pada konsentrasi rendah (<0,05% EMS) terdapat regenerasi di mana tunasnya muncul lebih cepat dibandingkan regenerasi kontrol. Harten (1998) menyatakan konsentrasi rendah dapat menstimulasi perubahan fisiologi tanaman dan pada saat ini perlakuan dosis/konsentrasi rendah banyak digunakan untuk peningkatan perkecambahan dan peningkatan hasil tanaman.

Pada tanaman, EMS biasanya menyebabkan mutasi titik atau hilangnya segmen kromosom (delesi). Induksi mutasi dengan mutagen EMS dapat menyebabkan tanaman lebih cepat berbunga (genjah) dan toleran terhadap herbisida pada kedelai dan mandul jantan pada gandum. EMS dapat menyebabkan variasi fenotipik pada kentang seperti bentuk daun dan ukuran buah (Jabeen & Mirza 2004). Girija & Dhanavel (2009) menyatakan bahwa EMS banyak digunakan untuk pengembangan pemuliaan tanaman dan lebih efektif pada perubahan dalam struktur gen dan mutasi titik (*point mutation*). Pada konsentrasi EMS *in vitro* dapat meningkatkan induksi kalus dan produksi biomasa serta kandungan GA_3 untuk memperpanjang tunas (Junaid *et al.* 2008).

KESIMPULAN

1. Perlakuan induksi dengan mutagen EMS memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan meristem angrek hibrida *Phalaenopsis* dalam pembentukan tunas.
2. Beberapa regenerasi mutan potensial yang berasal dari konsentrasi EMS (< 0,15 %).
3. LC_{50} untuk karakter persentase pembentukan tunas ialah 0,112%. Terdapat dua konsentrasi EMS yaitu



0,025 dan 0,05% yang memberikan pengaruh terbaik pada pembentukan tunas mutan anggrek hibrida *Phalaenopsis*.

SARAN

1. Penggunaan konsentrasi EMS disarankan tidak melebihi 0,15%, sehingga memberi peluang untuk mendapatkan mutan yang diharapkan semakin besar, seperti ketahanan terhadap penyakit busuk lunak.
2. Regenerasi mutan yang berasal dari eksplan yang tidak melebihi 0,15 % EMS disarankan untuk diuji dengan filtrat isolat *E. carotovora*.
3. Untuk membuktikan perubahan genetik regenerasi mutan harus diuji dengan marka molekular atau sitologi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Kepala Badan Litbang Kementerian Pertanian melalui Hibah Penelitian KKP3T (No. Kontrak: No. 704/LB.620/I.1/2/2009) atas dukungan finansial serta semua pihak yang telah membantu penelitian ini.

PUSTAKA

1. Bhagwat, B & Duncan, EJ 1998, ' Mutation breeding of highgate (*Musa acuminata*, AAA) for tolerance to *Fusarium oxysporum* sp. cubense using gamma irradiation', *J. Euphytica*, vol. 101, pp. 143-50.
2. Direktorat Tanaman Hias 2004, *Standar prosedur operasional anggrek Dendrobium*, Direktorat Tanaman Hias, Jakarta.
3. Fisben, L, Flamm, WG & Falk, HL 1970, *Chemical mutagen: environmental effect on biological system*, Academic Press, New York.
4. Giriija, M & Dhanavel, D 2009, 'Mutagenic effectiveness and efficiency of gamma rays ethyl methane sulphonate and their combined treatments in cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp). *Glob. J. Mol. Sci.* vol. 2, no. 4, pp. 68-75.
5. Jabeen, N & Mirza, B 2004, 'Ethyl methane sulfonate induces morphological mutations in *Capsicum annum*. *Int. J. Agri. Biol.*, vol. 6, no. 2, pp. 340-45.
6. Junaid, A, Mujib & Sharma, MP 2008, 'Effect of growth regulators and ethylmethane sulphonate on growth, and chlorophyll, sugar and Proline contents in *Dracaena sanderiana* cultured in vitro', *Biol. Plantarum*, vol. 52, no. 3, pp. 569-72.
7. Harten, V 1998, *Mutation breeding: theory and practical application*, Cambridge University Press, London.
8. Murashige T & Skoog, F 1962, 'A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture', *Physiologia Plantarum*, vol. 15, pp. 473-79.
9. Priyono & Agung, SW 2002, 'Respon regenerasi in vitro eksplan sisik mikro Kerk Lily (*Lilium longiflorum*) terhadap Ethyl Methane Sulfonate (EMS)', *J. Ilmu Dasar*, vol. 3, no. 2, hlm. 74-79.
10. Resti, Z, Yanti Y, & Sutoyo 2009, *Strategi mendapatkan mutan bawang merah yang tahan terhadap penyakit hawar daun Xanthomonas melalui induksi mutasi secara in vitro dengan Ethyl Methane sulfonate*, diunduh 6 Mei 2011, <www.batan.go.id.patir/pert/pemuliaan/pemuliaan.html>.
11. Sakamoto, W, Tamura, T, Hanba-tomita, Y, Sodmergen & Murata, M 2002, 'The Var 1 locus of arabidopsis encode a chloroplastic FtsH and its responsible for leaf variegation in mutant alleles', *Gene to Cell.*, vol. 7, pp. 769-80.
12. SAS Institute 1996. The SAS Release 6.12./Guide's for user. Louisiana, USA.
13. Virnanto 2010, *Prospek dan Manfaat Anggrek*, diunduh 4 Juli 2011, <http://matematikacerdas.wordpress.com>.

