



Universitas Jember



PERIPI

Perhimpunan Ilmu Pemuliaan Indonesia
KOMDA Jawa Timur

ISBN 978-602-9030-54-9

PROSIDING SEMINAR NASIONAL PEMULIAAN

Sumbangsih Pemulia Indonesia
dalam Mewujudkan Kedaulatan Pangan

Reviewer:

Prof.Dr.Ir. Sri Hartatik, MS.

Dr.Ir. Miswar, MP.

Dr.rer.hort.Ir. Ketut Anom Wijaya

Ir. Kacung Hariyono, MS., Ph.D.

Ir. Anang Syamsunihar, MSc., Ph.D.

Dr.Ir. Sholeh Avivi, MSi.



KERJASAMA FAPERTA-UNEJ DAN PERIPI KOMDA JATIM
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
22-23 OKTOBER 2014

AGR 17
**Induksi Mutasi Untuk Seleksi Ketahanan Terhadap Salinitas Tanaman Tebu
(*Saccharum officinarum* L.) Secara *In Vitro***

Sigit Soeparjono

Fakultas Pertanian Universitas Jember
s.soeparjono@gmail.com

Abstrak

Tebu (*Saccharum officinarum* L.) merupakan tanaman penting yang bernilai ekonomi tinggi dan dipakai sebagai bahan baku utama penghasil gula pasir di Indonesia. Salah satu alternatif untuk mencapai swasembada gula adalah meningkatkan produksi tebu dengan cara perluasan areal tanam ke lahan-lahan marginal yaitu lahan-lahan non subur yang mempunyai potensi rendah untuk dimanfaatkan sebagai lahan pertanian karena adanya cekaman lingkungan yang berdampak pada penurunan produktivitas tanaman tebu. Perbaikan sifat genetik tanaman tebu dapat dilakukan melalui induksi mutasi dengan menggunakan mutagen fisik yaitu sinar gamma Co-60. Kemudian mutan-mutan yang dihasilkan di seleksi menggunakan agen seleksi NaCl dengan kadar yang berbeda dilakukan secara *in vitro*. Melalui induksi mutasi dan kultur *in vitro* diharapkan mampu menghasilkan varietas tebu baru yang tahan cekaman salinitas. Penelitian ini bertujuan untuk meningkatkan keragaman genetik pada sel kalus tebu melalui induksi sinar gamma Co-60 yang digunakan untuk seleksi ketahanan terhadap salinitas dan menghasilkan plantlet serta bibit tebu kadar garam tinggi. Penelitian dua faktor dengan menggunakan RAL dalam 4 ulangan masing-masing untuk meneliti tingkat radiasi sinar gamma (tanpa radiasi dan 20 Gy) dan konsentrasi kadar NaCl (0, 3, 6, 12 gram/liter) pada varietas tebu Bulu lawang. Data hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan radiasi sinar gamma Co-60 dengan radiasi 20 Gy dan peningkatan kadar NaCl dari 3 s/d 12 gram per liter pada media seleksi *in vitro* berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan dan keragaman sel kalus maupun plantlet tebu varietas Bulu Lawang. Kombinasi perlakuan radiasi 20 Gy sinar gamma Co-60 dengan kadar NaCl 3 gram/liter menunjukkan pengaruh nyata terhadap pertumbuhan dan keragaman sel kalus maupun plantlet tebu dibandingkan dengan kombinasi perlakuan lainnya. Hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa perlakuan induksi mutasi dengan sinar gamma Co-60 pada sel kalus dapat meningkatkan keragaman ketahanan terhadap salinitas untuk sel kalus maupun plantlet tebu varietas Bulu Lawang dengan kadar salinitas maksimal 3 gram per liter.

Kata Kunci : Induksi mutasi, salinitas, sel kalus, plantlet, keragaman.

Pendahuluan

Tebu (*Saccharum officinarum* L.) merupakan tanaman penting yang bernilai ekonomi tinggi dan dipakai sebagai bahan baku utama penghasil gula pasir di Indonesia.. Lahan marginal merupakan lahan-lahan non subur yang mempunyai potensi rendah untuk dimanfaatkan sebagai lahan pertanian karena adanya cekaman lingkungan yang berdampak pada penurunan produktivitas tanaman tebu.

Tanaman yang tumbuh di lahan salin akan menghadapi dua masalah, yang pertama adalah penyerapan air terhambat karena potensial air di dalam tanah negatif,

dan masalah ke dua adalah kandungan ion natrium, karbonat, dan klorida tinggi yang beracun bagi tanaman, sehingga mengakibatkan pertumbuhan abnormal dan produktivitas tanaman turun, termasuk tanaman tebu. Oleh karena itu perlu adanya strategi untuk menghadapi lahan salin adalah dengan cara perbaikan kultivar untuk mendapatkan tanaman tebu yang tahan terhadap cekaman salinitas.

Teknik induksi mutasi dapat dimanfaatkan untuk meningkatkan keragaman genetik tanaman, tetapi perubahan sifat genetik yang dihasilkan dari teknik induksi mutasi sangat beragam. Oleh karena itu, untuk mengarahkan perubahan sifat genetik ke arah yang diinginkan dapat menggunakan metode seleksi *in vitro*.

Keragaman genetik tanaman yang dihasilkan melalui kultur jaringan dapat digunakan sebagai bahan baku penemuan varietas unggul. Keragaman genetik dapat ditimbulkan oleh induksi radiasi sinar gamma Co^{60} pada kalus. Induksi tersebut diharapkan mampu meningkatkan keragaman genetik tanaman. Induksi mutasi yang dikombinasikan dengan kultur *in vitro* dapat memperbaiki karakter suatu spesies dan memacu keragaman genetik yang lebih tinggi (Cassells, 2002 dalam Pulungan, 2010). Rumusan masalah yang dapat diajukan adalah pemanfaatan lahan marginal seperti lahan salin untuk pengembangan tanaman tebu dapat diawali dengan penyediaan bibit tebu tahan cekaman salinitas melalui perakitan varietas tebu baru dengan metode seleksi *in vitro* ditingkat sel kalus dengan perlakuan sinar gamma Co^{60} pada berbagai radiasi serta pengujian di media (MS + NaCl) pada berbagai konsentrasi. Diharapkan melalui penelitian ini dapat menghasilkan teknologi dalam seleksi ditingkat sel sehingga dapat mengatasi masalah yang ada..

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan keragaman genetik pada sel kalus tebu melalui induksi sinar gamma Co^{60} untuk bahan seleksi ketahanan terhadap salinitas dan memproduksi planlet tebu serta bibit tebu tahan salinitas. Selain itu juga bertujuan untuk mengetahui pengaruh masing-masing perlakuan dari dosis radiasi sinar gamma, dan konsentrasi NaCl serta interaksi dari kedua perlakuan tersebut terhadap semua parameter yang diamati.

Tinjauan Pustaka

Tebu (*Saccharum officinarum* L.) merupakan tanaman C4 yang menghendaki penyinaran matahari secara langsung dengan lama penyinaran 7–9 jam per hari dan intensitas cahaya 3000 – 4500 *footcandle*. Fotosintesisnya melibatkan dua kumpulan sel yaitu sel mesofil dan sel bundle sheat. Produk awal fiksasi CO_2 nya berupa senyawa empat atom karbon yakni malat dan aspartat yang berlangsung di dalam sel mesofil. Faktor pembatas pertumbuhan tanaman tebu adalah cekaman abiotik, salah satunya adalah cekaman salinitas. Tebu sangat sensitif terhadap cekaman salinitas (Shomeili *et al.* 2011).

Mutasi merupakan perubahan karakter yang diwariskan (*heritable*) yang disebabkan adanya perubahan gen atau kromosom, perubahan karyotipe, susunan kromosom, dan perubahan sitoplasma. Hal ini disebabkan adanya kerusakan pada benang-benang spindel pada fase anafase dalam mitosis (Pratiwi, 1995). Variasi genetik yang muncul antara lain sifat tinggi tanaman, luas dan bentuk daun, warna daun, vigor tanaman, dan resistensi terhadap ketahanan terhadap cekaman abiotik.

Mutasi buatan adalah mutasi yang sengaja digunakan untuk menimbulkan keragaman genetik tanaman dengan menggunakan radiasi atau senyawa kimia yang mutagenik. Mutagen kimia dan fisik dapat mempercepat terjadinya mutasi yang berguna untuk perbaikan sifat genetik suatu tanaman. Mutagen kimia merupakan mutagen yang berasal dari senyawa kimia yang mempunyai gugus alkil seperti etil metan sulfonat,

dietil sulfat, metil metan sulfonat, hidroksil amina, dan nitrous acid. Sedangkan mutagen fisika merupakan mutagen yang berasal dari radiasi energi nuklir seperti sinar gamma Co^{60} mempunyai kemampuan dalam menginduksi mutasi pada materi genetik untuk menimbulkan perubahan komposisi materi genetik suatu tanaman.

Salah satu sinar radioaktif yang bisa digunakan untuk menimbulkan mutasi adalah sinar gamma Co^{60} sejenis metal yang mempunyai karakteristik hampir sama dengan besilnikel (Sinaga, 2000). Radiasi sinar gamma dipancarkan dari isotop radio aktif, panjang gelombangnya lebih pendek dari sinar X dengan daya tembus tinggi Co^{60} .

Radiasi dapat menginduksi terjadinya mutasi karena sel yang terkena paparan radiasi akan dibebani oleh tenaga kinetik yang sangat tinggi, sehingga mampu mengubah reaksi kimia sel tanaman yang menyebabkan terjadinya perubahan susunan kromosom tanaman (Achron dan Hidayat, 2011). Dosis radiasi tinggi dapat menghambat atau mengaktifkan satu set gen yang berhubungan dengan asam nukleat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa stek batang tebu yang diradiasi dengan dosis 10-15 Gy sinar gamma menghasilkan mutan tebu yang tahan penyakit, kualitas nira dan kadar gula meningkat, serta berumur genjah (Srivastava *et al.* 1986, Khan *et al.* 1999,).

Pengaruh salinitas terhadap tanaman mencakup tiga aspek yaitu mempengaruhi tekanan osmosis, keseimbangan hara, dan pengaruh racun, yang dapat dijelaskan sebagai berikut : (a) adanya ion-ion Na^+ dan Cl^- yang terlarut dalam tanah menyebabkan peningkatan tekanan osmotik disekitar perakaran tanaman, pada kondisi tersebut penyerapan air terhambat dan mengakibatkan kemampuan pemanjangan dan pembelahan sel-sel tanaman menurun. Stres osmotik pada tanaman mengakibatkan tanaman mengalami cekaman kekeringan. (b) banyaknya Na^+ di dalam tanah menyebabkan ketersediaan unsur Ca^+ , Mg^{2+} , P, dan K^+ yang dapat diserap bagi tanaman menurun, gejala defisiensi unsur hara dapat dicirikan dengan adanya nekrosis, klorosis, dan daun gugur. (c), meningkatnya kandungan Cl^- diikuti pula oleh berkurangnya kandungan NO_3^- dalam tajuk, dan tingginya akumulasi ion Na^+ di dalam jaringan atau sel tanaman menyebabkan Na^+ dapat menyebabkan dispersi koloid protoplasma hingga terjadi disorganisasi.

Dua mekanisme toleransi tanaman dalam menghadapi cekaman salinitas yaitu mekanisme morfologi dan mekanisme fisiologi. Mekanisme morfologi tanaman dalam menghadapi cekaman salinitas adalah adaptasi morfologi dalam bentuk perubahan struktur antara lain ukuran daun lebih kecil, stomata lebih kecil per satuan luas, penebalan kutikula dan lapisan lilin di permukaan daun, dan lignifikasi akar lebih awal. Mekanisme fisiologi tanaman dalam menghadapi cekaman salinitas antara lain dengan membentuk senyawa osmoregulator (senyawa yang berfungsi untuk mengatur potensial osmosis), kompartementasi, sekresi garam, dan Integritas Membran. Tanaman yang mengalami cekaman salinitas akan mengakumulasi asam amino prolin di dalam jaringan. Pada kondisi normal, prolin yang disintesis oleh tanaman bersifat umpan balik. Adanya air menyebabkan prolin dioksidasi kembali menjadi asam glutamat, sehingga konsentrasi prolin tetap rendah. Pada kondisi cekaman salinitas oksidasi prolin terhambat sehingga produksi prolin meningkat dalam jaringan tanaman (Fitranty, dkk., 2003).

Seleksi merupakan upaya pemilihan tanaman yang tahan terhadap cekaman lingkungan. Seleksi dilakukan untuk memperoleh varietas unggul yang tahan terhadap cekaman lingkungan, termasuk cekaman salinitas. Upaya untuk mendapatkan tanaman yang tahan terhadap cekaman salinitas dilakukan dengan cara menumbuhkan eksplan tebu pada medium yang salin.

Mutan tebu yang diperoleh dari induksi radiasi sinar gamma Co^{60} pada kalus tebu merupakan mutan sejati karena dianggap planlet berasal dari sel tunggal (Nadar *et al.*, 1978). Seleksi dapat dikerjakan pada tingkat sel tunggal *in vitro* dengan memberikan tekanan seleksi pada medium tumbuh. Keuntungan seleksi tingkat sel adalah jutaan sel dapat ditumbuhkan pada ruang tumbuh yang sempit dan dapat diperlakukan seragam terhadap cekaman lingkungan. Perubahan genetik pada sifat-sifat yang dapat diidentifikasi di tingkat sel dapat dilakukan langsung dalam kultur *in vitro*, meliputi ketahanan terhadap penyakit, herbisida, dan cekaman lingkungan. Fitch dan Moore (1981) dan Liu dan Yeh (1982) berhasil mengisolasi sel-sel tebu yang dapat tumbuh pada media yang mengandung 1,5% NaCl. Sehingga ada harapan untuk mendapatkan varietas baru yang tahan terhadap kadar garam tinggi melalui seleksi *in vitro*.

Metode Penelitian

Percobaan ini dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Jurusan Budidaya Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Jember, selama 6 bulan. Menggunakan bahan percobaan terdiri dari pucuk tebu varietas bulu lawang (BL), media MS, air kelapa, NaCl, 2,4 D, kinetin, GA₃, IBA, alkohol. Adapun peralatan yang digunakan meliputi timbangan analitik, hand sprayer, erlenmeyer, gelas piala, dll.

Percobaan ini terdiri dari dua faktor dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (2x4) dengan empat kali ulangan. Faktor pertama adalah Induksi radiasi sinar gamma CO^{60} dengan dosis radiasi yang terdiri dari dua taraf yaitu : R0: tanpa radiasi dan R1: 20 Gy. Faktor kedua adalah kadar NaCl yang terdiri dari empat taraf yaitu :N0 : 3 gr/liter, N1 : 6 gr/liter, N2 : 8 gr/liter, N3 : 12 gr/liter.

Pelaksanaan percobaan meliputi : a) Membuat media jenis MS menggunakan larutan stok yang telah disiapkan. b) Induksi kalus tebu dilakukan selama 45 hari pada media MS + 3 ppm 2,4 D + 3% air kelapa + 30 g/l gula + 8 g/l agar, pH 7. c) Induksi radiasi dilakukan pada kalus yang berumur 45 hari setelah inisiasi. Radiasi menggunakan sinar gamma Cobalt isotop 60. d) Kalus yang telah diradiasi di sub kultur ke media tanam MS + 3 ppm 2,4 D + 3% air kelapa + 30 g/l gula + 8 g/l agar, pH 7. e) Mutan kalus yang kemudian di sub kultur ke media regenerasi yaitu medium MS + 1,5 mg/l GA₃ + 0,5 mg/l kinetin + IBA 1 gr/l + NaCl sesuai dengan taraf perlakuan

Hasil Dan Pembahasan

Semua kalus yang diradiasi dengan dosis 20 Gray hidup dan mampu berproliferasi 100%. Planlet yang tumbuh dari hasil kalus radiasi, setelah berumur 1,5 bulan di media pertunasan, dilakukan pengamatan terhadap persentase planlet hidup, jumlah tunas, tinggi tunas, jumlah akar dan panjang akar. Data pada Tabel 1. menunjukkan bahwa interaksi antara faktor dosis radiasi sinar gamma Co^{60} dengan konsentrasi NaCl memberikan pengaruh sangat nyata terhadap persentase kalus hidup, dan memberikan pengaruh nyata terhadap volume kalus, persentase proliferasi kalus, namun memberikan pengaruh berbeda tidak nyata terhadap warna kalus. Perlakuan radiasi sinar gamma Co^{60} memberikan pengaruh sangat nyata terhadap persentase kalus hidup, dan memberikan pengaruh nyata terhadap warna kalus tebu, namun memberikan pengaruh berbeda tidak nyata terhadap volume kalus dan persentase proliferasi kalus tebu. Perlakuan konsentrasi NaCl memberikan pengaruh sangat nyata terhadap persentase kalus hidup, volume kalus, persentase proliferasi kalus, dan warna kalus.

[posisi Tabel 1]

Gambar 1, menunjukkan bahwa kalus yang mempunyai adaptasi fisiologis pada saat cekaman NaCl di media MS 1 menyebabkan sel-sel mengalami kematian. Sedangkan sel yang mempunyai gen tahan salinitas mampu berdiferensiasi membentuk tunas.

Hasil penelitian Andreu (2012) melaporkan bahwa radiasi dosis rendah cenderung menyebabkan aberasi kromosom dan mutasi. dan sel kalus tebu dapat bertahan hidup pada dosis rendah 20 – 30 Gray (Solichatun, 1999). Hasil pengamatan visual yang dilakukan pada 2 hari setelah radiasi menunjukkan bahwa radiasi sinar gamma Co^{60} berpengaruh terhadap perubahan warna kalus. Karyanti, dkk (2012), menyatakan bahwa perubahan warna kalus merupakan salah satu indikator adanya respon yang disebabkan oleh radiasi sinar gamma Co^{60} . Radiasi 20 Gray menimbulkan kerusakan sel yang ditandai dengan bercak-bercak hitam (nekrosis) pada kalus. Menurut Kovács and Keresztes (2002) dalam Andreu, et al (2012), paparan radiasi sinar gamma pada sel menyebabkan terbentuknya radikal bebas di dalam sel. Radikal bebas tersebut dapat menyebabkan kerusakan sel atau kerusakan komponen penting di dalam sel. Warna kalus juga dipengaruhi oleh konsentrasi NaCl. Hasil analisis varian menunjukkan bahwa konsentrasi NaCl memberikan pengaruh sangat nyata terhadap warna kalus tebu. Timbulnya perbedaan penampilan fenotipe kalus tersebut disebabkan oleh perbedaan perlakuan dosis radiasi pada kalus dan konsentrasi NaCl dalam media seleksi. Semakin tinggi konsentrasi NaCl di dalam media akan menyebabkan penampilan kalus semakin jelek, artinya warna kalus lebih banyak coklat sampai hitam dan struktur kalus semakin lengket (remah lengket). Menurut Soeparjono (1983), kalus yang tahan terhadap cekaman salinitas tinggi adalah kalus yang mempunyai warna putih kekuningan dan struktur remah. Sebaliknya kalus yang tidak tahan terhadap salinitas tinggi mempunyai warna hitam dan berstruktur lengket. Dalam hal ini, dosis radiasi 20 Gray mampu menghambat penurunan degradasi warna kalus tebu pada lingkungan salinitas tinggi. Interaksi antara perlakuan salinitas dan gamma dapat menetralkan efek salinitas terhadap penurunan konsentrasi klorofil atau degradasi klorofil pada jeruk limon. Ketahanan salinitas pada kalus tebu diduga berhubungan dengan kemampuan sel kalus mengatur konsentrasi ion Na^+ dan Cl^- di dalam sitoplasma. Kalus yang tidak tahan terhadap salinitas ditunjukkan dengan penampilan struktur kalus lembek atau remah lengket. Hal ini diduga disebabkan adanya akumulasi ion Na^+ dan Cl^- yang berlebihan di dalam sel dan ketidakmampuan sel dalam mengatur konsentrasi ion di dalam sitoplasma sehingga terjadi plasmolisis sel yaitu keluarnya air dari sel. Tan (1991), menyatakan bahwa konsentrasi NaCl (garam) yang tinggi akan menyebabkan sel tanaman mengalami plasmolisis, sehingga air dalam sel tanaman bergerak keluar menuju larutan tanah (media tanam).

. Gambar 1, menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi NaCl diikuti dengan penurunan volume kalus tebu. Gejala cekaman salinitas pada kalus tebu mulai tampak pada konsentrasi NaCl 3 g/l,.. Peningkatan konsentrasi NaCl dari 3 g/l sampai dengan 12 g/l menyebabkan penurunan volume kalus tebu. Hasil ini sesuai dengan penelitian Soeparjono (2003) yang melaporkan bahwa peningkatan konsentrasi NaCl (0.5 % - 2.0 %) menurunkan berat basah dan berat kering kalus tebu, hal ini juga mengindikasikan adanya penurunan volume kalus tebu. Peningkatan osmotik di sekitar kalus mengakibatkan terjadinya hambatan penyerapan air dan hara melalui difusi dan

efeknya terlihat adanya hambatan pembelahan sel yang berpengaruh terhadap penurunan nilai volume kalus. Sel kalus yang tidak mengalami cekaman salinitas mampu tumbuh ke arah vertikal dan horizontal, sedangkan kalus yang ditumbuhkan pada media salin menunjukkan pertumbuhan ke arah vertikal dan horisontal terhambat, sehingga mempengaruhi penebalan koloni sel kalus di permukaan media.

Kalus yang mengalami cekaman konsentrasi NaCl 3 g/l dan 6 g/l menunjukkan bahwa kalus mampu tumbuh ke arah vertikal dan horisontal tetapi pada kondisi ini terjadi penurunan pertumbuhan sel yang berpengaruh terhadap penurunan volume kalus. Perlakuan konsentrasi NaCl 12 g/l menyebabkan pertumbuhan sel kalus ke arah horisontal dihambat dan koloni sel yang kontak langsung dengan media mengalami kematian, sedangkan sel lapisan atas tetap tumbuh ke arah vertikal, hal ini disebabkan sel kalus pada lapisan atas tidak mengalami kontak langsung dengan media salin. Peningkatan konsentrasi 12 g/l NaCl menyebabkan pertumbuhan sel ke arah vertikal dan horizontal terhambat dan sel banyak mengalami kematian keadaan ini menyebabkan volume kalus sangat rendah. Hasil analisis varian menunjukkan bahwa terdapat interaksi yang nyata antara radiasi sinar gamma Co^{60} dan konsentrasi NaCl terhadap volume kalus tebu. Data keragaman volume kalus tebu pada perlakuan dosis radiasi dan konsentrasi NaCl. Timbulnya perbedaan volume kalus tersebut disebabkan oleh perbedaan perlakuan dosis radiasi dan konsentrasi NaCl dalam media tumbuh. Menurut Wels (1991) dalam Farid, dkk (2006), apabila terdapat perbedaan antara dua individu pada lingkungan yang sama dan dapat diukur, maka perbedaan tersebut berasal dari keragaman genotipe kedua tanaman tersebut. Dengan demikian, ketahanan salinitas pada kalus tebu tampaknya berhubungan dengan adanya gen tahan salinitas yang dimiliki oleh kalus tebu. Ketahanan cekaman salinitas (NaCl) juga berhubungan dengan ketidakmampuan sel kalus rentan untuk mengurangi pengangkutan ion kedalam sel. Dosis radiasi 20 Gray memberikan ketahanan terhadap salinitas tinggi. Jika dibandingkan dengan perlakuan tanpa dosis radiasi. Dosis radiasi 20 Gray memiliki volume kalus paling tinggi pada cekaman salinitas diberbagai konsentrasi NaCl. Sedangkan kalus yang tidak diberi perlakuan radiasi tergolong tidak tahan (peka) terhadap cekaman salinitas. Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan radiasi sinar gamma Co^{60} pada kalus tebu dapat memberikan ketahanan terhadap cekaman salinitas tinggi. Persentase proliferasi kalus mencerminkan pertumbuhan dan pembelahan sel kalus tebu. Proliferasi diartikan pertumbuhan dan penambahan sel secara cepat dalam keadaan abnormal. Hasil analisis varian menunjukkan bahwa konsentrasi NaCl memberikan pengaruh sangat nyata terhadap penurunan persentase proliferasi kalus tebu. Peningkatan konsentrasi NaCl secara nyata menurunkan persentase proliferasi kalus tebu.

Hasil analisis varian menunjukkan bahwa terdapat interaksi nyata antara radiasi sinar gamma Co^{60} dengan konsentrasi NaCl terhadap persentase proliferasi kalus tebu. Hal ini berarti bahwa kombinasi perlakuan dosis radiasi dan konsentrasi NaCl nyata menimbulkan keragaman terhadap persentase proliferasi kalus tebu. Hal ini mengindikasikan bahwa kalus yang diberi perlakuan radiasi lebih tahan terhadap cekaman salinitas. Dengan demikian, ketahanan salinitas pada kalus tebu tampaknya berhubungan dengan adanya gen tahan salinitas yang dimiliki oleh kalus tebu. Kalus yang mempunyai ketahanan terhadap salinitas tinggi adalah kalus yang dihasilkan dari perlakuan dosis radiasi 20 Gray. Hal ini dibuktikan dengan nilai persentase proliferasi pada kalus yang diberi perlakuan dosis radiasi 20 Gray pada konsentrasi NaCl 4

g/l – 16 g/l mempunyai nilai persentase proliferasi yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan perlakuan lainnya.

Hasil analisis uji DMRT taraf 5% menunjukkan bahwa cekaman salinitas dapat menurunkan kualitas warna kalus tebu, volume, dan persentase proliferasi kalus. Konsentrasi NaCl 12 g/l digunakan sebagai batas untuk seleksi ketahanan salinitas tingkat kalus. Hal ini terlihat pada konsentrasi NaCl 12 g/l kalus tebu masih mampu tumbuh dan berproliferasi membentuk sel baru, sedangkan peningkatan konsentrasi NaCl 16 g/l menyebabkan semua genotipe yang diuji mengalami penekanan pertumbuhan dan banyak mengalami kematian sel. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian Farid, dkk (2006), melaporkan bahwa konsentrasi NaCl 12 g/l dapat digunakan sebagai batas ketahanan untuk seleksi tingkat ketahanan tebu terhadap salinitas. Regenerasi tebu diawali dengan pembentukan daun kecil yang disebut *thallus like structure (tls)*. Pada tepi *tls* terdapat titik-titik tumbuh yang nantinya akan berkembang menjadi *plantlet*).

Perlakuan radiasi sinar gamma Co^{60} pada kalus tebu dapat menurunkan regenerasi tunas. IAEA (2001) melaporkan bahwa pemberian perlakuan radiasi sinargamma dapat menurunkan regenerasi sel kalus. Selain radiasi, rendahnya kemampuan regenerasi tunas tebu juga disebabkan oleh cekaman salinitas (NaCl). Soeparjono., (2003) melaporkan bahwa NaCl dapat menghambat regenerasi kalus tebu, perlakuan cekaman salinitas pada konsentrasi NaCl 0.5% menyebabkan regenerasi dari kalus tebu (genotipe missan) hanya mencapai 4.9% dan peningkatan konsentrasi NaCl 1.5% menyebabkan kalus tidak mampu beregenerasi.

Sinar gamma dapat mempengaruhi morfologi, anatomi, biokimia, fisiologi tanaman, dan mengakibatkan perubahan pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Semakin rendah respon regenerasi dapat dikaitkan dengan efek racun akibat induksi radiasi sinar gamma. Radiasi menyebabkan kerusakan sel dan mengalami mutasi lethal (mutan atau keturunan mitosis tidak tahan hidup). Ketika dilakukan induksi radiasi, sinar gamma yang dipancarkan diserap oleh bahan biologis dan terjadi interaksi dengan atom atau molekul (terutama air) yang menghasilkan radikal bebas di dalam sel. Radikal ini dapat memodifikasi senyawa penting di dalam sel dan menyebabkan kerusakan sel, yang berdampak terhadap pertumbuhan dan perkembangan sel-sel vegetatif. Terjadi kematian beberapa tunas mutan yang bisa disebabkan oleh stres, cedera *ireversibel*, gangguan lokal, dan kecocokan kondisi regenerasi yang diprovokasi oleh radiasi sinar gamma yang dapat melebihi kapasitas sel untuk memperbaiki kerusakan. Selain radiasi, terhambatnya pembentukan tunas juga disebabkan oleh cekaman salinitas (NaCl). Persentase tunas yang dihasilkan sangat sedikit (Tabel 2), hasil tersebut menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi NaCl tinggi (6 g/l – 12 g/l) menyebabkan sel mengalami stress berat sehingga menyebabkan diferensiasi tunas terhambat. Menurut Farid, dkk., (2006) menyatakan bahwa konsentrasi NaCl (12 g/l) menyebabkan semua genotipe mengalami stress berat dan menyebabkan proses diferensiasi ke arah pembentukan organ terhambat, hal ini disebabkan adanya molekul NaCl yang mengalami ionisasi menjadi Na^{+} dan Cl^{-} menyebabkan peningkatan salinitas media yang dapat menginduksi terjadinya cekaman ion dan mengakibatkan kematian sel-sel kalus. Penampilan *tls* yang mampu beregenerasi membentuk tunas disajikan pada Gambar 2.

Tabel 2 menunjukkan bahwa inisiasi *plantlet* terjadi pada umur 10 hari setelah subkultur ke media regenerasi. Pada saat cekaman salinitas *plantlet* mengalami kematian pada umur satu bulan. Tetapi setelah *plantlet* mati, muncul tunas baru yang mampu tumbuh dan berdiferensiasi membentuk tunas baru yang tahan terhadap cekaman 3 g/l NaCl.

Berdasarkan pengamatan visual, kondisi mutan yang dihasilkan yaitu pertumbuhan tunas hampir normal tetapi mempunyai daun yang menggulung. Ketahanan mutan ini tergolong toleran terhadap salinitas pada konsentrasi NaCl 3 g/l. Untuk mengetahui dan memastikan adanya gen ketahan salinitas pada tunas tebu yang dihasilkan dari perlakuan radiasi dosis 20 Gray dan konsentrasi NaCl,

Kesimpulan

Perlakuan induksi mutasi dengan sinar gamma CO-60 dosis 20 Gray pada sel kalus dapat meningkatkan keragaman ketahanan terhadap salinitas untuk sel kalus maupun *plantlet* tebu varietas Bulu Lawang. Konsentrasi NaCl 12 g/l memberikan tekanan stres paling tinggi terhadap pertumbuhan kalus maupun *plantlet* tebu. Kombinasi radiasi sinar gamma 20 dengan kadar NaCl 3g/l memberikan pengaruh baik terhadap pertumbuhan dan ketahanan salinitas mutan tebu

Daftar Pustaka

- Achrom, M. Dan J. Hidayat. 2011. *Pengaruh Irradiasi Sinar Gamma (Cobalt 60) Terhadap Mikroflora Umbi Bawang Merah (Allium ascalonicum)*. Balai uji Terap Teknik dan Metode Karantina Pertanian.
- Farid, M.; Y. Musa; Nasruddin; dan Darmawan. 2006. Variasi Somaklonal Tebu Tahan Salinitas Melalui Mutagen In Vitro. *Agrivigor* 5 (3) : 247 – 258.
- Fitranty, N., F. Nurilmala, D. Santoso, dan H. Minarsih. 2003. Efektifitas *Agrobacterium* Mentransfer gen P5CS ke dalam Kalus Tebu Klon PS 851. *Menara Perkebunan* 71 (1) : 16-27.
- Ismachin, M. 1988. *Pemuliaan Tanaman dengan Mutasi buatan. Pusat Aplikasi Isotop Radiasi*. BATAN. Jakarta
- Karyanti, A., Purwito., dan A.Husni 2012. Pengaruh induksi mutasi sinar gammma pada regenerasi kalus embriogenik keprok garut Citrus reticulum L). Prosiding simposium dan seminar bersama PERAGI-PERHORTI-PERIPI-HIGI Mendukung kedaulatan pangan dan energi yang berkelanjutan. BPPT- IPB-BB Biogen.Kementan.
- Lahay, R. R. 2009. *Pemuliaan Tanaman Tebu*. IBP. Bogor.
- Mariska, I. dan S. Rahayu. 2011. *Pengadaan Bibit Tebu Melalui Kultur Jaringan*. Pusat Penelitian Gula Indonesia. 2004. Deskripsi Tebu Varietas Bl (Bululawang). P3GI. Pasuruan. *Online* www.sugarresearch.org.
- Pratiwi, T. 1995. *Pengaruh Radiasi Sinar Gamma Terhadap Variasi Somaklonal Tanaman Stevia (Stevia rebaudiana Bertoni)*. IPB. Bogor.
- Pulungan, S. I., dan N. M. A. Wiendi. 2010. *Induksi Keragaman Genetik Tanaman Anthurium Wave Of Love (Anthurium Plowmanii Croat) Dengan Radiasi Sinar Gamma Dari 60co Secara In Vitro*. Makalah Seminar IPB. Bogor.

- Riduan, A. 2012. Variasi Somaklonal Sebagai Salah Satu Sumber Keragaman Genetik untuk Perbaikan Sifat Tanaman. *Agronomi* 11 (2) : 107-112.
- Sipayung, R. 2003. *Stress Garam dan Mekanisme Toleransi Tanaman*. Universitas Sumatera Utara. Sumatera Utara.
- Situmorang, A., A. Zannati, D. Widyajayantie, dan S. Nugroho. 2011. Identifikasi Galur-Galur Padi Mutan Insersi Toleran dan Rentan Cekaman Salinitas Berdasarkan Karakter Multivariat Pertumbuhan dan Biokimia pada Fase Vegetatif. *Berita Biologi* 10 (4) : 471- 480.
- Shomeili, M.; M. Nabipour ; M. Meskarbashee; H. R. Memari. 2011. Evaluation of Sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) Somaclonal Variants Tolerance to Salinity In Vitro and In Vivo Cultures. *African Journal of Biotechnology* 10 (46) : 9337 – 9343.
- Sugiyarta, E., dan G. Soepardi. 1991. *Kultur In Vitro di Pusat Penelitian Perkebunan Gula Indonesia*. P3GI. Pasuruan.
- Soeparjono.S ((1983) Peningkatan ketahanan tanaman tebu terhadap kadar salinitas melalui kultur in vitro. Tesis. Program Pasca Sarjana, IPB Bogor/
- Wahyudi, P; U. Suwahyono; Harsoyo; A. Mumpuni; dan D. Wahyuningsih. 2005. Pengaruh Pemaparan Sinar Gamma Isotop Cobalt-60 Dosis 0,25-1 k Gy Terhadap *Trichoderma harzianum* pada *Fusarium oxysporum*. *Berk. PeneL Hayati* 10 : 143-151.
- Yulianti., FC.Martasari., Karsiinah dan T Hartono.2010.Keragaman Genetik Jeruk Keprok SoE. Hasil radiasi sinar gamma menggunakan penannda ISSR. *Buletein Plasma Nutfah* 16 (2).

DAFTAR ISI

KEYNOTE SPEAKER: Strategi Riset Pemuliaan Untuk Mendukung Ketahanan Pangan Berkelanjutan - Sumarno.....	4
Inventarisasi Jenis Hijauan Pakan Ternak Di Daerah Kintamani Guna Mendukung Pengembangan Ternak Sapi Potong - Ida Ayu Putu Parwati, N. Suyasa	14
Dampak Keterbatasan Tenaga Kerja terhadap Pendapatan Usahatani Padi (Studi Kasus di Subak Gubug I) - Nyoman Ngurah Arya, Suharyanto, I Ketut Mahaputra	21
Kajian Penggunaan Beberapa Metode untuk Penentuan Kriteria Seleksi Kakao (<i>Theobroma cacao</i> L.) Asal Biji - Bayu Setyawan, Taryono, Suyadi Mitrowihardjo.....	29
Tingkat Ketahanan Pangan Rumahtangga Petani Berbasis Agroekosistem Lahan Sawah Irigasi - Suharyanto, Widyantoro, K Mahaputra, N Ngurah Arya, J Rinaldi	36
Kajian Potensi Ekonomi dan Keberlanjutan Usahatani Singkong Guna Mendukung Pengembangan Agribisnis Singkong di Kabupaten Pacitan - Triana Dewi Hapsari, Muhammad Hadi Makmur, Anwar, Alfian Futuhul Hadi.....	46
Faktor Penentu Dalam Adopsi Teknologi Pemeliharaan Sapi Bali Pada Program Simantri Di Bali - I Nyoman Suyasa, IAP. Parwati, I Nyoman Sugama.....	58
Variasi Genetik Karakter Kuantitatif Plasma Nutfah Kedelai Dan Korelasinya Dengan Hasil - Ratri Tri Hapsari, Heru Kuswanto, Mudji Rahayu	66
Peran Pupuk Mg Terhadap Serapan Mg, Efisiensi Mg, Dan Biomassa Pada Bibit Kelapa Sawit (<i>Elaeis guineensis</i> Jacq.) di Pembibitan Utama - Eltis Panca Ningsih, Sudradjat, Supijatno ...	73
Efek Suplai N pada Berat Panen dan Kadar Nitrat dalam Jaringan Tanaman Selada (<i>Lactuca sativa</i> L.) - Ketut Anom Wijaya	79
Pengaruh Jarak Tanaman Pada Sistem Sri (System of Rice Intensifications) dan Dosis Pupuk Kalium Nitrat Secara Foliar Feeding terhadap Pertumbuhan dan Hasil Padi - Gatot Subroto, Setiyono dan Rizki Aditya Pradana.....	82
Kajian Perubahan Sifat Fisiologis Tanaman Padi dalam Kondisi Tergenang Berlebih Terhadap Aplikasi Formula Pupuk Silikon - Sundahri, S.N.W.T. Ningrum dan R. Soedradjad.....	92
Penggunaan Ekstrak Bahan Alami untuk Pertumbuhan Plantlet Anggrek Tipe Simpodial (<i>Orchidaceae</i>) - Parawita Dewanti, Soetilah Hardjosoedarmo, Jazilatur Rosyidah	98
Induksi Mutasi Untuk Seleksi Ketahanan Terhadap Salinitas Tanaman Tebu (<i>Saccharum officinarum</i> L.) Secara In Vitro - Sigit Soeparjono	105
Pengaruh pemberian senyawa humik pada penggunaan lahan yang berbeda terhadap produksi kedelai - Sugeng Winarso.....	116
Ketahanan Beberapa Varietas Lokal Singkong (<i>Manihot esculenta</i>) Terhadap Cekaman Salinitas - Halimatus Sa'diyah, Sholeh Avivi	122
Teknik Penyilangan Anggrek <i>Dendrobium</i> sp dalam Upaya untuk Meningkatkan Keragaman Anggrek - Didik Pudji Restanto, Parawita Dewanti, Slameto dan Budi Kriswanto -	129