

**Radiosensitivitas dan Pertumbuhan *In Vitro* Protocorm Anggrek ‘Tien Soeharto’  
(*Cymbidium hartinahianum* J.B. Comber & R.E. Nasution)**

***Radiosensitivity and In Vitro Growth of ‘Tien Soeharto’ Orchid  
(*Cymbidium hartinahianum* J.B. Comber & R.E. Nasution) Protocorm***

Elizabeth Handini<sup>1</sup>, Dewi Sukma<sup>2\*</sup>, Sudarsono<sup>2</sup>, dan Ika Roostika<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Pusat Konservasi Tumbuhan Kebun Raya, LIPI

Jl. Ir. H. Juanda No. 13, Paledang, Bogor Tengah, Bogor 16122, Indonesia

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

<sup>3</sup>Balai Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumber Daya Genetik Pertanian  
Jl. Tentara Pelajar 3A, Bogor 16111, Indonesia

Diterima 10 Februari 2020/Disetujui 18 November 2020

**ABSTRACT**

*C. hartinahianum* J.B. Comber & R.E. Nasution is an endemic orchid in North Sumatra. The habitat of *C. hartinahianum* is restricted in highland with low temperature. Most of its natural habitat has been shifted to other land use. Induced mutation using gamma-ray irradiation is an alternative method to obtain the orchid mutant with better vigor and tolerance to higher temperatures. This study aimed to evaluate *C. hartinahianum* protocorm's radiosensitivity to gamma irradiation and evaluate irradiated protocorm growth in two different temperature culture rooms. The protocorms were exposed to 0, 5, 10, 15, and 20 Gy of gamma irradiation. A half number of irradiated protocorm were incubated at 16-18 °C and a half another at 22-27 °C culture room temperature to evaluate their radiosensitivity and growth. The result showed that the LD<sub>20</sub> and LD<sub>50</sub> of protocorm cultured in 16-18 °C were 26.98 Gy and 38.24, while the LD<sub>20</sub> and LD<sub>50</sub> of protocorm cultured in 22-27 °C were at 17.08 Gy and 27.29 Gy. Protocorm-like bodies (PLBs) proliferation and shoot morphogenesis were better in the tissue culture room at 22-27°C. This experiment suggested that the re-irradiation of PLBS could be performed at the LD<sub>20</sub> or LD<sub>50</sub> at 22-27 °C culture room (17.08 Gy and 27.29 Gy) to find a putative mutant of *C. hartinahianum*.

**Keywords:** gamma rays irradiation, in vitro mutation induction, multiplication, lethal-dose, protocorm like bodies (PLBs)

**ABSTRAK**

*C. hartinahianum* J.B. Comber & R.E. Nasution merupakan salah satu jenis anggrek endemik di Sumatera Utara. Habitatnya terbatas di dataran tinggi dengan suhu rendah. Habitat alami tersebut sudah banyak dikonversi untuk penggunaan lainnya. Induksi radiasi sinar gamma merupakan metode alternatif untuk mendapatkan tanaman mutan toleransi terhadap kondisi suhu yang tinggi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui radiosensitivitas protocorm *C. hartinahianum* J.B. Comber & R.E. Nasution terhadap iradiasi sinar gamma dan pertumbuhan PLBs di suhu ruang kultur yang berbeda. Protocorm diiradiasi dalam kisaran dosis iradiasi 0, 5, 10, 15, dan 20 Gy, kemudian separoh populasi protocorm pasca iradiasi diinkubasi dalam ruang kultur dengan suhu 16-18 °C dan separoh yang lain di suhu 22-27 °C, untuk mengevaluasi radiosensitivitas dan pertumbuhannya. Hasil penelitian menunjukkan bahwa LD<sub>20</sub> dan LD<sub>50</sub> protocorm di ruang kultur bersuhu 16-18 °C adalah 26.98 Gy dan 38.24, sementara LD<sub>20</sub> dan LD<sub>50</sub> protocorm pada ruang kultur bersuhu 22-27 °C adalah 17.08 Gy dan 27.29 Gy. Proliferasi PLBs dan morfogenesis tunas *C. hartinahianum* lebih baik pada ruang kultur dengan suhu 22-27 °C. Hasil penelitian menunjukkan bahwa re-irradiasi sinar gamma sebaiknya dilakukan pada LD<sub>20</sub> atau LD<sub>50</sub> dari ruang kultur dengan suhu 22-27 °C yaitu sebesar 17.08 Gy dan 27.29 Gy, untuk mendapatkan mutan putatif *C. hartinahianum*.

**Kata kunci:** dosis letal, induksi mutasi in vitro, iradiasi sinar gamma, multiplikasi, protocorm like bodies (PLBs)

\* Penulis untuk korespondensi. e-mail: [dewi\\_sukma@apps.ipb.ac.id](mailto:dewi_sukma@apps.ipb.ac.id)

## PENDAHULUAN

Anggrek *Cymbidium hartinahianum* J.B. Comber & R.E. Nasution ditemukan Comber dan Rusdi E Nasution, (peneliti dari Herbarium LBN/LIPI Bogor) pada tahun 1976. Peneliti tersebut memberi nama anggrek tersebut dengan anggrek 'Tien Soeharto' dan ditetapkan sebagai salah satu jenis tumbuhan yang dilindungi berdasarkan Peraturan Pemerintah (PP) No. 7/1999. *C. hartinahianum* merupakan anggrek endemik dataran tinggi yang terdistribusi di daerah Siborong-borong hingga Sidikalang (Sumatera Utara) pada ketinggian sekitar 1680 m dpl dan pegunungan Leuser Aceh pada ketinggian 2600 m dpl (Comber 2001).

*C. hartinahianum* mempunyai potensi sebagai induk silangan karena morfologi bunganya yang indah dan tangkai bunga yang panjang dan tegak. *C. hartinahianum* dapat menghasilkan buah dan biji untuk perkecambahan *in vitro* (Handini dan Garvita, 2013). Propagasi *in vitro* dan regenerasi planlet juga sudah berhasil dilakukan, namun masih terkendala dengan persentase hidup tanaman yang rendah pada tahap aklimatisasi planlet di lingkungan dataran rendah (Bogor) (Handini *et al.*, 2017). Ketidakcocokan kondisi agroklimat dataran rendah di Bogor yang memiliki suhu lebih tinggi dari habitat asli *C. hartinahianum* di dataran tinggi bersuhu rendah diduga menjadi penyebab utama kegagalan aklimatisasi planlet, oleh karena itu pemuliaan tanaman untuk mendapatkan varian baru *C. hartinahianum* yang beradaptasi di dataran rendah sangat diperlukan.

Pemuliaan tanaman melalui hibridisasi dengan *C. hartinahianum* sulit dilakukan karena keterbatasan jumlah tanaman sebagai pohon induk. Perbaikan genetik dengan mutasi induksi merupakan pendekatan pelengkap dalam perbaikan genetik tanaman (Sinuraya *et al.*, 2015). Mutagen fisik merupakan radiasi pengion yang mampu melepaskan energi ionisasi ketika melewati materi. Sensitivitas bahan tanaman terhadap iradiasi dapat diukur dari nilai LD (*lethal dosage*) yaitu dosis yang menyebabkan kematian dari populasi tanaman. Sensitivitas terhadap iradiasi dipengaruhi oleh faktor genetik atau jenis anggrek yang diiradiasi (Kim *et al.*, 2020). Sensitivitas protocorm anggrek *C. hartinahianum* terhadap iradiasi sinar gamma belum pernah diteliti. Informasi tentang radiosensitivitas protocorm *C. hartinahianum* diperlukan untuk penelitian lebih lanjut induksi mutasi dengan radiasi sinar gamma pada spesies tanaman tersebut.

Mutagen fisik dengan sinar gamma adalah yang paling sering digunakan dalam induksi mutasi tanaman (Dehgahi dan Joniyas, 2017). Sinar gamma dapat menginduksi mutasi yang menimbulkan sifat toleransi tanaman terhadap cekaman abiotik maupun biotik (Schum, 2003; Nur *et al.*, 2019). Mutan-mutan hasil iradiasi ini tidak memiliki efek residu seperti mutan-mutan yang diperoleh dari perlakuan kimia, sehingga dapat dikatakan produk mutan hasil iradiasi lebih aman (Tiwari *et al.*, 2017).

Kombinasi antara kultur *in vitro* dengan mutasi berpotensi menghasilkan keragaman genetik yang besar yang menjadi objek utama dalam pemuliaan tanaman hias. Hasil iradiasi gamma pada generasi ketiga planlet *Celosia*

*cristata* menunjukkan terjadi perubahan morfologi pada planlet antara lain terlihat pada memendeknya ruas dan mengeritingnya daun, terutama pada dosis LD<sub>50</sub>, LD<sub>30</sub> dan LD<sub>20</sub> dari *C. cristata* yaitu 68.73 Gy, 46.68 Gy, dan 35.65 Gy (Hayati *et al.*, 2016). Perlakuan induksi mutasi dengan sinar gamma diharapkan dapat memunculkan karakter baru pada anggrek (Lestari *et al.*, 2018) antara lain warna bunga, ukuran, morfologi, umur simpan, arsitektur dan kekuatan tanaman (vigor) (Billore *et al.*, 2019).

*Protocorm* merupakan struktur yang terbentuk setelah perkecambahan benih anggrek dalam kultur *in vitro*. *Protocorm like bodies* (PLBs) merupakan struktur seperti protocorm yang dapat terbentuk dari *protocorm* primer maupun eskplan tanaman lainnya seperti potongan daun (Lee *et al.*, 2013, Raynalta *et al.*, 2018). *Protocorm* merupakan materi anggrek yang ideal untuk induksi mutasi *in vitro*. Perbedaan morfologi akibat perlakuan iradiasi pada *protocorm Spathoglottis plicata* Blume terjadi pada dosis sekitar LD<sub>50</sub> yaitu munculnya PLBs variegata disekitar dosis 40-60 Gy dan PLBs albino di sekitar dosis 60-70 Gy (Romeida *et al.*, 2012). Indikasi terjadinya mutasi dapat terlihat dari pertumbuhan tanaman seperti pada anggrek *Dendrobium macrophyllum* A. Richard, terjadi penurunan jumlah tunas, daun dan akar pada dosis 10 Gy (Handini, 2019).

Pemberian iradiasi diharapkan dapat menginduksi pembentukan mutan yang toleran terhadap lingkungan bersuhu tinggi di dataran rendah. Iradiasi sinar gamma pada tanaman gandum menghasilkan galur-galur yang adaptif di lingkungan di ketinggian kurang dari 1000 m dpl (Nur *et al.*, 2015). Penelitian ini merupakan studi awal yang bertujuan untuk mengetahui radiosensitivitas *protocorm* anggrek *C. hartinahianum* terhadap iradiasi sinar gamma dan evaluasi pertumbuhan PLBs pasca induksi mutasi di dua suhu ruang kultur yang berbeda.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan Pusat Konservasi Tumbuhan Kebun Raya-LIPI dan Badan Tenaga Nuklir Nasional (BATAN), Jakarta, pada Januari hingga Desember 2016. Bahan tanaman yang digunakan adalah *protocorm* anggrek *C. hartinahianum* 'Tien Soeharto' hasil perkecambahan benih.

### *Uji Radiosensivitas Protocorm terhadap Iradiasi Sinar Gamma*

Percobaan menggunakan rancangan acak lengkap dengan satu faktor perlakuan berupa level dosis iradiasi. Level dosis iradiasi yang diuji sebanyak lima taraf (0, 5, 10, 15, dan 20 Gy) dengan 10 ulangan. Setiap ulangan terdiri dari 1 botol dan setiap botol terdiri dari lima *protocorm*. *Protocorm* diberi perlakuan iradiasi sinar gamma yang bersumber dari pancaran elemen radioaktif cobalt-60 (<sup>60</sup>Co) (Hazekamp, 2016). *Protocorm* yang telah diiradiasi dipindahkan ke media MS (Murashige dan Skoog, 1962) ditambah dengan PVP 250 mg L<sup>-1</sup>, gula 30 g L<sup>-1</sup>, dan agar 7 g L<sup>-1</sup>. *Protocorm* yang telah diiradiasi ditempatkan di dua

kondisi suhu yang berbeda, 5 ulangan diinkubasi di ruang kultur suhu rendah 16-18 °C dan 5 ulangan di ruang kultur dengan suhu sedang 22-27 °C. Pengamatan di dua suhu ruang tersebut dilakukan untuk menghitung radiosensitivitas yaitu dengan cara menghitung jumlah *protocorm* yang hidup setiap dua minggu. Radiosensitivitas pada *protocorm* yang diiradiasi ditentukan pada dosis yang menimbulkan reduksi daya hidup atau tingkat kematian PLBs sebanyak 20 dan 50 % (LD<sub>20</sub> dan LD<sub>50</sub>) dibandingkan dengan kontrol pada siklus vegetatif yang pertama (M<sub>1</sub>V<sub>1</sub>). Radiosensitivitas diukur dengan menggunakan *CurveExpert* 1.3. pada 16 minggu setelah iradiasi (MSI).

#### *Proliferasi dan Regenerasi Protocorm Pasca Iradiasi pada Dua suhu Ruang Kultur Rendah (16-18 °C) dan Sengah (22-27 °C)*

*Protocorm* yang hidup sesudah diiradiasi dengan sinar gamma dengan dosis 0, 5, 10, 15, dan 20 Gy dipindahkan ke media proliferasi berupa modifikasi Knudson C (yang selanjutnya disebut sebagai KCA) (Puspitaningtyas dan Handini 2014) pada pH 5.6 ditambah BA 5 mg L<sup>-1</sup> dan NAA 0.5 mg L<sup>-1</sup>. *Protocorm* diinkubasi hingga 18 MSI di kedua ruang seperti pada saat evaluasi radiosensitivitas. Penyinaran ruang inkubasi menggunakan lampu neon 36 W dengan lama penyinaran 12 jam. Pengamatan dilakukan terhadap peubah jumlah PLBs dan jumlah tunas yang terbentuk hingga 18 Minggu Setelah Subkultur (MSS). Selanjutnya PLBs dan tunas yang terbentuk disubkultur ke media regenerasi berupa media KCA tanpa zat pengatur tumbuh, dan diamati jumlah tunas dan daun yang terbentuk hingga 18 minggu setelah subkultur (MSS) dari media proliferasi. Analisis data menggunakan uji sidik ragam (uji F), sedangkan perbedaan respon pertumbuhan PLBs antara dua ruang menggunakan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada tingkat kesalahan ( $\alpha$ ) 5%.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

#### *Radiosensitivitas Protocorm C. hartinahianum di Ruang Kultur Suhu 16-18 °C dan 22-27 °C setelah Iradiasi Sinar Gamma*

Persentase hidup *protocorm* pasca iradiasi dengan sinar gamma 0-20 Gy di ruang kultur 16-18 °C dan ruang kultur 22-27 °C pada 24 minggu setelah iradiasi (MSI) disajikan pada Tabel 1. Ruang kultur dengan suhu 16-18 °C merupakan suhu yang mengacu pada suhu di habitat alami *C. hartinahianum*. Pada ruang kultur 16-18 °C, terlihat tidak adanya penurunan persentase daya hidup *protocorm* sampai dosis iradiasi 15 Gy, namun pada dosis iradiasi 20 Gy terjadi penurunan persentase *protocorm* yang hidup menjadi 91.07%. Rata-rata persentase hidup *protocorm* di ruang 16-18 °C sebesar 98.2%. Sebaliknya di ruang kultur 22-27 °C, persentase hidup *protocorm* pasca iradiasi sinar gamma nyata lebih rendah pada 15 dan 20 Gy (70.1 dan 74.3%). Rata-rata persentase hidup *protocorm* di ruang kultur 22-27 °C sebesar 86.8%. Radiosensitivitas *protocorm C. hartinahianum* berdasarkan persen hidup *protocorm*

pada 24 MSI pada ruang 16-18 °C menunjukkan LD<sub>20</sub> pada dosis iradiasi gamma 26.98 Gy dan LD<sub>50</sub> pada dosis 38.24 Gy (Gambar 1A). Sementara itu, di ruang kultur 22-27 °C, diperoleh LD<sub>20</sub> pada iradiasi gamma 17.08 Gy dan LD<sub>50</sub> pada 27.29 Gy (Gambar 1B). LD<sub>20</sub> dan LD<sub>50</sub> yang dihasilkan berada diluar rentang dosis yang diuji, sehingga perlu dilakukan iradiasi *protocorm* dengan dosis iradiasi yang lebih tinggi sehingga didapatkan LD<sub>20</sub> dan LD<sub>50</sub> dalam rentang dosis yang diuji. Radiosensitivitas pada PLBs berbagai jenis anggrek *Cymbidium* hibrida RB001 ditemukan LD<sub>50</sub> pada dosis iradiasi 40 Gy (Lee et al., 2016), RB003 sebesar 30 Gy dan pada RB012 sebesar 29.0 Gy, berdasarkan berat relatif PLBs (Kim et al., 2020).

Persentase *protocorm* hidup pada kedua ruang kultur tidak berbeda nyata. Namun pada dosis iradiasi 15 dan 20 Gy, persentase hidup *protocorm* pada suhu ruang kultur 22-27 °C, nyata lebih rendah yaitu sebesar 70.1% dan 74.3% (Tabel 1). Kondisi ruang kultur yang bersuhu dingin diduga menurunkan cekaman terhadap *protocorm* pasca iradiasi, sehingga persen *protocorm* hidup lebih tinggi (>90%). Sebaliknya suhu ruang kultur 22-27 °C, kemungkinan memberikan cekaman terhadap *protocorm* pasca iradiasi, sehingga persen *protocorm* hidup menurun terutama pada dosis iradiasi yang lebih tinggi (15 dan 20 Gy). Meskipun demikian, belum ada laporan penelitian pada tanaman lain yang menunjukkan bahwa suhu ruang kultur yang lebih rendah dapat mengurangi efek cekaman iradiasi terhadap pertumbuhan tanaman *in vitro*.

#### *Proliferasi dan Regenerasi Tunas MIV1 Pasca Iradiasi Sinar Gamma*

Tabel 2 menunjukkan pertumbuhan atau proliferasi *protocorm* (MIV1) membentuk PLBs dalam media proliferasi (media KCA di tambah BAP 5.0 mg L<sup>-1</sup> dan NAA 0.5 mg L<sup>-1</sup>) pada 18 Minggu Setelah Subkultur (MSS). Multiplikasi PLBs diamati dengan menghitung pertambahan jumlah PLBs dari 1 *protocorm* awal sehingga membentuk *clump* PLBs, dan jumlah PLBs dari setiap *clump* yang membentuk tunas. Pada ruang kultur 16-18 °C, jumlah PLBs yang terbentuk cenderung meningkat dengan bertambahnya dosis iradiasi. Jumlah PLBs pada kontrol rata-rata sebanyak 1.4 PLBs, sedangkan pada perlakuan iradiasi 3-5 PLBs. Rata-rata jumlah PLBs pada ruang kultur 16-18 °C, pada semua dosis iradiasi, nyata lebih tinggi dari kontrol. Sedangkan pada ruang kultur 22-27 °C, jumlah PLBs nyata lebih tinggi dari kontrol adalah pada dosis iradiasi 10 dan 15 Gy. Pada tahap proliferasi, pada ruang kultur 16-18 °C, jumlah PLBs yang beregenerasi membentuk tunas pada kontrol tidak berbeda nyata dengan berbagai dosis iradiasi, yaitu sebanyak 1-2 tunas. Sebaliknya pada ruang kultur suhu (22-27 °C), rata-rata jumlah PLBs pada perlakuan iradiasi sebanyak 3-7 tunas, lebih tinggi dibanding kontrol. Jumlah PLBs terbanyak dihasilkan pada perlakuan iradiasi 10 Gy, pada ruang kultur 22-27 °C, yaitu sebanyak 7.2 PLBs. Meskipun demikian, uji t menunjukkan jumlah tunas dan PLBs antara kedua ruang kultur tidak berbeda nyata.

Tabel 3 menunjukkan pertumbuhan PLBs setelah dipindah ke media regenerasi (Media KCA tanpa ZPT).

Tabel 1. Pengaruh dosis iradiasi terhadap persentase daya hidup *protocorm* *C. hartinahianum* sebelum diiradiasi dan setelah diiradiasi di ruang kultur suhu 16-18 °C dan suhu 22-27 °C pada 16 MSI

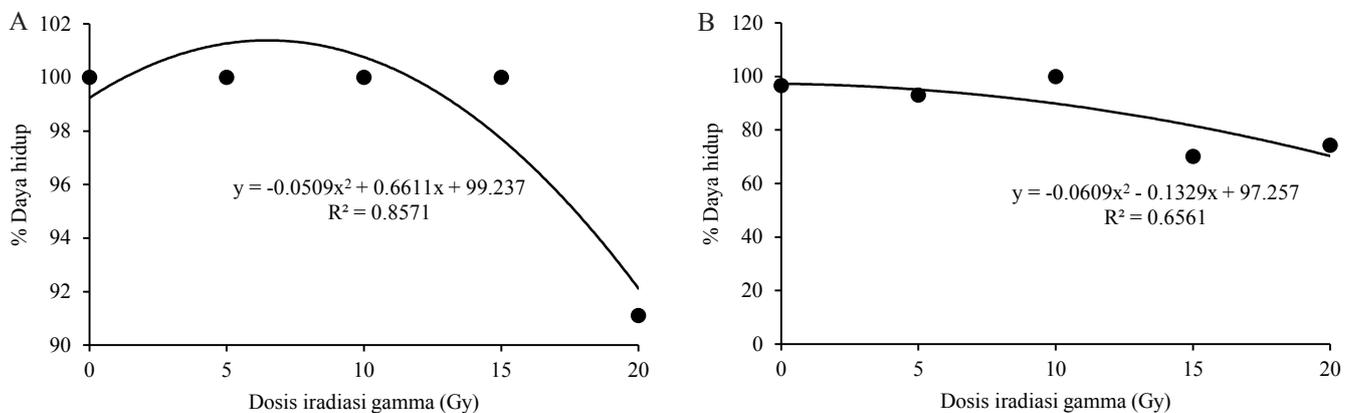
Dosis iradiasi gamma (Gy)	Jumlah <i>protocorm</i> sebelum iradiasi	Jumlah <i>protocorm</i> setelah iradiasi	% daya hidup
Ruang kultur suhu 16-18 °C			
0	62	62	100.0
5	70	70	100.0
10	71	71	100.0
15	55	55	100.0
20	56	51	91.1
Rata-rata	62.8	61.8	98.2
Ruang kultur suhu 22-27 °C			
0	58	56	96.6a
5	71	66	93.0a
10	65	65	100.0a
15	87	61	70.1b
20	70	52	74.3b
Rata-rata	70.2	60.0	96.5
Uji t dua ruang	tn	tn	tn

Keterangan: Standarisasi presentase *protocorm* hidup (%) pada setiap dosis iradiasi diperoleh dengan rumus: persentase *protocorm* hasil iradiasi/persentase *protocorm* kontrol (0 Gy) x 100%. Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama pada masing-masing ruang kultur tidak berbeda nyata pada uji BNT dengan  $\alpha = 5\%$

Jumlah PLBs yang beregenerasi membentuk tunas cenderung menurun dengan meningkatnya dosis iradiasi. Jumlah tunas terbanyak dihasilkan pada kontrol, sebanyak 3 tunas dan terendah pada iradiasi 20 Gy yaitu 0.9 tunas. Pada ruang kultur suhu 16-18 °C, rata-rata jumlah tunas yang terbentuk dari PLBs tidak berbeda nyata antara kontrol dan semua perlakuan iradiasi, yaitu sekitar 1-2 tunas. Namun tunas-tunas yang terbentuk pada dosis iradiasi yang lebih tinggi (10, 15, dan 20) memiliki jumlah daun yang lebih rendah dan berbeda nyata dengan kontrol. Sebaliknya pada ruang kultur suhu 22-27 °C, jumlah tunas pada dosis iradiasi sinar gamma 10 Gy paling tinggi (8 tunas), namun tidak berbeda

nyata dengan kontrol. Jumlah daun pada kontrol dan iradiasi 5, 10, dan 15 Gy tidak berbeda nyata, sedangkan jumlah daun pada dosis iradiasi 20 Gy nyata lebih rendah dari kontrol.

Hasil uji t menunjukkan bahwa rata-rata jumlah PLBs dan jumlah tunas pada media proliferasi tidak berbeda nyata antara dua ruang kultur, sebaliknya berbeda nyata pada media regenerasi. Perbedaan multiplikasi PLBs dan regenerasi tunas diduga bukan karena mutasi, karena dosis iradiasi pada kedua ruang masih dibawah  $LD_{50}$ . Perbedaan tersebut diduga disebabkan pengaruh iradiasi dan suhu ruang kultur terhadap fisiologi sel. Dosis iradiasi hingga level



Gambar 1. Radiosensitivitas *protocorm* terhadap iradiasi sinar gamma 0-20 Gy : A. pada ruang kultur A (16-18 °C) dan B (22-27 °C). Nilai  $LD_{20}$  dan  $LD_{50}$  pada ruang kultur 16-18 °C diperoleh pada dosis iradiasi 26.98 Gy dan 38.24 Gy, dan pada ruang kultur 22-27 °C pada 17.08 Gy dan 27.29 Gy

Tabel 2. Jumlah PLBs dan tunas *C. hartinahianum* hasil iradiasi sinar gamma di media diproliferasi KCA ditambah BA 5 mg L<sup>-1</sup> dan NAA 0.5 mg L<sup>-1</sup> pada 18 minggu setelah subkultur (MSS) di dua ruang kultur *in vitro* dengan suhu berbeda

Dosis iradiasi gamma (Gy)	Jumlah PLBs	Perbedaan dengan kontrol	Jumlah tunas	Perbedaan dengan kontrol
Ruang kultur suhu 16-18 °C				
0	1.4	-	2.2	-
5	3.6	2.2**	1.7	-0.5tn
10	4.4	2.9**	1.6	-0.6tn
15	4.7	3.3**	1.5	-0.7tn
20	5.0	3.64**	1.5	-0.7tn
Ruang kultur suhu 22-27 °C				
0	1.5	-	3.0	-
5	3.6	2.0tn	2.6	-0.4tn
10	7.2	5.6**	2.9	-0.1tn
15	5.6	4.1**	1.5	-1.5**
20	4.1	2.6tn	0.9	-2.2**
Hasil uji t dua ruang	tn		tn	

Keterangan: \*\* = berbeda nyata dibandingkan kontrol pada taraf 5 % berdasarkan uji F dan BNT; tn = tidak berbeda nyata dibandingkan kontrol berdasarkan uji F dan BNT

Tabel 3. Jumlah tunas dan jumlah daun *C. hartinahianum* pasca iradiasi sinar gamma di media regenerasi berupa media KCA tanpa ZPT pada 18 minggu setelah subkultur (MSS) di dua ruang kultur *in vitro* dengan suhu berbeda

Dosis iradiasi gamma (Gy)	Jumlah tunas	Perbedaan dengan kontrol	Jumlah daun	Perbedaan dengan kontrol
Ruang kultur suhu 16-18 °C				
0	1.7	-	2.5	-
5	1.2	-0.5tn	1.5	-1.0tn
10	1.7	-0.1tn	0.4	-2.1**
15	1.3	-0.4tn	0.5	-2.0**
20	1.2	-0.4tn	0.9	-1.6**
Ruang kultur suhu 22-27 °C				
0	4.3	-	6.3	-
5	4.1	-0.3tn	4.3	-2.0tn
10	8.0	3.7tn	7.0	0.7tn
15	4.7	0.3tn	3.9	-2.4tn
20	3.3	-1.1**	0.4	-5.9**
Uji t dua ruang	*		*	

Keterangan: \*\* = berbeda nyata dibandingkan kontrol pada taraf 5 % berdasarkan uji F dan BNT; tn = tidak berbeda nyata dibandingkan kontrol berdasarkan uji F dan BNT

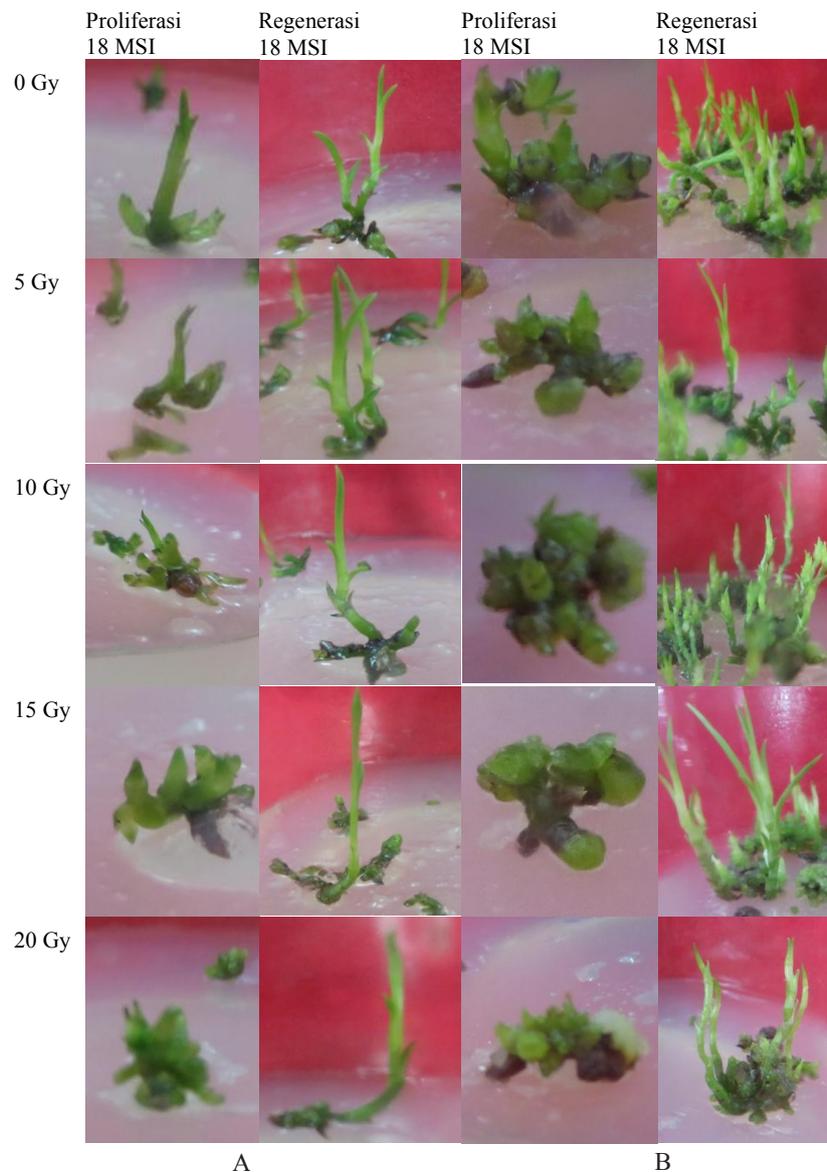
tertentu di bawah LD<sub>50</sub> dan peningkatan suhu ruang diduga dapat menginduksi metabolisme tanaman menjadi lebih aktif dalam menyerap hara dari media untuk mendorong multiplikasi PLBs. Multiplikasi PLBs mulai terjadi setelah protocorm mengalami pemulihan dari cekaman iradiasi. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Romeida *et al.* (2012) pada

*S. plicata* yang juga menunjukkan adanya pembentukan PLBs baru beberapa waktu setelah iradiasi dan pertumbuhan PLBs menjadi plantlet pada proses pemulihan.

Keragaan kultur *C. hartinahianum* pada media proliferasi dan regenerasi seperti terlihat pada Gambar 2. Regenerasi tanaman anggrek dari PLBs menjadi plantlet

diawali dengan pembentukan meristem *apical* pada bagian terminal PLBs, yang selanjutnya muncul tunas lalu daun. Jika tanaman dapat membentuk akar, maka diperoleh planlet yang selanjutnya dapat di aklimatisasi. Menurut Cahyo dan Dinarti (2015), serta Suwarno *et al.* (2013), semakin tinggi dosis iradiasi maka kemampuan setiap biakan untuk membentuk daun akan semakin rendah. Sementara itu dari hasil penelitian Aloysius *et al.* (2017) dinyatakan bahwa, iradiasi sinar gamma pada *Spathoglottis plicata* dapat menyebabkan kegagalan pembelahan sel dan pertumbuhan primordia daun hanya melalui pemanjangan sel, tanpa adanya pembelahan sel maka pertumbuhan daun menjadi abnormal sehingga daun menjadi kerdil dan batang juga memendek. Pada *C. hartianahianum* di dalam penelitian ini, morfogenesis daun mulai terhambat pada dosis iradiasi 10

Gy di ruang kultur 16-18 °C dan 20 Gy di ruang kultur B 22-27 °C. Hingga 24 MSI di media proliferasi, tunas pada semua perlakuan belum membentuk akar. Menurut Ali *et al.* (2016), gangguan diferensiasi sel dalam membentuk akar adalah merupakan efek dari mutasi DNA akibat iradiasi sinar gamma. Namun dalam penelitian ini, dosis iradiasi masih dibawah  $LD_{20}$  dan  $LD_{50}$ , sehingga penghambatan pertumbuhan akar kemungkinan karena efek fisiologis iradiasi, suhu ruang kultur dan media yang mengandung BA yang dapat menekan pertumbuhan akar pada semua perlakuan. Handini *et al.* (2017) melaporkan bahwa akar planlet dari *protocorm C. hartianahianum* terbentuk pada media tanpa zat pengatur tumbuh, tidak berbeda nyata dengan penambahan auksin NAA ataupun IBA, namun tidak terbentuk akar pada media yang mengandung BA.



Gambar 2. Pertumbuhan PLBs *C. hartianahianum* pada tahap proliferasi dan tahap regenerasi pada 5 taraf dosis iradiasi di ruang kultur A (16-18 °C) dan B (22-27 °C) sampai 18 MSI

## KESIMPULAN

Radiosensitivitas *protocorm C. hartinahianum* terhadap iradiasi sinar gamma (0, 5, 10, 15, dan 20 Gy) pada dua suhu ruang kultur yang berbeda (16-18 °C dan 22-27 °C) menunjukkan nilai LD<sub>20</sub> dan LD<sub>50</sub> yang berada di luar dosis yang diuji dalam perlakuan, yaitu 26.98 Gy dan 38.24 Gy pada ruang kultur kultur 16-18 °C, dan 17.08 Gy dan 27.29 Gy ruang kultur suhu 22-27 °C. Untuk mendapatkan mutan putatif, PLBs *C. hartinahianum* sebaiknya diiradiasi pada kisaran LD<sub>20</sub> dan LD<sub>50</sub> dari ruang kultur bersuhu 22-27 °C (17.08 Gy dan 27.29 Gy). Namun pengujian radiosensitivitas disarankan diulang kembali pada rentang dosis iradiasi di atas 15 Gy-50 Gy. Proliferasi PLBs dan regenerasi tunas pasca iradiasi lebih baik pada suhu ruang kultur 22-27 °C.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh Pusat Konservasi Tumbuhan Kebun Raya-LIPI. Terima kasih kami ucapkan kepada Bapak Prof Rist. Dr. Didik Widyatmoko, MSc selaku kepala PKT. Kebun Raya-LIPI.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ali, H., Z. Ghori, S. Sheikh, A. Gul. 2016. Effects of gamma radiation on crop production. p. 27-78. *In* KR. Hakeem (Ed.), Crop Production and Global Environmental Issues. Springer Publishing. Switzerland (NZ).
- Aloysius, S., A. Purwantoro, K. Dewi, E. Semiarti. 2017. Improvement of genetic variability in seedlings *Spathoglottis plicata* orchids through X-ray irradiation. *Biodiversitas* 18:20-27.
- Billore, V., S. J. Mirajkar, P. Suprasanna, M. Jain. 2019. Gamma irradiation induced effects on *in vitro* shoot cultures and influence of monochromatic light regimes on irradiated shoot cultures of *Dendrobium sonia* orchid. *Biotechnology Reports* 22(2019) e00343. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2019.e00343>. [2 Februari 2020].
- Cahyo, F.A., D. Dinarti. 2015. Pengaruh iradiasi sinar gamma terhadap pertumbuhan *protocorm like bodies* anggrek *Dendrobium lasianthera* (JJ. Smith) secara *in vitro*. *J. Hort. Indonesia* 6:177-186.
- Comber, J.B. 2001. *Orchids of Sumatra*. Kew (GB): the Royal Botanic Gardens.
- Dehghani, R., A. Joniyas. 2017. Review of research on *Dendrobium sonia*-28, a hybrid from Orchidaceae family and mutation as somaclonal variation. *Int. J. Biosci.* 10:29-47.
- Handini, E., D. Sukma, Sudarsono, I. Roostika. 2017. Regenerasi protokorm secara *in vitro* dan aklimatisasi planlet anggrek *Cymbidium hartinahianum* J.B. Comber & Nasution. *J. AgroBiogen* 13:91-100.
- Handini, E. 2019. Iradiasi akut dengan sinar gamma pada protokorm anggrek *Dendrobium macrophyllum* A. Richard dan *Dendrobium undulatum* M. A. Clem & D. L. Jones,” *Buletin Kebun Raya* 22:13-20.
- Handini, E., V. Garvita. 2014. *In vitro* culture of propagation *Cymbidium hartinahianum*. hal. 702-708. *Dalam* J.G. Kartika, W.B. Suwarno, S.W. Ardhie, C.P. El-Sanura, F.N. Fitriana (Eds.). *Prosiding Seminar Ilmiah Perhorti ‘Membangun Sistem Baru Agribisnis Hortikultura Indonesia pada Era Pasar Global’*. Malang 5-7 November 2014.
- Hayati, D., S. I. Aisyah, Krisantini. 2016. Radiosensitivity levels of *in vitro* cultured *Celosia cristata* planlets by  $\gamma$  - ray irradiation. *J. Trop Crop Sci.* 3:61-65.
- Hazekamp, A. 2016. Evaluating the effects of gamma-irradiation for decontamination of medicinal *Cannabis*. *Frontiers in Pharmacology* 7:1-12.
- Kim, S.H., Y.D. Jo, J. Ryu, M.J. Hong, B.C. Kang, J.B. Kim. 2020. Effects of the total dose and duration of  $\gamma$ -irradiation on the growth responses and induced SNPs of a *Cymbidium* hybrid. *Int. J. Radiat. Biol.* 96:545-551.
- Kim, S.H., S.W. Kim, J.W. Ahn, J. Ryu, S.J. Kwon, B.C. Kang, J.B. Kim. 2020. Frequency, spectrum, and stability of leaf mutants induced by diverse  $\gamma$ -ray treatments in two *Cymbidium* hybrids. *Plants* 9:546. [Doi:10.3390/plants9040546](https://doi.org/10.3390/plants9040546).
- Lee, Y., S. Hsu, E. Yeung. 2013. Orchid protocorm-like bodies are somatic embryos. *Am. J. Bot.* 100:2121-2131.
- Lee, Y. M., H.J. Lee, Y.S. Kim, S.Y. Kang, D.S. Kim, J.B. Kim, J.W. Ahn, B.K. Ha.S.H. Kim. 2016. Evaluation of the sensitivity to ionising  $\gamma$ -radiation of a *Cymbidium* hybrid, *The J. Hortic. Sci. Biotechnol.* 91:109-116.
- Lestari, E.P., A. Yunus, Sugiyarto. 2018. Diversity induction of *Dendrobium sylvanum* orchid through *in vitro* irradiation of gamma ray. *Biosaintifika* 10:691-697.
- Murashige, T., F. Skoog. 1962. A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. *Physiologia Plantarum* 15:473-497.
- Nur, A., K. Syahrudin, M.J. Mejaya. 2015. Perbaikan genetik gandum tropis toleran suhu tinggi dan permasalahan pengembangannya pada daerah dataran rendah. *J. Litbang Pert.* 34:19-30.

- Puspitaningtyas, D.M., E. Handini. 2014. Penyimpanan biji anggrek *Coelogyne* spp. untuk konservasi *ex situ*. Buletin Kebun Raya 17:101-112.
- Raynalta, E., J. Elina, Sudarsono, D. Sukma. 2018. Clonal fidelity of micro-propagated *Phalaenopsis* planlets based on assessment using eighteen Ph-Pto SNAP marker loci. *Agrivita J. Agric. Sci.* 40:390-402.
- Romeida, A., S.H. Sutjahjo, A. Purwito, D. Sukma, Rustikawati. 2012. Induksi mutasi *Protocorm Like Body* (PLB) anggrek *Spathoglottis plicata* Blume. Akses Bengkulu pada sebelas taraf dosis iradiasi sinar gamma. hal. 381-387. *Dalam* Melati M., S.A Aziz, D. Efendi, N.M. Armini, Sudarsono, N. Ekana'ul, S. A. Tapsi. (Eds.). *Prosiding Simposium dan Seminar Bersama PERAGI-PERHORTI-PERIPI-HIGI. Mendukung Kedaulatan Pangan dan Energi yang Berkelanjutan.* Bogor, 1-2 Mei 2012.
- Sari, L., A. Purwito, D. Soepandie, R. Purnamaningsih, E. Soedarmonowati. 2015. Pengaruh iradiasi sinar gamma pada pertumbuhan kalus dan tunas tanaman gandum (*Triticum aestivum* L.). *Ilmu Pertanian* 18:44-50.
- Schum, A., 2003. Mutation breeding in ornamental: An efficient breeding method? p. 47-60. *In* G. Forkmann *et al.* (Eds.). *Proc. 21<sup>st</sup> IS on Classical/Molecular Breeding.* Acta Hort. 612. July 2003.
- Sinuraya, M., Rosmayati, Hasanuddin, D. S. Hanafiah. 2015. Radiosensitivity and the influence of gamma rays irradiation on local Samosir shallots. p. 228-231. *In* *Proceeding of the 5<sup>th</sup> annual International Conference Sylah Kuala University (AIC Unsylah) 2015 In conjunction with The 8<sup>th</sup> International Conference of Chemical Engineering in Science and Applications (ChESA) September 9-11, 2015, Banda Aceh. Indonesia.*
- Suwarno, A., N.A. Habibah, L. Herlina. 2013. Respon pertumbuhan planlet anggrek *Phalaenopsis amabilis* L. var. Jawa Candiochid akibat radiasi sinar gamma. *Life Sci.* 2:78-84.
- Tiwari, A., A.K. Singh, V.K. Jain, N. Kanth, T.S. Hada, S. Pal. 2017. Application of nuclear technology in horticulture. p. 14-20. *In* Shukla, R.P., R.S. Mishra, A.D. Tripathi, A.K. Yadav, M. Tiwari, R.R. Mishra. (Eds.). *New perspective in agriculture and human health.* Bharti Publication, New Delhi.