

Evaluasi Keragaman Fenotipik Pisang Cv. Ampyang Hasil Iradiasi Sinar Gamma di Rumah Kaca

Evaluation of Phenotypic Variability among Banana Cv. Ampyang Regenerated From Gamma Irradiation Induced-Mutation in a Greenhouse

Reni Indrayanti^{1*}, Nurhajati A. Mattjik², Asep Setiawan², dan Sudarsono²

Diterima 1 Desember 2011/Disetujui 12 Maret 2012

ABSTRACT

Banana and plantain are important for food security. Increase of genetic variability is difficult because most of edible bananas are triploid, sterile and parthenocarp. Therefore, breeding through conventional method are difficult. The objective of this research were to evaluate phenotypic variation of banana cv. Ampyang (*Musa acuminata*, AAA, subgroup non-Cavendish) regenerated from in vitro induced mutation by gamma irradiation in a greenhouse. The objectives of this research were to characterize and evaluate phenotypic diversity of banana cv. Ampyang plant, in vitro regenerated from gamma irradiated plantlet in a greenhouse. The phenotypes (both quantitative and qualitative characters) were evaluated when the plants were at six months after acclimatization. Result indicated banana plants regenerated from gamma irradiated explants exhibited lower plant height, shorter leaf, and leaf length by leaf width ratio than from non-irradiated ones. Population of banana cv. Ampyang gamma irradiated at 30, 40, 45 and 50 Gy showed broader variation in qualitative characters than those treated with 0 Gy. Banana cv. Ampyang originated from explants treated with 0 Gy showed similar stomatal density than those from explants treated with 45 and 50 Gy. On the other hand, those originated from explants treated with 20, 25, 30 or 40 Gy showed lower stomatal densities than those treated with 0 Gy. The results have demonstrated that mutation breeding with in vitro technique could produce morphological changes as well as increase in variability of quantitative traits. A number of these parameters were supposed to be applicable for characterization of variation in other banana cultivars.

Key words: *Musa acuminata* (AAA), stomata density, doses of gamma irradiation

ABSTRAK

Pisang penting untuk keamanan pangan. Peningkatan keragaman genetik pada pisang sulit dilakukan karena sebagian besar pisang yang dapat dimakan bersifat triploid, steril dan partenokarpi. Oleh sebab itu, pemuliaan tanaman secara konvensional sulit dilakukan. Tujuan penelitian ini ialah untuk mengevaluasi variasi fenotipik pisang cv. Ampyang (*Musa acuminata*, AAA, subgroup non-Cavendish) yang diregenerasikan dari kultur in vitro dan diinduksi mutasi dengan sinar gamma. Fenotipe (karakter kualitatif dan kuantitatif) dievaluasi ketika tanaman berumur 6 bulan setelah aklimatisasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tanaman pisang yang diregenerasikan dari eksplan yang diiradiasi sinar gamma memiliki tinggi tanaman yang lebih rendah, daun yang lebih pendek, dan rasio panjang dan lebar daun yang lebih rendah dibanding tanaman non-iradiasi. Populasi pisang cv. Ampyang hasil iradiasi sinar gamma 30, 40, 45 dan 50 Gy menunjukkan variasi yang lebih lebar dalam karakter kualitatif dibanding tanaman kontrol (0 Gy). Pisang cv. Ampyang asal eksplan kontrol (0 Gy) menunjukkan densitas stomata yang sama dengan tanaman eksplan yang diiradiasi sinar gamma 45 dan 50 Gy. Tanaman yang berasal dari eksplan yang diiradiasi sinar gamma 20, 25, 30 or 40 Gy menunjukkan densitas stomata yang lebih rendah dari tanaman kontrol (0 Gy). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemuliaan mutasi dengan teknik in vitro dapat menghasilkan perubahan morfologi dan juga peningkatan variabilitas sifat kuantitatif dan sejumlah parameter tersebut diharapkan dapat diaplikasikan untuk karakterisasi variasi kultivar pisang lainnya.

Kata kunci : *Musa acuminata* (AAA), densitas stomata, dosis iradiasi sinar gamma

^{1*}Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Negeri Jakarta, Jl. Pemuda No.10 Rawamangun, Jakarta 13220, Indonesia. E-mail: reni_yanti@yahoo.com *penulis korespondensi

²Lab. Biologi Molekuler Tanaman (PMB Lab), Bagian Bioteknologi, Departemen Agronomi dan Hortikultura, Faperta, Institut Pertanian Bogor, Jl. Meranti – Kampus Darmaga, Bogor 16680. Indonesia. E-mail: s_sudarsono@gmail.com

PENDAHULUAN

Pisang dan *plantain* (*Musa* spp) merupakan tanaman buah yang menempati urutan ke-4 sebagai tanaman pangan utama setelah padi, gandum dan jagung yang tumbuh di negara tropis dan subtropis (Frison *et al.*, 2004; Megia, 2005). Pisang terdiri atas banyak kultivar, perkiraan jumlah kultivar di seluruh dunia berkisar antara 300 sampai lebih dari 1000 (Ploetz *et al.*, 2007). Pisang yang dikonsumsi pada saat ini berasal dari pisang liar yang berasal dari kultivasi spesies dan hibrida dari *Musa acuminata* (AA) dan *Musa balbisiana* (BB). *Musa acuminata* merupakan spesies yang tersebar luas di antara genus *Musa*, dan pusat diversitas spesies ini diduga berada di Malaysia dan Indonesia. Pisang yang dapat dikonsumsi memiliki perbedaan satu dengan lainnya. Beberapa dari karakter yang paling variatif adalah: tinggi dan bentuk tanaman, *suckers* yang dihasilkan, pigmentasi, ukuran, bentuk, warna dan rasa buah (Ploetz *et al.*, 2007). Di Asia Tenggara pisang kultivar triploid telah menggantikan diploid AA karena buah yang besar dan pertumbuhan tanaman yang kokoh (Pillay & Tripathi, 2007).

Pengembangan genetik tanaman buah dapat dilakukan melalui metode konvensional dan non-konvensional seperti bioteknologi dan mutagenesis, agar kontinuitas produksi buah, koleksi plasma nutfah dan konservasi tanaman dapat terjaga (IAEA, 2009). Pada tanaman buah, mutasi induksi digunakan untuk tujuan mendapatkan tanaman dengan karakteristik yang diinginkan seperti tinggi tanaman, waktu pembungaan dan pemasakan buah, warna buah, *self compatibility* dan resisten terhadap patogen (Predieri, 2001). Mutasi secara alami merupakan proses yang jarang terjadi, bersifat random, dan mutan umumnya bersifat resesif, sehingga pemuliaan mutasi membutuhkan skrining sampel populasi hasil mutasi dalam jumlah yang besar untuk mengidentifikasi individu-individu yang diinginkan. Skrining harus dilakukan pada setiap tahapan pertumbuhan tanaman yang berbeda (Mak *et al.*, 2004).

Pada tanaman berbiak vegetatif seperti pisang, peningkatan keragaman tanaman memiliki kendala karena pisang yang dikonsumsi umumnya triploid, partenokarpi, dan putik yang steril (Valmayor *et al.*, 2000; Suprasana *et al.*, 2008), sehingga teknik mutasi induksi secara *in vitro* merupakan alternatif untuk pengembangan

tanaman pisang dengan keragaman yang lebih tinggi. Evaluasi di rumah kaca dilakukan untuk melihat konsistensi keragaman fenotipik yang tampak pada tanaman yang berasal dari hasil iradiasi gamma dan regenerasi secara *in vitro*, untuk memastikan bahwa varian-varian yang dihasilkan bukan terjadi karena efek regenerasi secara *in vitro* atau pengaruh lingkungan, tetapi karena adanya mutasi pada gen-gen yang terdapat pada plantlet hasil mutasi. Menurut Predieri (2001) iradiasi yang diikuti dengan regenerasi tunas-tunas adventif, sangat memungkinkan terjadinya *recovery* yang akan menghasilkan mutan-mutan yang memiliki sifat agronomis yang berguna, dan pisang merupakan model yang unik untuk mempelajari peran dari variasi somklonal (Megia, 2005).

Pisang cv. Ampyang (*Musa acuminata*, AAA, subgrup non-Cavendish) merupakan jenis pisang meja (*dessert banana*) yang sudah sulit dijumpai di pasar tradisional dan jarang dibudidayakan oleh petani, sehingga memiliki potensi untuk dikembangkan agar kemungkinan kehilangan plasma nutfah kultivar ini dapat dihindari. Tujuan percobaan ini adalah : karakterisasi dan evaluasi keragaman fenotipik secara kuantitatif dan kualitatif tanaman pisang cv. Ampyang yang berasal dari eksplan yang diradiasi gamma dan diregenerasi secara *in vitro* di rumah kaca.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan Laboratorium Biologi Molekuler Tanaman dan halaman pekarangan Departemen Agronomi dan Hortikultura, Faperta IPB. Penelitian dilaksanakan pada bulan Oktober 2008 – Mei 2009. Bahan tanaman yang digunakan berupa tanaman pisang cv. Ampyang (*Musa acuminata*, AAA) yang berasal dari hasil iradiasi gamma (Co-60) 0, 20, 25, 30, 40, 45 dan 50 Gy, dan telah diregenerasikan selama 10 bulan. Plantlet pisang yang sehat diaklimatisasi ke dalam gelas plastik 200 ml berisi media tanam dengan komposisi: tanah (33%), pupuk kandang (33%), humus (33%), NPK (0.4%), pestisida (0.3%) dan dolomit (0.3%). Plantlet diberi sungkup plastik untuk mencegah transpirasi yang berlebihan dan diletakkan dalam tempat teduh.

Bibit pisang selanjutnya dipindahkan ke dalam polybag ukuran 15 cm x15 cm x30 cm, berisi campuran media tanam dan kompos (1:1),

setiap 2 minggu sekali dilakukan penyiraman dengan pupuk NPK. Tanaman pisang ditumbuhkan selama 6 bulan di halaman pekarangan, selanjutnya diamati karakter agronomis tanaman secara kuantitatif (jumlah daun, jumlah stomata, tinggi tanaman, lingkaran batang semu, panjang daun, lebar daun dan rasio panjang:lebar daun) dan secara kualitatif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Evaluasi terhadap Karakter Kuantitatif Tanaman

Evaluasi terhadap karakter agronomis tanaman pisang cv. Ampyang usia 6 bulan setelah aklimatisasi, secara statistik menunjukkan adanya perbedaan yang nyata pada karakter tinggi tanaman, panjang daun dan rasio panjang : lebar daun. Pada karakter lingkaran batang semu dan lebar daun tidak berbeda nyata antara tanaman yang berasal dari hasil iradiasi dan tanaman kontrol (0 Gy) (Tabel 1; Tabel 2). Tanaman yang berasal dari eksplan yang tidak diradiasi (0 Gy) memiliki rata-rata tinggi tanaman yang tertinggi (98.98 cm), dan secara statistik hanya berbeda nyata dengan tanaman hasil iradiasi 50 Gy (81.79 cm) (Tabel 1). Pada karakter panjang daun, tanaman yang berasal dari eksplan yang tidak diradiasi (0 Gy) memiliki rata-rata panjang daun terbesar (43.47 cm) dan secara statistik berbeda nyata dengan tanaman hasil iradiasi 20, 30, 40, 45 dan 50 Gy, namun

tidak berbeda nyata dengan hasil radiasi 25 Gy (42.32 cm). Tanaman kontrol (0 Gy) juga memiliki rata-rata rasio p:l daun terbesar (2.82), berbeda nyata dengan tanaman hasil iradiasi 25 - 50 Gy namun tidak berbeda nyata dengan hasil iradiasi 20 Gy (2.69) (Tabel 2). Tanaman yang berasal dari hasil iradiasi gamma (20-50 Gy) memiliki rasio panjang:lebar daun yang lebih kecil, sehingga secara nyata memiliki bentuk daun yang lebih lebar dibandingkan dengan kontrol.

Hasil persamaan regresi yang disajikan pada Gambar 1 memperlihatkan bahwa peningkatan perlakuan dosis iradiasi gamma pada eksplan tunas pisang pada saat mutasi induksi secara *in vitro*, berkorelasi dengan penurunan tinggi tanaman (84.4%), panjang daun (85.2%), dan rasio p : l daun (85.9%) , walaupun demikian secara umum, tanaman yang diberi perlakuan iradiasi gamma dengan dosis yang lebih tinggi (45-50 Gy) tidak memperlihatkan performan tanaman yang lebih buruk jika dibandingkan dengan pemberian dosis yang lebih rendah. Untuk mengetahui lebih rinci dosis iradiasi yang lebih banyak menghasilkan varian, dilakukan identifikasi karakter agronomis tanaman pada setiap individu. Identifikasi dilakukan dengan membuat sebaran nilai pada karakter agronomis tanaman yang secara statistik signifikan. Tanaman yang berada di luar ukuran kisaran tanaman standar dari seluruh populasi yang diamati, diidentifikasi sebagai tanaman varian.

Tabel 1. Rataan tinggi tanaman dan lingkaran batang semu pisang cv. Ampyang hasil perlakuan iradiasi gamma usia 6 bulan setelah aklimatisasi.

Dosis iradiasi (Gy)	Persentase tanaman yang hidup (%)	N	Tinggi tanaman (cm)	Lingkaran batang semu (cm)
			Rataan	Rataan
0	75.0	43	90.98 a	2.73 a
20	40.0	20	90.15 ab	2.90 a
25	56.7	33	90.97 a	2.71 a
30	90.0	45	86.76 ab	2.66 a
40	60.0	36	88.00 ab	2.85 a
45	87.5	35	83.11 ab	2.81 a
50	61.4	43	81.79 b	2.62 a
Koef. Variasi (%)			19.94	22.85

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama dalam kolom yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5% melalui uji DMRT

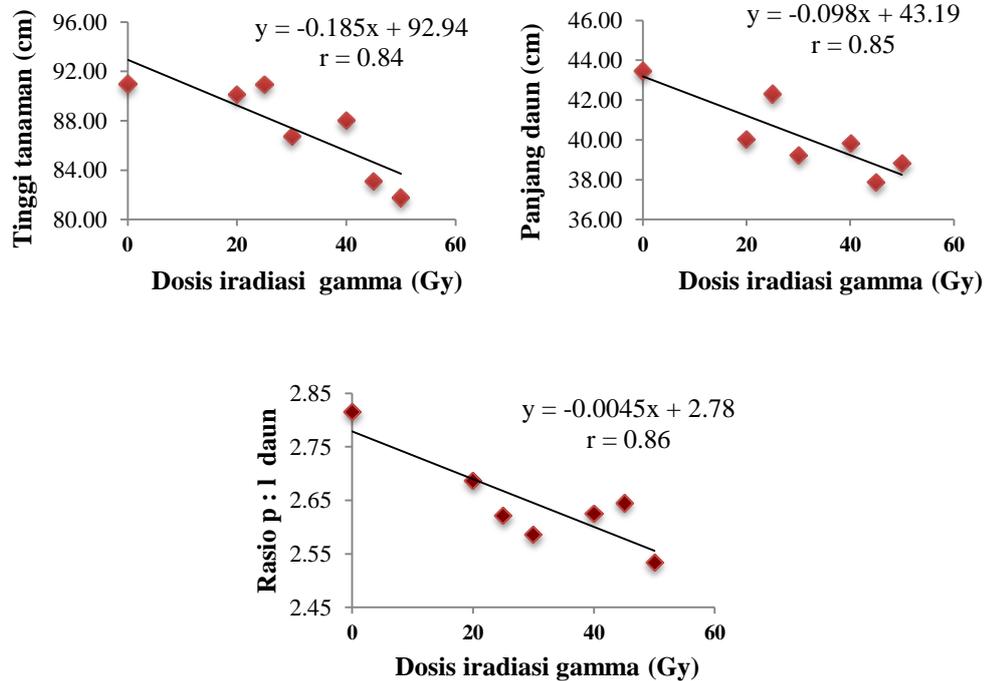
Tabel 2. Rataan panjang daun, lebar daun dan rasio panjang:lebar daun pisang cv. Ampyang hasil perlakuan iradiasi gamma usia 6 bulan setelah aklimatisasi.

Dosis iradiasi (Gy)	Persentase tanaman yang hidup (%)	N	Panjang daun (cm)	Lebar daun (cm)	Ratio panjang:lebar daun
			Rataan	Rataan	Rataan
0	75.0	43	43.47 a	15.49 a	2.82 a
20	40.0	20	40.03 bc	15.07 a	2.69 ab
25	56.7	33	42.32 ab	16.17 a	2.62 bc
30	90.0	45	39.22 c	15.40 a	2.59 bc
40	60.0	36	39.84 bc	15.44 a	2.63 bc
45	87.5	35	37.89 c	14.55 a	2.64 bc
50	61.4	43	38.82 c	15.47 a	2.53 c
Koef. Variasi (%)			18.82	20.89	10.35

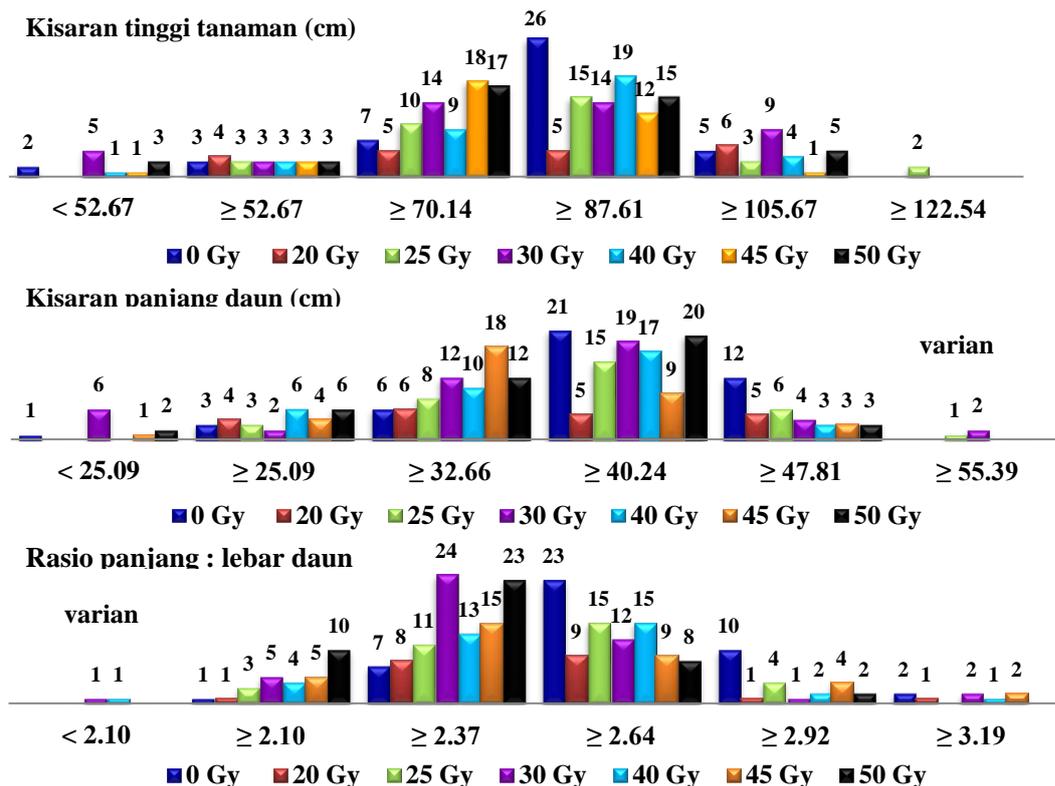
Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama dalam kolom yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5% melalui uji DMRT

Hasil pengamatan pada Gambar 2 dan Tabel 3, diketahui 12 tanaman (4.7%) berukuran tinggi lebih rendah dari 52.67 cm, dan 2 tanaman (0.8%) berukuran lebih tinggi dari 122.54 cm. Pada karakter panjang daun diketahui 10 tanaman (3.9%) memiliki panjang daun lebih kecil dari 25.09 cm dan 3 tanaman (1.2%)

berukuran lebih besar dari 55.39 cm, sedangkan pada rasio panjang : lebar daun, diketahui 2 tanaman (0.8%) memiliki rasio yang lebih kecil dari 2.10 (0.8 %) serta 8 tanaman (3.2%) memiliki rasio lebih besar dari 3.19.



Gambar 1. Persamaan regresi karakter tinggi tanaman, panjang daun, rasio panjang: lebar daun tanaman pisang cv. Ampyang 6 bulan setelah aklimatisasi



Gambar 2. Sebaran nilai tinggi tanaman, panjang daun dan rasio panjang : lebar daun tanaman pisang cv. Ampyang usia 6 bulan setelah aklimatisasi.

Tabel 3. Jenis varian pada tanaman pisang cv, Ampyang yang berasal dari hasil iradiasi gamma dan regenerasi secara *in vitro* berdasarkan karakter kuantitatif tanaman pada usia 6 bulan setelah aklimatisasi di rumah kaca.

Jenis varian	Jumlah tanaman	Persentase varian (%)	Tanaman varian hasil iradiasi gamma
Tinggi tanaman (cm)			
≥ 122.54 cm (min. 22.8; maks. 134.0)	2	(0.8)*	25 Gy (2 tanaman)
Panjang daun (cm)			
≥ 55.39 cm (min. 18.67; maks. 59.67)	3	(1.2)	25 Gy (1 tanaman) 30 Gy (2 tanaman)
Rasio panjang: lebar daun			
< 2.10 cm (min. 1.47; maks. 3.82)	2	(0.8)	30 Gy (1 tanaman) 40 Gy (1 tanaman)

Keterangan: * Persentase varian diperoleh dari = jumlah tanaman varian pada satu karakter / jumlah populasi tanaman yang diamati (255 tanaman) x 100%.

Varian yang memiliki tinggi tanaman dan panjang daun yang lebih rendah, serta rasio panjang: lebar daun yang lebih besar dari kisaran tanaman standar (Gambar 2), tidak dikategorikan sebagai varian hasil iradiasi, karena karakter ini juga dijumpai pada tanaman yang berasal dari eksplan yang tidak diiradiasi (0 Gy), varian ini diduga karena faktor subkultur berulang selama

plantlet tanaman berada dalam periode kultur *in vitro*. Di dalam pemuliaan mutasi, frekuensi mutasi akan meningkat dengan peningkatan dan laju pemberian dosis iradiasi, namun diakui kemampuan untuk bertahan hidup dan kapasitas untuk beregenerasi akan berkurang dengan meningkatnya dosis iradiasi, sehingga secara

keseluruhan efisiensinya akan menurun (Bhagwat & Duncan, 1998).

Pada percobaan tahapan ini tanaman-tanaman yang memiliki karakter agronomis berada diluar kisaran tanaman standar, memberikan indikasi awal adanya variasi pada tanaman hasil mutasi induksi secara *in vitro*, karena gambaran umum tanaman yang berasal dari kultur *in vitro* adalah potensi terjadinya variasi somaklonal yaitu variasi genetik yang terjadi selama jaringan tanaman dikulturkan, dan variasi ini dapat diturunkan pada anaknya (Collin & Edwards, 1999). Tanaman pisang yang berasal dari eksplan yang tidak diberi perlakuan iradiasi atau tanaman kontrol (0 Gy) memiliki beberapa karakter agronomis yang lebih tinggi dibandingkan tanaman yang diberi perlakuan iradiasi. Peranan iradiasi gamma terhadap pertumbuhan kuantitatif tanaman, menunjukkan keragaman fenotipik tanaman dipengaruhi oleh perbedaan perlakuan dosis iradiasi yang diberikan.

Evaluasi terhadap Karakter Kualitatif Tanaman

Evaluasi terhadap karakter kualitatif tanaman dilakukan pada setiap individu dari seluruh populasi yang ada. Pengamatan

kualitatif dilakukan terhadap morfologi daun, morfologi pelepah, serta keberadaan bercak daun (Gambar 3, dan 4).

Berdasarkan hasil pada Tabel 4 diperoleh gambaran bahwa tanaman hasil iradiasi 30, 40, 45 dan 50 Gy menghasilkan jenis varian yang lebih banyak dibandingkan tanaman kontrol (0 Gy) dan tanaman hasil iradiasi 20 dan 25 Gy. Tanaman hasil iradiasi 30-50 Gy secara kualitatif menghasilkan 11 jenis varian dari 14 jenis varian yang diamati, dan tanaman hasil iradiasi 50 Gy menghasilkan varian pada hampir semua jenis yang diamati.

Tanaman pisang dengan genom AAA secara alami memiliki bercak pada saat muda, dan tanaman yang tidak memiliki bercak diduga merupakan varian (Gambar 4), sedangkan daun variegata, daun berkerut, tepi daun menggulung, dan daun berbentuk tidak beraturan diduga merupakan varian yang disebabkan oleh pemberian iradiasi pada eksplan awal saat periode kultur *in vitro*. Tanaman yang berasal dari hasil iradiasi 20 Gy memiliki jenis varian dengan tepi daun menggulung yang terbanyak (20%), tanaman

Tabel 4. Jumlah tanaman dan persentase varian tanaman pisang cv. Ampyang hasil iradiasi gamma usia 6 bulan setelah aklimatisasi di rumah kaca.

Jenis varian	Jumlah tanaman dan persentase (%) varian hasil iradiasi gamma,						
	0 Gy	20 Gy	25 Gy	30 Gy	40 Gy	45 Gy	50 Gy
Morfologi Daun							
1. Daun variegata				1 (2.2)			2 (4.7)
2. Daun bergaris hijau tua-muda	1 (2.3)		4 (12.1)	3 (6.7)	2 (5.6)		1 (2.3)
3. Daun berkerut				4 (8.9)	3 (8.3)	1 (2.9)	1 (4.3)
4. Susunan daun melingkar	1 (2.3)						2 (4.7)
5. Tepi daun menggulung		4 (20.0)	1 (3.0)	2 (4.4)	1 (2.8)	2 (5.7)	6 (14.0)
6. Daun tidak beraturan, robek					2 (5.6)	3 (8.6)	
7. Daun tegak - ujung lancip	1 (2.3)	1 (5.0)		1 (2.2)	2 (5.6)	4 (11.4)	2 (4.7)
Morfologi Pelepah							
1. Pelepah berhadapan	4 (9.3)	1 (5.0)	3 (9.1)	3 (6.7)		3 (8.6)	3 (7.0)
2. Pelepah tersusun spt kipas		1 (5.0)		5 (11.1)	7 (19.4)	3 (8.6)	3 (7.0)
3. Pelepah menyatu					2 (5.6)	3 (8.6)	
4. Pelepah warna kemerahan	2 (4.7)		1 (3.0)	5 (11.1)	1 (2.8)	4 (11.4)	1 (2.3)
Keberadaan bercak							
1. Daun dengan bercak sedikit	3 (7.0)	2 (10.0)	2 (6.1)	6 (13.3)	4 (11.1)	4 (11.4)	5 (11.6)
2. Daun tanpa bercak	4 (9.3)	8 (40.0)	13 (39.4)	12 (26.7)	2 (8.3)	7 (20.0)	9 (20.9)
Jumlah populasi yang diamati	43	20	33	45	36	35	43

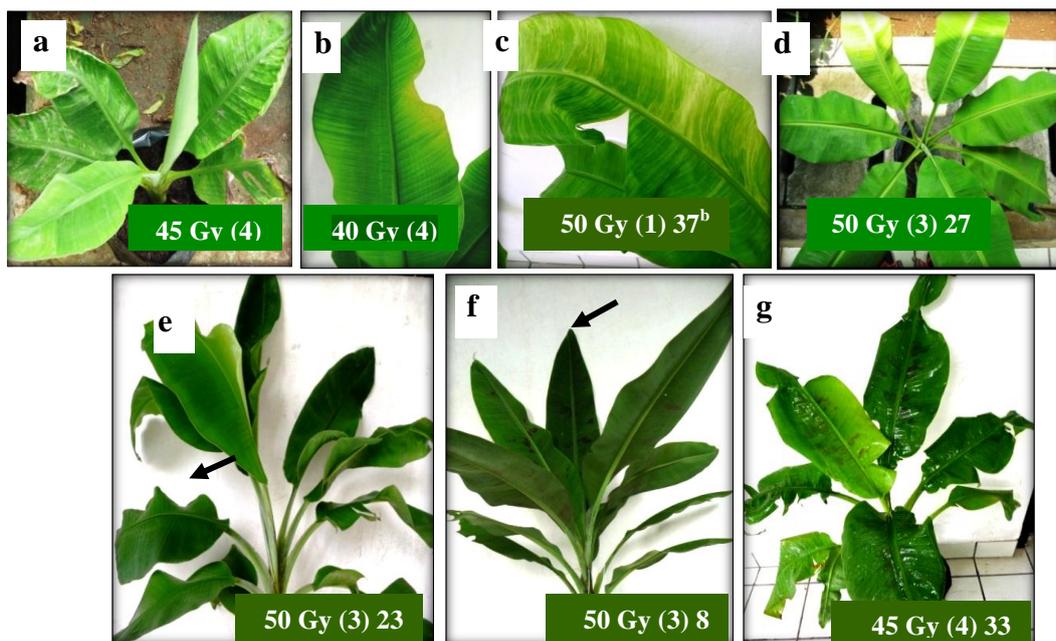
Keterangan: Persentase varian pada setiap karakter yang diamati dihitung berdasarkan: $\frac{\sum \text{varian pada satu karakter}}{\sum \text{populasi yang diamati pada suatu perlakuan dosis iradiasi}} \times 100\%$.

hasil iradiasi 25 Gy memiliki jenis varian dengan fenotipik daun bergaris hijau tua dan muda terbesar (12.1%) (Gambar 3). Tanaman yang berasal dari hasil iradiasi 25, 40 dan 45 Gy beberapa memiliki varian berupa pelepah daun berhadapan, pelepah menumpuk, pelepah tersusun seperti kipas, dan pelepah berwarna merah (Gambar 4).

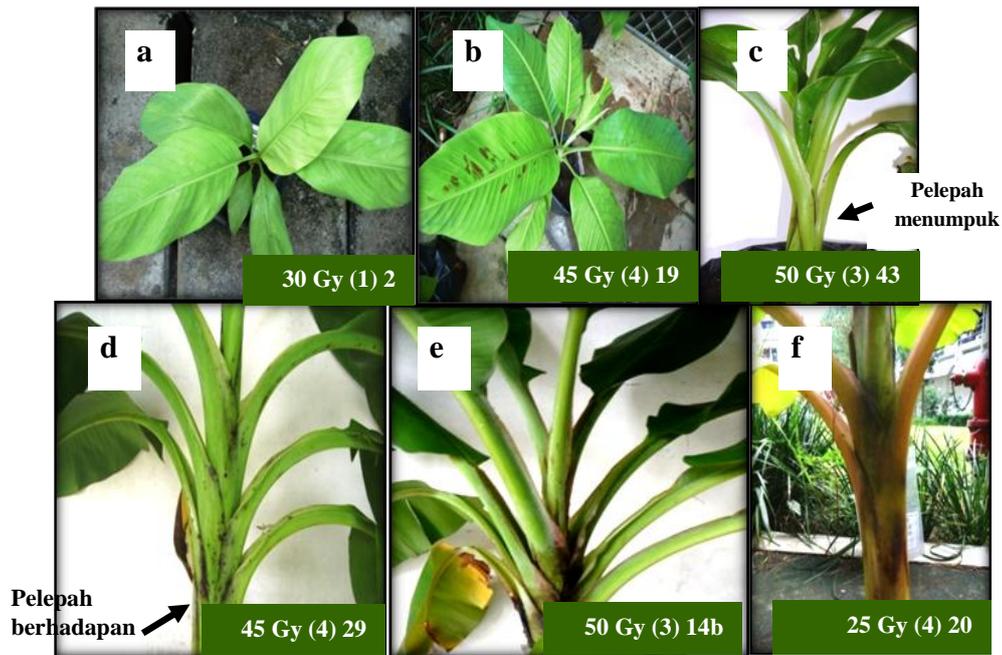
Karakter daun variegata, daun berkerut, bentuk daun tidak beraturan dan robek, pelepah menyatu merupakan mutan yang bersifat negatif, demikian pula varian berupa karakter tanaman kerdil. Menurut Mak *et al.*, (2004), kejadian yang cukup tinggi dari bentuk *off-types*, seringkali terjadi pada tanaman hasil iradiasi dan kultur *in vitro*, dan merupakan kendala dalam perbanyakan tanaman pisang, dan progeni tidak *true -to-type* biasanya bernilai rendah (Hutami *et al.*, 2006). Bentuk *off-types* merupakan hasil perbanyakan secara *in vitro* dalam periode lama dan sejumlah siklus subkultur yang besar pada fase multiplikasi tunas, gen spesifik yang

bertanggung jawab dalam mutan tersebut sejauh ini belum diketahui (Khayat *et al.*, 2004).

Daun variegata yang terjadi pada percobaan ini diduga merupakan kimera sektoral, atau kimera meriklinal karena daun variegata hanya terlihat pada sebagian permukaan daun. Kimera sektorial merupakan kimera dimana seluruh lapisan sel (L1, L2, L3) pada daerah tertentu secara genetik berbeda dengan bagian lainnya, sedangkan kimera meriklinal hanya terjadi pada lapisan L1 dan jenis kimera paling tidak stabil (Burge *et al.*, 2002). Daun variegata terjadi karena adanya mutasi yang terjadi di dalam genom inti, karena genom inti mengkode lebih dari 90% seluruh protein kloroplas yang terdapat dalam plastida, dengan demikian diferensiasi kloroplas membutuhkan koordinasi ekspresi dari gen-gen inti dan kloroplas, dan perubahan informasi antara dua organel untuk merespon signal tersebut ke daun dan diferensiasi kloroplas dimediasi oleh jalur signal tertentu (Sugimoto *et al.*, 2004).



Gambar 3. Representasi varian tanaman hasil iradiasi usia 6-8 bln berdasarkan karakter kualitatif: (a), daun berkerut, (b) daun bergaris hijau tua-muda, (c) daun variegata, (d) susunan daun berbentuk melingkar (*roset*); (e) tepi daun menggulung, (f) daun tegak dengan ujung daun lancip, (g) bentuk daun tidak beraturan dan robek.



Gambar 4. Varian tanaman hasil iradiasi usia 6-8 bulan berdasarkan keberadaan bercak pada daun; (a) daun tanpa bercak, (b) bercak sedikit; karakter kualitatif: (c) pelepah daun menumpuk, (d) pelepah daun berhadapan (simetris), (e) pelepah tersusun seperti kipas (f) pelepah berwarna merah.

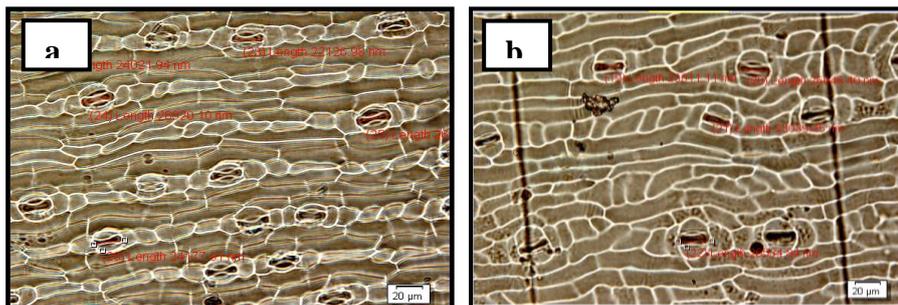
Evaluasi Keragaman pada Jumlah Stomata

Hasil pengamatan anatomi stomata pada daun segar diperoleh gambaran bahwa stomata banyak dijumpai pada epidermis bawah daun, berbentuk ginjal bertipe *anomositik* dengan sel-sel epidermis berbentuk heksagonal. Pengamatan stomata dilakukan melalui metode *imprint* dengan mengolesi pelapis kuku (*cutex*) transparan pada permukaan epidermis bawah daun ke-2 dan ke-3. Pelapis *cutex* dilepas dengan menggunakan pinset selanjutnya jumlah stomata diamati dibawah mikroskop. Jumlah stomata dihitung di bawah permukaan mikroskop cahaya dengan perbesaran 40x, dan densitas stomata diukur berdasarkan jumlah stomata per mm² daun (Gambar 5).

Hasil analisis dengan uji-F menunjukkan bahwa densitas stomata pada daun ke-2 dan ke-3 tidak berbeda nyata ($P > 0.05$) (Data tidak ditampilkan), sehingga diketahui bahwa urutan letak daun tidak mempengaruhi keragaman densitas stomata, dengan demikian baik daun ke-2 atau ke-3 dapat digunakan untuk mengidentifikasi keragaman stomata pada daun pisang cv. Ampyang. Hasil perhitungan jumlah stomata pada epidermis bawah daun

ke-3 diketahui bahwa densitas stomata tertinggi terdapat pada daun tanaman pisang yang berasal dari eksplan tunas yang tidak diradiasi (0 Gy) dengan rata-rata jumlah stomata 160.0 stomata per mm². Densitas terendah terdapat pada tanaman yang berasal dari hasil iradiasi 25 Gy yaitu sebesar 115.88 stomata per mm² (Tabel 5).

Hasil analisis dengan uji-F menunjukkan bahwa densitas stomata pada daun ke-2 dan ke-3 tidak berbeda nyata ($P > 0.05$) (Data tidak ditampilkan), sehingga diketahui bahwa urutan letak daun tidak mempengaruhi keragaman densitas stomata, dengan demikian baik daun ke-2 atau ke-3 dapat digunakan untuk mengidentifikasi keragaman stomata pada daun pisang cv. Ampyang. Hasil perhitungan jumlah stomata pada epidermis bawah daun ke-3 diketahui bahwa densitas stomata tertinggi terdapat pada daun tanaman pisang yang berasal dari eksplan tunas yang tidak diradiasi (0 Gy) dengan rata-rata jumlah stomata 160.0 stomata per mm². Densitas terendah terdapat pada tanaman yang berasal dari hasil iradiasi 25 Gy yaitu sebesar 115.88 stomata per mm² (Tabel 5).



Gambar 5. Stomata daun pisang cv. Ampyang. (a). stomata daun kontrol (0 Gy) dan (b) hasil iradiasi 25 Gy dengan perbesaran 100x.

Tabel 5. Rataan densitas stomata daun ke-3 pisang cv. Ampyang hasil perlakuan iradiasi gamma usia 8 bulan setelah aklimatisasi

Dosis iradiasi (Gy)	N	Densitas stomata (jumlah stomata per mm ²)		
		Rataan	Min.	Maks.
0	10	160.70 a	126	198
20	6	125.50 bc	104	177
25	15	115.88 c	82	164
30	15	129.93 bc	94	156
40	8	128.25 bc	104	161
45	10	157.30 a	118	218
50	16	146.06 ab	98	178

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama dalam kolom yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5% melalui uji DMRT

Densitas stomata tanaman yang berasal dari hasil iradiasi 20, 25, 30 dan 40 Gy secara nyata lebih rendah daripada tanaman kontrol dan tanaman hasil iradiasi 45 dan 50 Gy (Tabel 5). Stomata daun tanaman kontrol (0 Gy) terlihat tersusun teratur dan sangat rapat, sedangkan stomata daun yang berasal dari hasil iradiasi 20 dan 25 Gy terlihat berukuran lebih besar dan tersusun kurang beraturan, sehingga diduga terjadi perubahan ploidi pada tanaman tersebut. Menurut Hetherington & Woodward (2003) perubahan genetik dapat menyebabkan perubahan densitas stomata dan ukuran stomata. Griffiths *et al.*, (1996) melaporkan bahwa pada tanaman tembakau, semakin tinggi tingkat ploidi semakin besar ukuran sel dan stomatanya, sedangkan hasil penelitian Damayanti (2007) juga memperlihatkan bahwa tingkat ploidi berhubungan dengan ukuran sel epidermis dan densitas stomata pisang.

Hasil persamaan regresi menunjukkan bahwa peningkatan dosis iradiasi pada eksplan tunas pisang pada saat mutasi induksi secara *in vitro*, tidak berkorelasi dengan penurunan

densitas stomata (5%) saat tanaman berusia 8 bulan. Daun dengan densitas stomata yang rendah (25 Gy) cenderung memiliki bentuk stomata yang lebih besar. Menurut Hetherington & Woodward (2003), distribusi stomata dan ukuran stomata juga dipengaruhi oleh faktor lingkungan, spesies tanaman dan lingkungan kondisi stomata setiap tanaman. Densitas stomata berkisar 5-1.000 mm² sel epidermis, selain variabilitas yang tinggi terdapat hubungan yang kuat antara densitas dan ukuran stomata. Densitas stomata pisang cv. Ampyang hasil percobaan ini berkisar 115.88 – 160.70 stomata per mm², hasil ini tidak jauh berbeda dengan hasil penelitian Da Silva Costa *et al.* (2009) juga memperlihatkan densitas stomata pisang cv. Caipira (grup genom AAA) diketahui sebesar 140.9 stomata per mm².

KESIMPULAN

Karakterisasi dan evaluasi tanaman pisang cv. Ampyang di rumah kaca terhadap tanaman hasil mutasi induksi dan regenerasi secara *in*

in vitro, dapat mengidentifikasi secara fenotipik beberapa tanaman varian secara kuantitatif dan kualitatif. Karakter tersebut diyakini dapat digunakan untuk identifikasi awal keberadaan varian hasil mutasi induksi dengan iradiasi gamma pada pisang kultivar lainnya di rumah kaca.

Peningkatan dosis iradiasi gamma yang diberikan saat induksi mutasi, berhubungan dengan penurunan tinggi tanaman, panjang daun, serta rasio panjang dan lebar daun, sehingga secara fenotipik tanaman yang diradiasi rata-rata memiliki tinggi tanaman yang lebih rendah dengan bentuk daun yang lebih lebar, sedangkan terhadap jumlah stomata diketahui tanaman 0 Gy memiliki densitas stomata yang sama dengan tanaman hasil iradiasi 45 dan 50 Gy, dan lebih besar dari tanaman 20, 25, 30 dan 40 Gy. Evaluasi terhadap karakter kualitatif tanaman menunjukkan bahwa tanaman yang berasal dari hasil iradiasi 30, 40, 45 dan 50 Gy menghasilkan jenis variasi morfologi daun dan pelepah yang lebih banyak daripada tanaman kontrol.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada staf teknis Laboratorium Biologi Molekuler Tanaman IPB, staf dan teknis Laboratorium Kultur Jaringan Tanaman FMIPA UNJ. Penelitian ini dibiayai oleh DP2M Dikti melalui Proyek Hibah Bersaing, No. Kontrak: 02/D3/DP2M/HB/LP-UNJ/IV/2009, di bawah koordinasi Reni Indrayanti.

DAFTAR PUSTAKA

- IAEA International Atomic Energy Agency. 2009. Induced Mutation in Tropical Fruit Trees. Plant Breeding and Genetic Section. Vienna. IAEA-TECDOC-1615.
- Bhagwat, B., E.J. Duncan. 1998. Mutation breeding of Highgate (*Musa acuminata*, AAA) for tolerance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* using gamma irradiation. *Euphytica* 101: 143-150.
- Burge, G.K., E.R. Morgan, J.F. Seelye. 2002. Opportunities for synthetic plant chimeral breeding: past and future. *Plant Cell, Tissue Organ Cult.* 70: 13-21.
- Collin, H.A., E. Edwards. 1999. *Plant Cell Culture*. Singapore. Bios Scientific Publ.
- Da Silva Costa, F.H., M. Pasqual, J.E.S. Pereira, E. Mauro de Castro. 2009. An anatomical and physiological modifications of micropropagated 'Caipiria' banana plants under natural light. *Sci. Agric.* 66 (3): 323-330.
- Damayanti. 2007. Analisis jumlah kromosom dan anatomi stomata pada beberapa plasma nutfah pisang (*Musa* spp) asal Kalimantan Timur. *Bioscientiae.* 4(2): 53-61.
- Frison, E.A., J.V. Escalant, S. Sharrock. 2004. The global *Musa* genomic consortium: A boost for banana improvement. In: Jain SM, R Swensen, (Eds.). *Banana Improvement: Cellular, Molecular Biology, and Induced Mutation*. Enfield. Sci. Publ. Inc. hlm 341-350.
- Griffiths, A.J.F., J.H. Miller, P.T. Suzuki, R.C. Lewondr, W.M. Gelbert. 1996. *An Introduction to Genetic Analysis*. Ed ke-6. New York. WH Freeman & Co.
- Hetherington, A.M., F.I. Woodward. 2003. The role of stomata in sensing and driving environmental change. *Nature.* 424: 901-908.
- Hutami, S., I. Mariska, Y. Supriati. 2006. Peningkatan keragaman genetik tanaman melalui keragaman somaklonal. *J. AgroBiogen* 2(2): 81-88.
- Khayat, E., A. Duvdevani, E. Lahav, B.A. Ballesteros. 2004. Somaclonal variation in banana (*Musa acuminata* cv. Grande Naine). Genetic mechanism, frequency, and application as a tool for clonal selection. In: Jain SM, R. Swensen, (Eds). *Banana Improvement: Cellular, Molecular Biology, and Induced Mutation*. Enfield. Sci. Publ. Inc. hlm 321-330.
- Mak, C., Y.W. Ho, K.W. Liew, J.M. Asif. 2004. Biotechnology and *in vitro* mutagenesis for banana improvement. In: Jain SM, R Swensen, editor. *Banana Improvement: Cellular, Molecular Biology, and Induced*

- Mutation*. Enfield, Sci. Publ. Inc., hlm 54-73.
- Megia R. 2005. *Musa* sebagai model genom. *Hayati* 12(4): 167-170
- Pillay, M., L. Tripathi. 2007. Banana. *In* : Kole, C. (Eds). *Genome Mapping and Molecular Breeding in Plants. Vol. 4. Fruit and Nuts*. Berlin Springer-Verlag. hlm. 281-301
- Ploetz, R.C., A.K. Kepler., J. Daniells, S.S. Nelson. 2007. Banana and plantain an overview with emphasis on Pasific islands cultivars. Specific Profiles for Pasific Island Agroforestry. <http://www.agroforestry.net/tti/Banana-plantain-overview.pdf> [7 Agust 2007]
- Predieri, S. 2001. Mutation induction and tissue culture in improving fruits. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 64: 185–210.
- Sugimoto, H., K. Kusumi, Y. Tozawa, J. Yazaki, N. Kishimoto, S. Kikuchi and K. Iba, 2004. *The virescent-2* mutation inhibition translation of plastid transcripts for the plastic genetic system at an early stage of chloroplast differentiation. *Plant Cell Physiol.* 45(8): 985-996.
- Suprasanna P, M. Sidha, T.R. Ganapathi. 2008. Characterization of radiation induced and tissue culture derived dwarf types in banana by using a SCAR marker. *Aust. J. Crop Sci.* 1(2):47-52.
- Valmayor, R.V., S.H. Jamaluddin, B. Silayoi, S. Kusumo, L.D. Danh, O.C. Pascua, R. R.C. Espiro. 2000. Banana cultivar names and synonyms in Southeast Asia. France. INIBAP.