

## Review: Aplikasi Iradiasi Sinar Gamma Untuk Menghasilkan Variasi Genetik Anggrek Alam *Phalaenopsis amabilis* (L.)

Afridha Sari

Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Alauddin Makassar  
Jl. H.M Yasin Limpo No. 36, Kab. Gowa, Sulawesi Selatan 92113  
Email: [afriidhasari249@gmail.com](mailto:afriidhasari249@gmail.com)

### Abstrak

Untuk menemukan variasi genetik pada Anggrek Alam *Phalaenopsis amabilis* (L.) dapat dilakukan metode iradiasi sinar gamma. Pada proses iradiasi sinar gamma dapat menghasilkan keragaman tanaman genotip. Hal inilah yang kemudian menjadi dasar untuk penelitian yang lebih lanjut secara biologi molekuler untuk mengetahui apakah keanekaragaman fenotip dalam tanaman ini memang merupakan hasil perbedaan dari setiap tanaman yang diradiasi. Dalam penelitian ini dilakukan teknik RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) untuk menganalisis keragaman genetik antar individu tanaman hasil iradiasi. Pada hasil penelitian menunjukkan dengan melakukan iradiasi sinar gamma Co-60 dengan menggunakan metode RAPD ditemukan adanya keragaman genetik yang dianalisis dari masa awal pertumbuhan tanaman anggrek bulan (*Phalaenopsis amabilis*) Blume.

Kata kunci : Iradiasi, Variasi genetik, Anggrek bulan (*Phalaenopsis amabilis*).

### PENDAHULUAN

Anggrek bulan (*Phalaenopsis amabilis*) merupakan salah satu tanaman hias yang menjadi pesona bagi bangsa Indonesia. Di Indonesia genus dari *Phalaenopsis* dari 70 spesies yang telah dilaporkan terdapat 26 diantaranya spesies yang endemik. *Phalaenopsis* merupakan genus anggrek yang dapat digunakan sebagai bunga potong, induk persilangan dan dapat dijadikan koleksi tanaman hias baik sebagai hiasan dalam ruangan maupun hiasan di taman. produksi dalam negeri dan impor anggrek jenis *Phalaenopsis* semakin meningkat pesat. Semakin meningkatnya permintaan pasar dan juga stok tanaman yang juga semakin murah.

Metode pemuliaan tanaman secara konvensional dengan berbagai metode seperti perilangan dan seleksi dapat menjadi salah satu jalan untuk menciptakan varietas baru pada anggrek bulan (*Phalaenopsis amabilis*) berdasarkan indikator pencapaian seperti warna, aroma, bentuk dan umur tanaman. Namun metode ini dianggap masih sederhana dan dibatasi dengan tersedianya gene pool dari spesies yang ada.

Kemudian dibuatlah sebuah metode baru untuk menciptakan varietas-varietas buatan dari tumbuhan yaitu dengan iradiasi sinar gamma. Penelitian lain mengenai radiasi sinar gamma juga sebelumnya telah dilaksanakan dengan menggunakan berbagai jenis spesies

anggrek bulan yaitu tanaman pot *Phalaenopsis aphoridite* dan plantlet *Phalaenopsis amabilis*. Namun pada penelitian ini masih berfokus pada keragaman populasi mutan baik secara genotip maupun molekuler.

Pada iradiasi sinar gamma yang dilakukan pada berbagai jenis anggrek diantaranya yaitu anggrek *Gramaotphyllum* sp., *Rhycostylis* sp., *Dendrobium* sp. dan *Phalaenopsis* sp. dengan dosis sinar gamma diantaranya 0, 20, 40, 60 dan 80 gray yang diradiasi pada protokorm menunjukkan kondisi menurun pada dosis 40 dan 60 gray dan mengalami kematian pada dosis 80 gray. Dosis iradiasi yang baik untuk pertumbuhan bibit dan pitokrom pada tanaman biasanya menggunakan dosis antara 20-25 gray dan 35 gray (Soedjono dan Suskandari, 1996).

### METODE

Waktu dan tempat dilakukannya penelitian terbagi menjadi 3 sesuai dengan tahapan dari penelitian yang dimulai dari iradiasi sinar gamma menggunakan sampel buah anggrek bulan (*Phalaenopsis amabilis*) yang bertempat di Pusat Penelitian dan Pengembangan Teknologi Isotop dan Radiasi Badan Tenaga Nuklir Nasional (P3TIR BATAN) Pasar Jum'at Jakarta. Sampel kemudian diradiasi dengan sinar gamma Co-60 menggunakan takaran dosis yang berbeda-beda diantaranya dosis 0 (tanpa perlakuan) dan

dosis perlakuan diantaranya 15, 20, 25, 40 dan 20+20 gray. Setelah diradiasi dilakukan proses penanaman buah hasil iradiasi tadi di Laboratorium Kultur Jaringan Tumbuhan Fakultas Biologi dan juga dilakukan pengamatan molekuler yang dilaksanakan di Laboratorium Genetika dan Pemuliaaan Tanaman Fakultas Pertanian UGM.

Selanjutnya buah anggrek bulan dimasukkan ke dalam media MP yang telah dicampur dengan tomat. Eksplan anggrek yang telah tumbuh kemudian dilakukan subkultur setiap 3 bulan untuk mengamati pertumbuhan dengan memperhatikan indikator pencapaian yaitu jumlah daun, panjang dan lebar dari setiap daun, panjang dan diameter akar. Planlet anggrek bulan kemudian diaklimatisasi saat setelah berumur 2 tahun.

Untuk pengamatan molekuler dapat dilakukan dengan melakukan ekstraksi DNA tanaman hasil radiasi yang tumbuh dari buah anggrek bulan. Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan daun dari planlet tanaman seberat 0,1 gram yang sebelumnya telah terpilih menggunakan hasil modifikasi dari metode CTAB. Hasil ekstraksi kemudian dilakukan purifikasi menggunakan GeneClean@III Kit (MP Biomedical). Selanjutnya dilakukan proses Amplifikasi

dengan menggunakan PCR. Setelah melakukan proses PCR DNA kemudian dielektroforesis dengan menggunakan agarose 1.5% yang sebelumnya telah dipanaskan kemudian ditambahkan buffer TBE 1X dan dimasukkan dalam cetakan untuk dicetak.

Pada pengamatan morfologi dapat dianalisis dengan menggunakan SAS (Statistical Analyzes System). Ciri kualitatif yang diamati diantaranya bentuk akar, bentuk daun, bentuk tepi daun dan tipe ujung daun. Untuk pengamatan karakter molekuler dapat diamati dengan adanya pita DNA dari agarose dengan elektroforesis dari hasil PCR.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil analisis mengenai karakter morfologi hasil iradiasi sinar gamma Co-60 pada plantlet anggrek bulan *Phalaenopsis amabilis* (L.) dapat diamati pada tabel 1.

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa perlakuan iradiasi sinar gamma dengan dosis yang berbeda-beda berpengaruh terhadap pertumbuhan plantlet dari tanaman anggrek bulan *Phalaenopsis amabilis* (L.). pada pengamatan dapat dilihat pada perlakuan 20+20 gray menghasilkan plantlet dengan jumlah daun kontrol yang lebih panjang.

**Tabel 1.** Hasil analisis pertumbuhan planlet anggrek bulan alam *P. amabilis* L.(Blume) hasil iradiasi sinar gamma berbagai dosis (24 BST)

| Perla-<br>kuan | Jumlah<br>daun | Panjang daun (cm) |         |         | Lebar daun (cm) |          |          | Jumlah<br>akar | Diameter<br>akar<br>(cm) |
|----------------|----------------|-------------------|---------|---------|-----------------|----------|----------|----------------|--------------------------|
|                |                | 1                 | 2       | 3       | 1               | 2        | 3        |                |                          |
| 0 Gy           | 5.7667 a       | 3.9967a           | 4.1633a | 5.7467a | 0.6433b         | 0.6533b  | 0.6983b  | 5.333ab        | 0.413ab                  |
| 15 Gy          | 4.7000bc       | 2.3667b           | 2.7067b | 2.6333b | 0.8733ab        | 0.8267ab | 0.7600ab | 4.933abc       | 0.359ab                  |
| 20 Gy          | 3.4000 c       | 3.1233ab          | 2.8733b | 2.9200b | 0.7667ab        | 0.7600a  | 0.7267ab | 4.2667bcd      | 0.293b                   |
| 25 Gy          | 4.6667bc       | 4.1233a           | 4.7267a | 5.4500a | 0.9133ab        | 0.9400a  | 1.010a   | 6.200a         | 0.469a                   |
| 40 Gy          | 4.2000 c       | 2.4467b           | 2.3200b | 2.3967b | 0.9880a         | 0.9567a  | 1.000b   | 3.700cd        | 0.3756ab                 |
| 20+<br>20 Gy   | 5.5333ab       | 2.0700b           | 1.8500b | 2.7933b | 0.7667ab        | 0.7633ab | 0.8100ab | 3.200d         | 0.290b                   |

Keterangan : Angka pada satu lajur diikuti huruf yang sama tidak berbeda pada taraf 5 % pada uji Jarak Berganda Duncan

Hasil analisis keragaman genetik berdasarkan karakter morfologi dapat diamati pada tabel 2.

**Tabel 2.** Hasil analisis Keragaman Genetik berdasarkan Karakter Kualitatif pertumbuhan Planlet Anggrek Bulan Alam *P. amabilis* L.(Blume) hasil iradiasi sinar gamma (24 BST) berdasarkan *Nei 's gene diversity* (1973)

| Perlakuan  | P (%)      | Na       | Ne           | I            | h            | uh           |
|------------|------------|----------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| Kontrol(0) | 18.18      | 0.545    | 1.086        | 0.091        | 0.058        | 0.065        |
| 15 Gy      | 81.82      | 1.636    | 1.457        | 0.425        | 0.280        | 0.311        |
| 20 Gy      | 90.91      | 1.818    | 1.444        | 0.424        | 0.273        | 0.303        |
| 25 Gy      | 90.91      | 1.818    | 1.598        | 0.510        | 0.345        | 0.384        |
| 40 Gy      | <b>100</b> | <b>2</b> | <b>1.670</b> | <b>0.574</b> | <b>0.389</b> | <b>0.432</b> |
| 20+20 Gy   | 81.82      | 1.636    | 1.539        | 0.462        | 0.313        | 0.347        |
| Rerata     | 77.27      | 1.576    | 1.466        | 0.414        | 0.276        | 0.307        |
| SE         | 12.14      | 0.099    | 0.043        | 0.031        | 0.022        | 0.025        |

Keterangan : P = persentase locus yang polimorfism, Na = jumlah alel yang berbeda, Ne = jumlah alel efektif, I = index Shannon, h = keragaman dan uh = keragaman tidak bias.

Berdasarkan hasil data yang didapatkan terlihat adanya perubahan karakter genetik yang disebabkan oleh pemberian iradiasi. Hal ini dapat dilihat pada lokus yang polimorfis hanya mencapai 18.18% sedangkan pada kontrol mencapai 100% pada dosis 40 gray. Keragaman genetik pada kontrol sebesar 0.058. dibandingkan perlakuan iradiasi tertinggi pada perlakuan 40 Gray sebesar 0.389. Hal inilah yang kemudian menunjukkan telah terjadi perubahan karakter akibat iradiasi.

Karakter genetik yang berasal dari penanda fenotip dapat disebabkan oleh beberapa faktor seperti pada faktor lingkungan baik itu lingkungan makro maupun mikro. Selain itu faktor lain yang mempengaruhi adalah umur dari individu tersebut. Suatu analisis DNA sebagai materi genetik tidak dipengaruhi oleh suatu kondisi lingkungan. Oleh karena itu karakteristik genetik harus didukung oleh penanda molekuler.

Tujuan dilakukannya pengamatan karakter molekuler adalah untuk mengetahui adanya peristiwa mutasi pada tanaman setelah diberi perlakuan iradiasi sinar gamma Co-60 dengan menggunakan teknik RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) dengan cara melakukan penyeleksian primer dari 22 primer menjadi 8 primer yang telah teramplifikasi. Hasil pengamatan dapat diamati pada tabel 3.

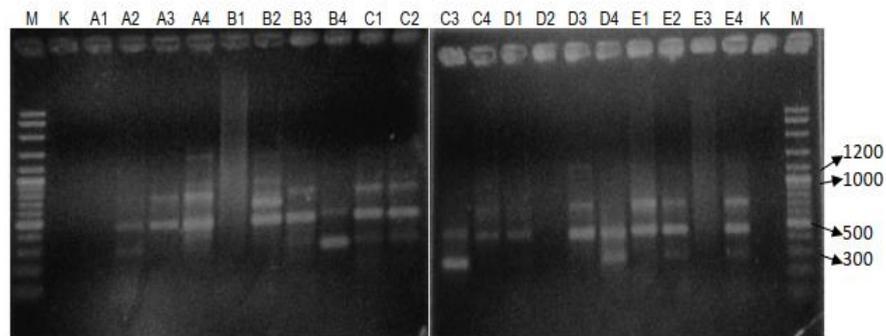
**Tabel 3.** Primer yang digunakan dalam amplifikasi DNA tanaman Anggrek Bulan Alam *Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume hasil iradiasi sinar Gamma Co-60

| No | Primer | Sekuen           | Jumlah pita polimorfik | Jumlah pita monomorfik | Jumlah pita teramplifikasi |
|----|--------|------------------|------------------------|------------------------|----------------------------|
| 1  | OPA2   | 5'TGCCGAGCTG 3'  | 7                      | 2                      | 9                          |
| 2  | OPA10  | 5'GTGATCGCAG 3'  | 9                      | 4                      | 12                         |
| 3  | OPB1   | 5' GTTTCGCTCC 3' | 7                      | 0                      | 7                          |
| 4  | OPB5   | 5'GATGACCGCC 3'  | 11                     | 2                      | 13                         |
| 5  | OPB6   | 5'TGCTCTGCCC 3'  | 4                      | 2                      | 6                          |
| 6  | OPB7   | 5'GGTGACGCAG 3'  | 9                      | 2                      | 11                         |
| 7  | OPB10  | 5'CTGCTGGGAC 3'  | 8                      | 0                      | 8                          |
| 8  | OPS12  | 5'CTGGGTGAGT 3'  | 12                     | 0                      | 12                         |

Activate Windows

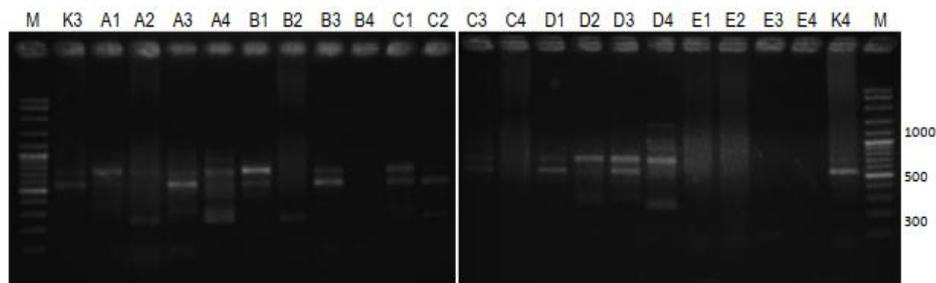
Berdasarkan pengamatan dapat diketahui dari 8 primer yang telah teramplifikasi adalah sebesar 84,48%. Pada tabel dapat dilihat OPA 10 menunjukkan

semua lokus polimorfik, OPB 1, OPB5 dan OPB7 tetap dapat digunakan untuk penanda molekuler pada tingkat awal adanya perbedaan pola pita hasil iradiasi.



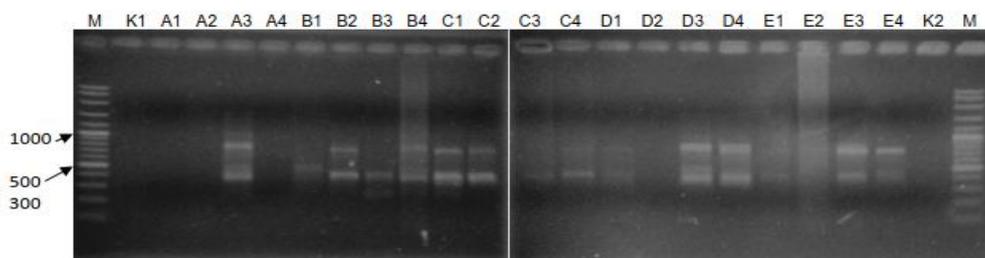
**Gambar 1.** Hasil amplifikasi DNA Anggrek Bulan Alam *P. amabilis* (L) Blume yang diiradiasi dengan sinar gamma Co-60 pada berbagai dosis (0, 15, 20, 25, 40 dan 20+20 Gy) dengan primer OPA2.

Keterangan : M ; Marka, K; Wild tipe (Kontrol,) A1: 15 Gy daun asimetris; A2: 15 Gy daun fusi; A3: 15 Gy daun bergelombang; A4 : 15 Gy daun membulat. B1: 20 Gy daun bulat; B2: 20 Gy bergelombang; B3: 20 Gy daun beralur tebal, B4 20 Gy lanset. C1: 25 Gy: daun rosset, C2; 25 Gy daun lanset, C3: 25 Gy daun tidak membuka sempurna, C4: 25 Gy Daun bulat tebal. D1: 40 Gy Bulat tebal, D2: 40 Gy daun mlintir, D3: 40 Gy Daun kriting, D4: 40 Gy daun rosset. E1: 20+20 Gy Daun Bulat. E2: 20+20 daun Fusi, E3: Ujung daun terbelah, E4: 20+20 Gy daun Lanset tebal.



**Gambar 2.** Hasil amplifikasi DNA Anggrek Bulan Alam *P. amabilis* (L) Blume yang diiradiasi dengan sinar gamma Co-60 pada berbagai dosis (0, 15, 20, 25, 40 dan 20+20 Gy) dengan primer OPB5

Keterangan : M ; Marka, K; Wild tipe (Kontrol) A1: 15 Gy daun asimetris; A2: 15 Gy daun fusi; A3: 15 Gy daun bergelombang; A4: 15 Gy daun membulat. B1: 20 Gy daun bulat; B2: 20 Gy bergelombang; B3: 20 Gy daun beralur tebal, B4 20 Gy lanset. C1: 25 Gy:daun rosset, C2; 25 Gy daun lanset, C3: 25 Gy daun tidak membuka sempurna, C4: 25 Gy Daun bulat tebal. D1: 40 Gy Bulat tebal, D2: 40 Gy daun mlintir, D3: 40Gy Daun kriting, D4: 40 Gy daun rosset. E1: 20+20 Gy Daun Bulat. E2: 20+20 daun Fusi, E3: Ujung daun terbelah, E4: 20+20 Gy daun Lanset tebal.



**Gambar 3.** Hasil amplifikasi DNA Anggrek Bulan Alam *P. amabilis* (L) Blume yang diiradiasi dengan sinar gamma Co-60 pada berbagai dosis (0, 15, 20, 25, 40 dan 20+20 Gy) dengan primer OPB6

Keterangan : M ; Marka, K; Wild tipe (Kontrol) A1: 15 Gy daun asimetris; A2: 15 Gy daun fusi; A3: 15 Gy daun bergelombang; A4: 15 Gy daun membulat. B1: 20 Gy daun bulat; B2: 20 Gy bergelombang; B3: 20 Gy daun beralur tebal, B4 20 Gy lanset. C1: 25 Gy: daun rosset, C2: 25 Gy daun lanset, C3: 25 Gy daun tidak membuka sempurna, C4: 25 Gy daun bulat tebal. D1: 40 Gy Bulat tebal, D2: 40 Gy daun mlintir, D3: 40 Gy Daun kriting, D4: 40 Gy daun rosset. E1: 20+20 Gy Daun Bulat. E2: 20+20 daun Fusi, E3: Ujung daun terbelah, E4: 20+20 Gy daun Lanset tebal.

Pengamatan gambar 1,2 dan 3 merupakan hasil dari elektroforesis yang menunjukkan adanya keragaman pita DNA yang terbentuk dari setiap perlakuan. Perlakuan iradiasi ini menunjukkan adanya penyebaran dari keragaman genetik. Kontrol terkonsentrasi pada satu titik yang menunjukkan rendahnya keragaman genetik pada tanaman induk. Sedangkan indukan tanaman yang diberi perlakuan sinar gamma Co-60 menunjukkan adanya perubahan genetik yang dapat menciptakan keragaman genetik yang terbentuk. Keragaman genetik dalam jumlah besar dapat digunakan sebagai bahan dalam pemuliaan tanaman terkhusus pada tanaman anggrek bulan (*P.amabilis*).

## KESIMPULAN

Variasi genetik dapat terbentuk akibat dari adanya keragaman genetik. Keragaman genetik Anggrek bulan alam *Phalaenopsis amabilis* dapat dilakukan dengan menggunakan metode iradiasi sinar gamma untuk menghasilkan keragaman yang sifatnya fenotip. Penggunaan penanda molekuler dengan menggunakan teknik RAPD dengan dosis yang berbeda digunakan untuk analisis keragaman genetik tanaman anggrek bulan alam (*Phalaenopsis amabilis*) yang diamati dari awal pertumbuhan tanamannya. Hasil menunjukkan pada dosis iradiasi 15 dan 40 Gy memberikan variabilitas genetik tinggi dibandingkan tanpa perlakuan.

## DAFTAR PUSTAKA

Anggrek dan Seleksi Primer Melalui Teknik Random Amplified Polymorphic DNA, Pross. Sem. Nas Anggrek, Yogyakarta, 26 Oktober (2002).

- Fitro Adi Cahyodan Diny Dinarti. "Pengaruh Iradiasi Sinar Gamma terhadap Pertumbuhan Protocorm Like Bodies Anggrek *Dendrobium lasianthera* (J.J. Smith) secara In Vitro". *Jurnal Hort Indonesia* 6 no. 3(2015):h. 177-186.
- Kartikaningrum S.N. Hermiati, A. Baihaki, M.H. Karmana dan N.T. Mathius . "Isolasi DNA Piluck, C. And S. Lamseejan. *Orchid Improvement through Mutation induction by Gamma rays*, Workshop on Induced Mutation Technique for Genetic Diversity and economic Crop Improvement.-II, 4 (2002).
- Rahayu Sulistianingsih, Aziz Purwanto, Woerjono, Mangoendidjojo Endang dan Semiarti. "Variasi Genetik Anggrek Alam *Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume Hasil Iradiasi Sinar Gamma". *Jurnal Ilmiah Aplikasi Isotop dan Radiasi* 8 no. 1(2012):h. 1-10.
- Sasanti Widiarsih dan Ita Dwimahyani. "Aplikasi Iradiasi Gamma untuk Pemuliaan Mutasi Anggrek Bulan (*Phalaenopsis amabilis* Bl.) Umur Genjah". *Jurnal Ilmiah Aplikasi Isotop dan Radiasi* 9 no. 1(2013):h. 59-66.
- Soedjono, S. Dan K. Suskandari. "Pengaruh Waktu Perendaman dan Konsentrasi Colchicine Terhadap Pertumbuhan Protokorm Anggrek *Dendrobium Jayakarta*". *Jurnal Hortikultura*. Vol 6 h: 242-248 (1996).
- Thammasiri, K. *Effect of Gamma Irradiation on Protocorm- Like Bodies of Cattleya Alliance*. <http://www.delfinadearaujo.com/woc/part1.htm> (2005).
- Wang, Y.T. *Phalaenopsis Orchid light requirement during the induction of spiking*. *HortScience*, 30 (1), 59—61. (1995).