

EVALUASI KERAGAMAN FENOTIPE GALURMUTAN
PISANG BARANGAN (*Mmaparadisiaca* kuitivar Barangan) PADA GENERASI M, V₄
[Evaluation on Phenotypic Variance Derived from
Banana Mutant Lines of cv. Barangan in M,V₄ Generation]

Azri Kusuma Dewi dan Ita Dwimahyani

Puslitbang Teknologi Isotop dan Radiasi, Batan
P.O. BOX 7010, JKSKL
Jakarta 12070

ABSTRACT

Phenotypic variance derived from banana (*Musa paradisiaca*) mutant lines of cv. Barangan were carried out in nursery level which were conducted at CRDIRT-Green House, Pasar Jumat, Jakarta. Several phenotypic performances of mutant lines such as leaf and pseudostem, petiole and leaf length, plant height, leaf width were observed. Number of 150 plants, were then divided into 11 groups based on performance of leaf, pseudostem, and petiole length. Results indicated that 26% was showed for normal performance, while 6,7% was showed for abnormal lamina with normal petiole, 11,3% was showed for abnormal lamina and petiole, 28,7% was given for stunted plant, 3,3% with chocking lamina, 1,3% was showed for abnormal petiole, 2,0% with light green leaf and abnormal petiole, 6,0% was given for reddish pseudostem, 0,7% with cigar leaf, 1,3% was showed for discoloration leaf and 2,7% was showed for elongation leaf and abnormal petiole. From the result of this experiment can be concluded that gamma irradiation with dose 15 Gy produced high phenotypic variance of cv. Barangan.

Kata kunci: Keragaman fenotipe, galur mutan pisang barangan.

PENDAHULUAN

Di Indonesia terdapat berbagai jenis kuitivar pisang baik untuk dimakan segar (*desert banana*) seperti pisang barangan (*Musa paradisiaca* kuitivar barangan), ambon kuning dan pisang mas, maupun pisang yang mengalami proses pengolahan sebelum dikonsumsi (*cooking banana*) seperti pisang kepok, tanduk dan pisang raja. Pisang yang ada di pasaran saat ini belum sepenuhnya dapat memenuhi keinginan konsumen baik dari segi kuantitas maupun kualitas. Oleh sebab itu perlu terus dilakukan berbagai usaha untuk memperbaikinya agar dapat memenuhi keinginan pasar.

Pada umumnya tanaman pisang diperbanyak secara vegetatif disebabkan tanaman pisang yang ada saat ini kebanyakan bersifat triploid dan tidak berbiji. Perbaikan kuitivar tanaman pisang sangat sulit sekali dilakukan dengan pemuliaan konvensional sehingga akan mengalami suatu kendala yang cukup berarti jika diperbanyak pisang dilakukan secara generatif (Vuylsteke *et al.*, 1997; Simmond, 1966).

Krikorian (1990) juga menyatakan bahwa pisang adalah tanaman yang melakukan perbanyakan secara vegetatif, dimana kuitivar baru umumnya berasal dari mutasi spontan. Pemuliaan tanaman pisang pada saat ini dimungkinkan melalui mutasi induksi dengan menggunakan zat mutagen seperti sinar gamma (Mak *et al.*, 1996; Smith 1987; Ishak, 2000). Aplikasi mutasi induksi pada eksplan dapat mengakibatkan terjadinya mutasi pada sel-sel somatik sehingga akan menghasilkan keragaman genetik yang cukup luas pada tanaman yang dihasilkan selama kultur *in-vitro* (Hwang dan Ko, 1988; Ishak, 2000).

Perbanyakan tanaman pisang secara kultur *in-vitro* mempunyai keuntungan dari segi penyediaan bibit yang seragam dan dalam jumlah cukup besar untuk perkebunan luas. Menurut beberapa laporan variasi somaklonal sering terjadi pada tanaman pisang selama kultur *in-vitro*. Untuk mengatasi hal ini disarankan melakukan sub kultur tanaman cukup sampai pada generasi keempat. Variasi somaklonal dapat menyumbangkan karakter agronomis yang sangat berharga seperti ketahanan terhadap penyakit (Hwang dan Ko, 1988), namun juga dapat memunculkan karakter

agronomis yang merugikan (Vuylsteke *et al.*, 1997). Oleh karena itu perbaikan sifat-sifat agronomis tanaman pisang bisa dilakukan dengan aplikasi mutasi induksi dengan menggunakan zat mutagen fisika dan kimia untuk merubah konstitusi genetik yang ada pada genom tanaman ke arah yang diinginkan dengan keragaman genetik yang lebih luas (Ishak, 2000; Persley dan De langhe, 1987). Penggunaan teknik mutasi induksi dengan sinar gamma yang digabungkan dengan teknik kultur jaringan selain dapat memperluas keragaman genetik kultivar pisang juga dapat memperbanyak tanaman pisang dalam jumlah besar, sehingga akan memudahkan dalam proses seleksi tanaman untuk memperoleh karakter yang diinginkan (Rowe, 1984; Jaret *et al.*, 1985; Gupta, 1986). Pemuliaan mutasi yang dikombinasikan dengan teknik kultur jaringan adalah suatu pendekatan yang paling baik saat ini dalam memperoleh kultivar baru bagi tanaman yang diperbanyak secara vegetatif. Novak (1992), mengatakan bahwa kombinasi penggunaan teknik kultur jaringan dengan mutasi induksi pada pemuliaan tanaman pisang dapat meningkatkan keragaman genetik tanaman sekaligus memperbaiki karakter tanaman tersebut.

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari frekuensi mutasi dan keragaman fenotipe tanaman pisang yang disebabkan oleh iradiasi gamma pada sel-sel Isomatik.

BAHAN DAN CARA KERJA

Tempat dan Waktu penelitian

Percobaan dilakukan di Laboratorium Kultur Jaringan dan Rumah Kaca Puslitbang Teknologi Isotop dan Radiasi, Batan, Pasar Jumat-Jakarta, pada tahun 2000.

Persiapan eksplan dan iradiasi sinar gamma

Jantung tanaman pisang cv. Barangan yang berasal dari kebun percobaan Cipanas digunakan sebagai sumber eksplan. Eksplan disterilkan dengan bayclin 30% selama 20 menit, kemudian dibilas dengan aquades steril sebanyak tiga kali. Selanjutnya eksplan diiradiasi dengan sinar gamma pada dosis 15 Gy. Eksplan kemudian dipotong menjadi bagian-bagian kecil (2 mm) dan dikultur pada media MS (Murashige dan Skoog, 1962).

Media untuk kultur eksplan

Media untuk kultur eksplan terdiri dari unsur makro dan mikro nutrisi dari MS yang ditambah dengan asam nikotinat 0,5 mg/l, tiamin HC10,5 mg/l, piridoksin HC10,5 mg/l, myo inositol 100 mg/l, asam amino tirosin 100 mg/l, adenin hemisulfat 80 mg/l, BAP 3 mg/l dan IAA 0,5 mg/l sebagai hormon pertumbuhan, sedangkan sebagai sumber karbohidrat adalah sukrosa 30 g/l. Satu bulan setelah eksplan di kultur pada media ini kemudian dipindahkan ke media baru dengan komposisi yang sama dengan sebelumnya.

Subkultur pucuk tanaman pisang

Setelah tiga bulan eksplan dikultur maka keluar pucuk-pucuk kecil dari potongan jantung pisang. Pucuk-pucuk kecil yang sudah terbentuk kemudian dipindahkan ke media baru tanpa mengandung tirosin, sedangkan adenin hemisulfat diturunkan sampai menjadi 40 g/l. Subkultur pucuk dilakukan sampai generasi ke empat yang diistilahkan dengan generasi M, V₄.

Media pembentukan akar tanaman

Tanaman pisang yang dihasilkan selama kultur *in-vitro* tidak mempunyai akar, untuk menginduksi pembentukan akar maka planlet dikultur pada media MS bebas hormon yaitu makro dan mikro nutrisi dari MS dengan menambahkan asam nikotinat 0,5 mg/l; tiamin HC10,5 mg/l; piridoksin HC10,5 mg/l; myo inositol 100 mg/l; sukrosa 30 g/l. **Planlet** di kultur pada media MS bebas hormon ini selama 30 hari.

Aklimatisasi planlet

Planlet yang sudah mempunyai akar cukup kuat kemudian dipindahkan ke rumah kaca untuk proses aklimatisasi. Planlet di tempatkan di dalam wadah berukuran 50x80 cm yang telah diisi dengan campuran tanah dan pupuk kandang dengan perbandingan 1:1. Planlet ditanam dengan jarak 3 cm selama dua minggu, dimana pada saat itu daun tanaman sudah segar dan akar baru sudah mulai tumbuh. Selanjutnya planlet dipindahkan ke dalam polibag berukuran 20x25 cm. Setelah satu bulan tanaman tumbuh di polibag mulai dilakukan pengamatan pertama terhadap perubahan fenotipe tanaman, sedangkan data kualitatif dan kuantitatif diambil setelah tanaman berumur tiga bulan dalam polibag.

Pengamatan keragaman fenotipe tanaman

Pengambilan data keragaman fenotipe dilakukan pada saat tanaman sudah berumur tiga bulan dengan parameter yang diambil adalah bentuk lamina, panjang petiol serta bentuk dan warna pseudostem. Jumlah keseluruhan tanaman yang diamati adalah 150 tanaman, selanjutnya dilakukan penghitungan persentase tanaman yang normal dan abnormal.

HASIL

Gejala yang muncul pertama kali sewaktu eksplan dikultur adalah keluarnya eksudat yang berwarna ungu kehitaman dan merembes ke dalam media. Apabila jumlah eksudat ini semakin banyak sebaiknya eksplan segera di pindahkan ke media baru agar pertumbuhan selanjutnya tidak terganggu. Perbanyak tanaman pisang secara *in-vitro* dilakukan sampai subkultur ke empat (M,V₄). Dari hasil pengamatan menunjukkan bahwa jumlah pucuk yang dapat dihasilkan pada setiap subkultur berkisar sekitar tiga sampai empat kali lipat selama jangka waktu satu

bulan. Efek iradiasi sinar gamma terhadap perubahan fenotipe tanaman sudah dapat dilihat pada generasi MJVJ yaitu diperoleh tanaman dengan warna daun veridis (Foto 1.A). Namun tanaman yang dihasilkan ini tidak bisa jadi dewasa karena terkontaminasi dengan cendawan sewaktu subkultur, sehingga tanaman ini tidak bisa dipindahkan ke polibag karena belum berakar. Planlet yang dihasilkan dari dalam botol harus diaklimatisasi sebelum dipindahkan ke dalam polibag. Proses aklimatisasi memakan waktu sekitar 10-14 hari. Pada saat ini planlet sudah mempunyai daun yang segar dan akar baru sudah mulai tumbuh selama aklimatisasi tersebut. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa lebih 90% planlet yang dikeluarkan dari dalam botol dapat bertahan hidup sampai dewasa.

Pengamatan kejadian mutasi dari 150 tanaman pisang yaitu berdasarkan penampilan fenotipe dilakukan saat tanaman sudah berumur sekitar tiga bulan di polibag. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa mutasi akibat iradiasi sinar gamma dapat

Tabell. Pengaruh iradiasi gamma terhadap persentase timbulnya keragaman fenotipe pada galur mutan pisang barangan.

No	Keragaman fenotipe			Jumlah tanaman	Persentase (%)
	Daun	Pseudostem	Petiol		
1.	Normal, daun hijau tua	Hijau terang, transparan	Normal	39	26
2.	Hijau tua, bentuk cacat, lamina tidak sama lebar	Hijau terang, transparan	Normal	25	16,7
3.	Hijau tua, bentuk cacat, lamina tidak sama lebar	Hijau terang, transparan	Pendek	17	11,3
4.	Hijau tua, bentuk cacat	Hijau terang, transparan, kerdil	Pendek	43	28,7
5.	Penampilan daun tercekik (Chocking lamina)	Hijau terang	Pendek	5	3,3
6.	Hijau tua	Transparan	Pendek	2	1,3
7.	Hijau terang	Transparan	Pendek	3	2,0
8.	Hijau tua	Garis merah (reddish pseudostem)	Normal	9	6,0
9.	Daun muda menggulung (cigar leaf)	Transparan	Normal	2	1,3
10.	Berubah warna (discoloration leaf)	Hijau terang, transparan	Normal	2	1,3
11.	Daun memanjang (long narrow leaf)	Hijau terang, transparan	Panjang	4	2,7

dikelompokkan menjadi sebelas kelompok. Persentase tanaman yang berpenampilan normal diperoleh sekitar 26% dari 150 tanaman yang telah diamati (Tabel 1). Mutasi pada ukuran petiol dan luas diantara dua sisi lamina (*uneven lamina*) paling banyak ditemukan (Foto 1.B). Tanaman yang mempunyai luas sisi lamina tidak sama dan petiol yang pendek serta kerdil ditemukan sekitar 28,7%, sedangkan bentuk daun tercekik yang diistilahkan dengan "chocking" dan petiol pendek diperoleh sekitar 3,3% (Foto 1.D). Bentuk dan warna pseudostem dari mutan-mutan yang diamati ada yang berubah dari warna induknya yaitu diperoleh tanaman dengan pseudostem yang berwarna merah (*reddish pseudostem*). Beragam karakter tanaman yang muncul menunjukkan bahwa perlakuan iradiasi pada eksplan tanaman pisang telah menyebabkan terjadinya mutasi pada sel-sel somatik yang diekspresikan pada perubahan fenotipe tanaman yang dihasilkan selama kultur *in-vitro*. Tingginya frekuensi mutasi menandakan bahwa telah terjadi perubahan konstitusi genetik pada genom tanaman yang dihasilkan dari induknya.

Perbandingan antara panjang daun terhadap lebar daun pada tanaman yang berpenampilan normal adalah 2,5 cm, sedangkan pada tanaman yang abnormal adalah 3,0 cm. Panjang petiol yang berpenampilan normal adalah 4,3 cm dan pada tanaman yang abnormal panjang petiol mencapai 12 cm (Tabel 2).

PEMBAHASAN

Pisang barangan mempunyai konstitusi genom AAA sama dengan pisang cavendish. Pemuliaan pisang barangan akan lebih efektif dengan aplikasi teknologi nuklir, oleh karena pisang barangan bersifat triploid dan tidak berbiji. Kesuksesan aplikasi teknologi nuklir pada pisang cavendish adalah dengan

diperolehnya mutan tanaman seperti jenis William (Robinson, 1996). Mutasi induksi pada pisang dengan konstitusi genom AAA telah dilaporkan oleh beberapa peneliti dari berbagai laboratorium (Mak *et al*, 1996; Novak *et al*, 1995; Smith, 1987). Zat mutagen yang sering digunakan dalam penelitian pisang adalah iradiasi dengan sinar gamma sebab mempunyai resiko yang lebih kecil dibandingkan dengan menggunakan mutagen kimia (Novak, 1992). Perbaikan genetik tanaman pisang dengan menggunakan iradiasi sinar gamma dapat mempersingkat waktu dalam memperoleh **karakter-karakter tanaman** yang diinginkan. Salah satunya adalah mendapatkan tanaman pisang yang tahan terhadap penyakit layu fusarium yang disebabkan oleh jamur (Novak *et al*, 1995).

Perlakuan iradiasi sinar gamma pada dosis yang tepat dapat pula menghasilkan galur-galur mutan tanaman pisang yang toleran terhadap penyakit layu fusarium dalam suatu proses seleksi yang dilakukan (Mak *et al*, 1996). Keragaman genetik yang ditimbulkan akibat perlakuan iradiasi dengan sinar gamma merupakan hal yang penting dalam pemuliaan tanaman. Disamping itu kemungkinan timbulnya kimera pada mutan tanaman yang sedang diamati dapat saja terjadi. Hal ini disebabkan mutasi pada populasi sel tidak seragam, dimana ada bagian dari sel yang termutasi dan ada bagian yang tidak termutasi (Novak *et al*, 1995; Mak *et al*, 1996). Kimera ini dapat dilacak pada generasi berikutnya setelah tanaman mempunyai anakan atau mutan tanaman yang diperbanyak secara kultur jaringan menghasilkan generasi yang secara fenotipe terlihat berbeda dengan induknya. Untuk mengatasi kimera yang berlebihan pada tanaman pisang secara *in-vitro* adalah dengan membatasi sub kultur hanya sampai pada generasi ke 4-5 (Novak *et al*, 1995).

Tabel 2. Pengaruh iradiasi gamma terhadap karakter fenotipe galur mutan pisang barangan.

No.	Penampilan tanaman	Tinggi tanaman (cm)	Panjang daun (cm)	Lebar daun (cm)	Panjang petiol (cm)
1.	Normal	28,7	15,0	6,2	4,3
2.	Kerdil (Stunted)	10,6	6,4	2,2	1,2
3.	Lamina tidak sama (Uneven lamina)	26,4	13,5	4,6	3,4

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa efek iradiasi dengan sinar gamma mengakibatkan terjadinya perubahan fenotipe tanaman (Tabel 1). Perubahan fenotipe tanaman ini mempunyai kaitan erat dengan terjadinya suatu proses mutasi pada genom tanaman tersebut. Hal ini dapat dibandingkan dengan tanaman kontrol yaitu tanaman yang tidak mendapat perlakuan radiasi dimana semua tanaman yang diperoleh terlihat berpenampilan normal. Tampilan perubahan fenotipe yang terjadi pada tanaman pisang generasi M, V₄ dapat dilihat pada Foto 1 (A-K). Mutasi pada tanaman selama kultur *in-vitro*

dapat juga terjadi secara spontan yang disebut dengan variasi somaklonal (Novak *et al.*, 1995). Variasi somaklonal pada tanaman pisang juga telah banyak dilaporkan oleh beberapa peneliti (Hwang dan Ko, 1988; Stover dan Buddenhagen, 1986; Vuylsteke *et al.*, 1997).

KESEVIPULAN

Hasil pengamatan terhadap pengaruh iradiasi sinar gamma pada perubahan fenotipe tanaman pisang hasil kultur jaringan dapat disimpulkan bahwa iradiasi sinar gamma dengan dosis 15 Gy pada eksplan shoot

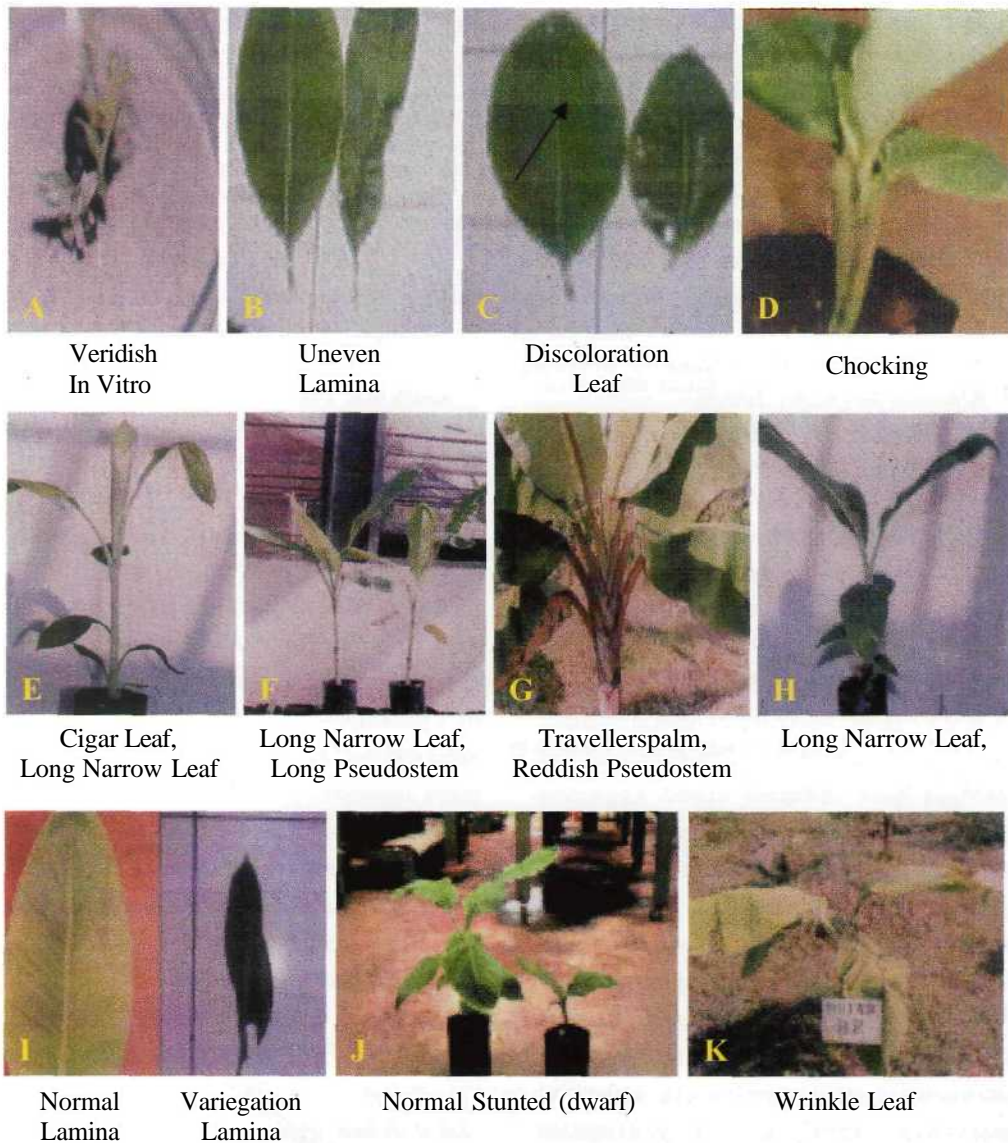


Foto 1. Keragaman fenotipe galur mutan pisang Barangan pada generasi M,V

tip tanaman pisang telah menimbulkan perubahan fenotipe tanaman yaitu pada bentuk lamina, panjang petiol dan warna pseudostem. Frekuensi mutasi yang terjadi mencapai 74% dari 150 tanaman yang diamati. Perubahan yang mencolok adalah luas lamina yang tidak sama antara sisi kiri dan sisi kanan. Perubahan fenotipe dari karakter yang diamati ini diduga karena terjadinya perubahan genotipe tanaman akibat mutasi pada level gen yang mengontrol masing-masing sifat tersebut.

DAFTARPUSTAKA

- Gupta P. 1986.** Eradication of mosaic disease and rapid clonal multiplication of bananas and plantains through meristem tip culture. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 6,33-39. *cit* Siddiqui SH *et al.* 1995. In vitro mutation breeding of bananas and plantains. IAEA-TECDOC-800, Vienna.
- Hwang SC and Ko WH. 1988.** Mutants of Cavendish banana resistant to race 4 of *Fusarium oxysporum* f.sp.cubense. *PlantProt.Bull. Taiwan* 30,386-392.
- Ishak. 2000.** Improvement of banana quality through induced mutation. *Paper Presented on Seminar of Methodology for Plant Mutation Breeding: Screening for Quality.* Jakarta.
- Jarret RL, Rodriquez W and Fernandez R. 1985.** Evaluation, tissue culture, propagation and dissemination of "Saba and Pelipita" plantains in Costa Rica. *Scientia Hortic.* 25, 137-147.
- Krikorian AD. 1990.** Baseline tissue and cell culture studies for use in banana improvement schemes. *Fusarium Wilt of Banana.* APS, St. Paul, Minnesota.
- Mak C, AA Mohamed, KW Hew and YW Ho. 1996.** Double tray technique for the screening of fusarium wilt resistance in banana nursery plants. *Malaysian Jour. Of Sci.*
- Murashige T and F Skoog. 1962.** A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physical Plants.* 15,473-497.
- Novak FJ. 1992.** Musa (bananas and plantains). *In:* Hammerschag and Litz RE (Eds). *Biotechnology of Perennial Fruit Crops.* CAB Intern. Wallingford pp. 449-448. *cit* Siddiqui SH *et al.* 1995. In vitro mutation breeding of bananas and plantains. IAEA-TECDOC-800, Vienna.
- Novak FJ, Afza R and Sacchi M. 1995.** Improvement of musa through biotechnology and mutation breeding. IAEA-TECDOC-800. *In vitro Mutation Breeding of Bananas and Plantains.* Vienna.
- Persley JC, and De langhe EA. 1987.** Summary and discussions and recommendations. *In : Banana and Plant Breeding Strategies.* Proceedings of an International Workshop, held at Cairn, Australia.
- Robinson JC. 1996.** *Bananas and Plantains.* CAB International, Wallingford, Oxon. UK.
- Rowe P. 1984.** Breeding bananas and plantains. *Plant Breeding Review* 2,135-155. *cit* Siddiqui SU *et al.* 1995. In vitro mutation breeding of bananas and plantains. IAEA-TECDOC-800, Vienna.
- Simmonds NW. 1966.** *Bananas.* 2nd ed. Logmans, Green & Co. London, 512.
- Smith MK. 1987.** A review of factors influencing the genetic stability of micropropagated bananas. *Fruits* 43, 219-223.
- Stover RH and Buddenhagen IW. 1986.** Banana breeding: polyploidy, disease resistance, and productivity. *Fruits* 41, 175-191.
- Vuylsteke D, Rodomiro O, Staan BF and Jonathan HC. 1997.** Plantain improvement. *Plant Breeding Rev.* 14,267-319.