

Uji Radiosensitivitas Sinar Gamma untuk Menginduksi Keragaman Genetik Sorgum Berkadar Lignin Tinggi

Radiosensitivity Analysis of Gamma Ray to Induce Genetic Diversity of High Lignin Content Sorghum

Dwi Astuti*, Yuli Sulistyowati, Satya Nugroho

Pusat Penelitian Bioteknologi - Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI)
Jl. Raya Bogor, KM. 46 Cibinong, Bogor 16911, Indonesia
* e-mail: iiaasty@yahoo.com

ABSTRAK

Sorghum (*Sorghum bicolor*) merupakan tanaman sereal yang dapat ditanam di lahan kering dan cukup potensial untuk dikembangkan di Indonesia. Sorgum dapat dimanfaatkan sebagai bahan pangan, pakan dan industri. Salah satu kandungan dalam sorgum yang dimanfaatkan untuk bahan industri adalah lignin yaitu digunakan dalam pembuatan *particle board* sehingga dapat mengurangi pemakaian kayu (penebangan pohon). Dalam penelitian ini digunakan 2 genotipe sorgum dengan kandungan lignin tinggi yaitu Konawe Selatan (KS) dan Sorgum Malai Mekar (SMM) untuk ditingkatkan keragaman pada karakter biomasa melalui pemuliaan mutasi induksi. Keberhasilan mutasi iradiasi sinar gamma sangat ditentukan oleh sensitivitas genotipe tanaman. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan rentang dosis optimal yang dapat menginduksi variasi genetik untuk genotipe KS dan SMM. Benih sorgum KS dan SMM diiradiasi sinar gamma dosis 0 - 1000 Gy *increment* 100 Gy. Pengamatan dilakukan terhadap populasi tanaman M1 untuk persentase daya kecambah dan tinggi tanaman pada dua minggu setelah tanam (2 MST). Hasil penelitian menunjukkan bahwa dosis iradiasi menghambat pertumbuhan benih sorgum yang ditunjukkan oleh tanaman kerdil atau tidak berkembang. Rentang dosis optimum yang didapatkan untuk sorgum genotipe KS dan SMM adalah 300 – 500 Gy.

Kata kunci: Biomasa, dosis optimum, lignin, pemuliaan, sorgum

ABSTRACT

Sorghum (*Sorghum bicolor*) is a cereal crop that can be grown in dryland condition and potentially to be developed in Indonesia. Sorghum can be used as a food, feed or for industrial purpose. Among of sorghum content is lignin which can be used as an industrial material in the manufacture of particle board. The use of particle board may reduces the use of wood from logging operation. In this research, variation of biomass characteristics of two sorghum genotypes with highest lignin content i.e. Konawe Selatan (KS) and Sorgum Malai Mekar (SMM) would be improved by inducing the mutation breeding. The improvement prominently depends on sensitivity of plant genotype to gamma ray radiation. This research aimed to estimate the optimal dose range to inducing genetic variation of KS and SMM. The seeds of KS and Sorgum Malai Mekar variety were gamma ray irradiated at the dose of 0 - 1000 Gy with an increment of 100 Gy. Growth percentage and plant height were observed over the M1 plant population at two weeks after implantation (2 WAP). Results showed that irradiation inhibited the growth of seed which indicated by stunted and undeveloped plants. The optimum dose for KS and SMM sorghum genotype was at interval of 300-500 Gy.

Keywords: Biomass, breeding, lignin, optimal dose, sorghum

PENDAHULUAN

Sorgum (*Sorghum bicolor* L. Moench) merupakan jenis tanaman sereal yang mempunyai adaptasi luas dan dapat ditanam di lahan kering sehingga berpotensi untuk dikembangkan dan dibudidayakan di Indonesia [1]. Sorgum memiliki banyak manfaat antara lain sebagai bahan pangan, bahan pakan ternak, sumber energi dan bahan baku industri. Potensi lain dari sorgum yang belum banyak digali adalah kandungan lignin. Lignin tinggi pada sorgum memiliki beberapa potensi antara lain sebagai bahan baku pembuatan *pulp* selain itu lignin tinggi berkorelasi positif dengan produksi biomasa yang tinggi [2] sehingga berpotensi sebagai bahan baku pembuatan partikel *board* untuk meminimalisasi penggunaan kayu.

Peningkatan kandungan lignin pada tanaman sorgum menjadi diperlukan, karena potensi yang dimilikinya. Pemuliaan sorgum ke arah perbaikan kandungan lignin dan biomasa dapat dilakukan yang diawali dengan peningkatan keragaman genetik tanaman sorgum. Peningkatan keragaman genetik tanaman dapat dilakukan melalui berbagai cara seperti persilangan, transformasi gen, variasi somaklonal dan mutasi. Pemuliaan tanaman dengan mutasi induksi merupakan cara yang efektif untuk meningkatkan keragaman genetik sehingga dapat memperkaya plasma nutfah yang ada dan juga dapat memperbaiki sifat pada varietas [3].

Tanaman memiliki respon yang berbeda terhadap iradiasi sinar gamma. Dosis yang tinggi dapat menyebabkan kematian, sedangkan dosis yang rendah dapat menyebabkan perubahan fenotipe yang bersifat dapat balik. Mutan hasil iradiasi sinar gamma akan menghasilkan keragaman tertinggi di sekitar LD₂₀ dan LD₅₀ [4].

Keberhasilan iradiasi dalam meningkatkan keragaman dalam populasi ditentukan oleh radiosensitivitas genotipe tanaman yang diiradiasi. Radiosensitivitas dapat diukur berdasarkan nilai LD₅₀ (*lethal dose 50*), yaitu tingkat dosis yang menyebabkan kematian 50% dari populasi tanaman yang diiradiasi. Selain LD₅₀, radiosensitivitas juga dapat diamati dari adanya hambatan pertumbuhan atau kematian tanaman, mutasi somatik, patahan kromosom, serta jumlah dan ukuran kromosom [5]. Dosis letal juga dapat ditentukan melalui pengukuran perkecambahan biji, panjang tunas dan panjang akar fase bibit

serta kemampuan berkecambah pada kondisi lapang pada generasi M1 [6].

Analisis kandungan lignin telah dilakukan pada 30 genotipe sorgum yang ditanam di lahan percobaan Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI. Berdasarkan hasil analisis lignin diperoleh 2 genotipe yaitu Konawe Selatan (KS) dan Sorgum Malai Mekar (SMM) yang memiliki lignin lebih tinggi dibandingkan dengan genotipe lain yang diuji. Nilai kandungan lignin tersebut tergolong dalam kriteria cukup tinggi. Oleh karena itu, diperlukan adanya keragaman genetik yang mengarah pada karakter peningkatan biomassa sorgum sehingga lignin yang diperoleh per satuan tanaman menjadi besar. Penelitian ini bertujuan untuk untuk menentukan rentang dosis optimum yang dapat menginduksi keragaman genetik untuk genotipe KS dan SMM.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan alat

Materi genetik yang digunakan adalah biji sorgum koleksi benih perbanyak Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI genotipe Konawe Selatan (KS) dan Sorgum Malai Mekar (SMM). Media tanam berupa pasir dan kompos dengan perbandingan 1:1. Alat yang digunakan antara lain radiator sinar gamma *Gammacell 220* milik Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi (PAIR)-BATAN, bak plastik berukuran 61 cm x 40 cm x 8 cm sebagai tempat penanaman, alat ukur dan alat tulis.

Perlakuan iradiasi

Iradiasi sinar gamma dilakukan pada kedua genotipe tersebut. Benih yang digunakan sebanyak 20 g untuk masing-masing dosis termasuk kontrol yang tidak diiradiasi. Iradiasi menggunakan 10 dosis yaitu 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 dan 1000 Gy. Iradiasi sinar gamma dilakukan di Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi - BATAN, Jakarta. Selanjutnya benih M1 ditumbuhkan di Rumah Kaca Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI, Cibinong. Biji sorgum yang tidak diiradiasi digunakan sebagai kontrol. Penelitian ini dilakukan dalam 3 ulangan per dosis perlakuan termasuk kontrol. Tiap-tiap dosis digunakan 50 biji dan ditanam dalam baris. Penyiraman dilakukan setiap hari menggunakan *hand sprayer* untuk menjaga kelembaban.

Parameter pengamatan dan analisis dilakukan terhadap jumlah tanaman yang hidup dan tinggi tanaman pada dua minggu setelah

tanam (2 MST). Hasil pengamatan dihitung dan dinyatakan dalam persen terhadap kontrol. Penentuan dosis letal 20 (LD_{20}) dan dosis letal 50 (LD_{50}), dilakukan menggunakan perangkat lunak *Curve-Fit Analysis*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Iradiasi sinar gamma memberikan pengaruh nyata pada pertumbuhan benih sorgum genotipe Konawe Selatan (KS) dan Sorgum Malai Mekar (SMM). Pengaruh iradiasi terhadap pertumbuhan benih sorgum tersebut di atas pada dua minggu setelah tanam dapat dilihat pada Gambar 1. Hasil penanaman menunjukkan bahwa genotipe KS yang diiradiasi sampai dengan dosis 1000 Gy masih dapat berkecambah bahkan sampai menghasilkan daun. Hal ini berbeda dengan hasil penanaman genotipe SMM yang menunjukkan bahwa mulai dosis 800 Gy sudah tidak menunjukkan perkecambahan. Persentase benih tumbuh dan persentase rerata pertumbuhan benih pada benih KS dan SMM hasil iradiasi dapat dilihat pada tabel 1. Hasil penanaman benih sorgum yang telah diiradiasi dan masih menunjukkan perkecambahan pada dosis 1000 Gy juga ditunjukkan oleh hasil penelitian Surya dan Soeranto pada tahun 2006 [7].

Perbedaan hasil penanaman benih dari genotipe yang berbeda yang telah diiradiasi dengan sinar gamma juga pernah dilaporkan pada tahun 2008 oleh Herison dkk [5]. Herison melaporkan bahwa secara genetik tingkat radiosensitivitas antar 9 galur jagung uji yang diiradiasi sinar gamma berbeda. Faktor yang mempengaruhi tingkat radiosensitivitas tanaman terhadap iradiasi antara lain faktor fisik dan faktor biologis. Faktor fisik antara lain morfologi bahan tanaman yang mempengaruhi ketahanan fisik sel dalam menerima iradiasi sinar gamma. Faktor biologis seperti halnya faktor genetik dan faktor lingkungan seperti oksigen, kadar air, penyimpanan pasca iradiasi dan suhu dapat mempengaruhi radiosensitivitas tanaman terhadap radiasi. Benih KS dan SMM sebelum iradiasi memiliki nilai kadar air yang rendah yaitu 11% dan kedua benih ini disimpan di tempat dengan kondisi yang sama pasca iradiasi sehingga kemungkinan faktor biologis di atas yang mempengaruhi perbedaan pertumbuhan benih KS dan SMM setelah iradiasi sangat kecil. Faktor biologis yang sangat mungkin adalah faktor genetik yang berbeda dari kedua benih ini.



Gambar 1. Pengaruh iradiasi sinar gamma terhadap pertumbuhan benih sorgum KS dan SMM pada dua minggu setelah tanam

Tabel 1. Persentase benih tumbuh dan persentase rerata pertumbuhan benih pada benih KS dan SMM hasil iradiasi

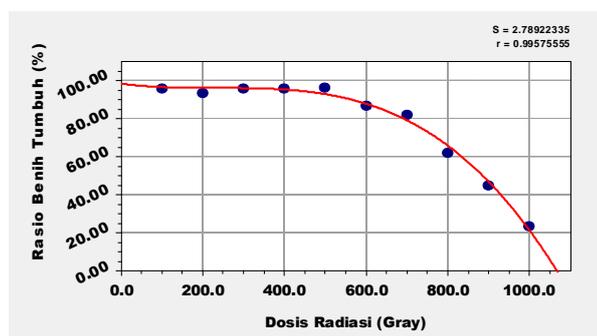
Dosis (Gy)	Genotipe KS				Genotipe SMM			
	$\bar{N}BT$	% BT	$\bar{N}TT$ (cm)	% TT	$\bar{N}BT$	% BT	$\bar{N}TT$ (cm)	% TT
0	48.3	100.0	30.4	100.0	46.0	100.0	35.9	100.0
100	46.3	95.8	28.6	94.2	35.3	76.8	36.4	101.5
200	45.3	93.8	28.8	94.9	33.0	71.7	36.1	100.5
300	46.3	95.8	26.4	86.7	37.0	80.4	32.5	90.4
400	46.3	95.8	22.7	74.6	34.7	75.4	28.0	78.0
500	46.7	96.5	18.4	60.7	39.7	86.2	20.3	56.4
600	42.0	86.9	14.1	46.4	32.0	69.6	11.4	31.8
700	39.7	82.0	8.3	27.3	18.3	39.9	4.1	11.5
800	30.0	62.0	4.9	16.2	1.3	2.9	1.4	3.8
900	21.7	44.8	3.1	10.3	0.0	0.0	0.0	0.0
1000	11.3	23.4	2.0	6.7	0.0	0.0	0.0	0.0

Keterangan:

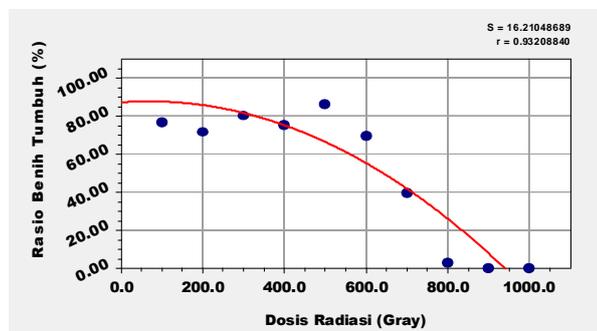
$\bar{N}BT$ = Rerata jumlah benih tumbuh
BT = Persentase benih tumbuh
 $\bar{N}TT$ = Rerata tinggi tanaman
%TT = Persentase tinggi tanaman

Hasil analisis menggunakan perangkat lunak *Curved-fit analysis* untuk menentukan dosis

letal 20 (LD_{20}) dan 50 (LD_{50}) benih KS dan SMM, diperoleh persamaan model terbaik berdasarkan persentase benih hidup dan dosis iradiasi yaitu persamaan polinomial orde tiga. Analisis untuk genotipe KS dengan persamaan $Y = 98,450 - 0,0273X + 0,000115X^2 - 0,000000165 X^3$ (Gambar 2) didapatkan bahwa LD_{20} dan LD_{50} adalah sebesar 692,06 Gy dan 885,23 Gy. Analisis yang sama untuk genotipe SMM dengan persamaan $Y = 87,3895 + 0,0154X - 0,000113X^2 - 0,0000000025X^3$ (Gambar 3) didapatkan nilai LD_{20} dan LD_{50} sebesar 330,99 Gy dan 641,92 Gy.



Gambar 2. Grafik pengaruh iradiasi sinar gamma terhadap persentase benih hidup genotipe KS



Gambar 3. Grafik pengaruh iradiasi sinar gamma terhadap persentase benih hidup genotipe SMM

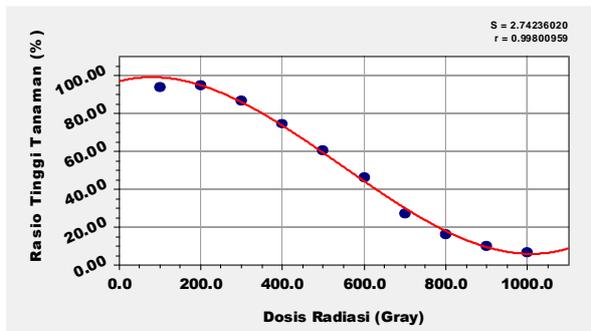
Analisis LD_{20} dan LD_{50} berdasarkan persentase benih yang tumbuh pada kedua genotipe memberikan nilai yang besar dengan rentang dosis yang lebar. Nilai ini terlalu besar terlebih pada genotipe KS dan tidak cukup mewakili fenotipe yang nampak dari penanaman benih tersebut (Gambar 1). Nilai LD_{20} dan LD_{50} yang terlalu besar dengan rentang dosis yang cukup lebar pada iradiasi tanaman sorgum manis pernah dilaporkan oleh Surya dan Soeranto [7]. Surya dan Soeranto menentukan dosis optimum untuk meningkatkan keseragaman genetik pada

beberapa galur sorgum manis tidak berdasar LD_{20} dan LD_{50} tetapi dengan menggunakan pendekatan lain yaitu nilai Dosis Efektif (ED_{50}) yang didasarkan pada persentase keserempakan tumbuh benih dan beberapa parameter tumbuh lain seperti tinggi tanaman dan diameter batang tanaman.

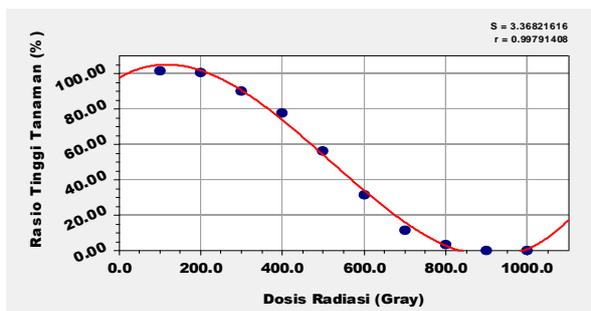
Penentuan dosis optimum untuk meningkatkan keseragaman genetik pada tanaman hasil iradiasi dengan tidak hanya menggunakan dosis letal dilaporkan pula oleh Talebi dan Talebi [8]. Talebi dan Talebi menggunakan parameter persentase tinggi tanaman dan panjang akar untuk menentukan rentang dosis LD_{25} dan LD_{50} dengan perhitungan reduksi pertumbuhan untuk menentukan dosis optimum yang dapat meningkatkan keseragaman genetik. Talebi dan Talebi dalam pembahasannya mengutarakan bahwa persentase jumlah benih yang tumbuh ada kalanya tidak mewakili dalam perhitungan dosis optimum. Iradiasi sinar gamma dalam dosis tinggi pada beberapa jenis dan varietas tanaman masih dapat membuat tanaman tersebut tumbuh. Tanaman yang tumbuh tersebut masuk dalam perhitungan sehingga tidak dapat mewakili perhitungan dosis letal. Peningkatan dosis radiasi sinar gamma akan meningkatkan sensitivitas tanaman. Efek ini menyebabkan pengurangan jumlah hormon pertumbuhan *endogenous* tanaman tersebut sehingga terjadi penurunan pertumbuhan tanaman. Hal ini yang mendasari penentuan dosis optimum dapat menggunakan reduksi pertumbuhan, yang dalam penelitian ini menggunakan reduksi tinggi tanaman dari tanaman yang tumbuh. Hal yang sama juga dilaporkan oleh Talebi dkk, bahwa iradiasi dosis tinggi berpengaruh pada penghambatan pertumbuhan tanaman [6]. Dilaporkan pula dalam penelitiannya bahwa penentuan dosis optimum dapat menggunakan rentang LD_{25} - LD_{50} dengan parameter tinggi tanaman.

Nilai LD_{50} dengan parameter tinggi tanaman memiliki arti bahwa kita dapat menghitung besarnya dosis sinar gamma yang dapat mereduksi sebesar 50% tinggi tanaman dibandingkan tinggi tanaman yang tidak diiradiasi [9]. Hasil analisis untuk menentukan dosis optimum menggunakan rentang nilai LD_{25} dan LD_{50} dengan parameter persentase tinggi tanaman benih KS dan SMM, diperoleh persamaan model terbaik yaitu persamaan polinomial orde tiga. Analisis untuk genotipe KS dengan persamaan $Y = 97,077 + 0,0559X - 0,000379X^2 + 0,000000232X^3$ (Gambar 4) didapatkan bahwa

LD₂₅ dan LD₅₀ adalah sebesar 389.83 Gy dan 561.64 Gy. Analisis yang sama untuk genotipe SMM dengan persamaan $Y = 97,667 + 0,1354X - 0,000659X^2 + 0,000000427X^3$ (Gambar 5) didapatkan nilai LD₂₅ dan LD₅₀ sebesar 393,22 Gy dan 519,78 Gy.



Gambar 4. Grafik pengaruh iradiasi sinar gamma terhadap persentase tinggi tanaman genotipe KS



Gambar 5. Grafik pengaruh iradiasi sinar gamma terhadap persentase tinggi tanaman genotipe SMM

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa reduksi pertumbuhan atau reduksi tinggi tanaman dapat dijadikan parameter untuk perhitungan dosis letal menentukan dosis optimum tanaman hasil radiasi. Hanafiah dkk, dalam penelitiannya menyatakan bahwa dari banyak studi tentang mutasi yang memanfaatkan iradiasi sinar gamma, secara umum mutasi yang mengakibatkan keragaman genetik tinggi adalah pada selang nilai dosis letal LD₅₀ dan dibawah LD₅₀ [10]. Nilai dosis optimum yang didapatkan akan digunakan sebagai acuan untuk mendapatkan keragaman genetik di tanaman M2. Dosis optimum sinar gamma dalam meningkatkan genetik sorgum genotipe KS dan SMM berkisar pada 300-500 Gy.

KESIMPULAN

Iradiasi sinar Gamma pada benih sorgum genotipe KS dan SMM memberikan efek kerusakan fisiologis yang berbeda. Benih sorgum genotipe KS masih dapat tumbuh pada dosis 1000 Gy sedang benih SMM sudah tidak menunjukkan pertumbuhan mulai dosis 800 Gy. Dosis letal dapat dihitung dengan menggunakan parameter jumlah benih yang tumbuh dan tinggi tanaman. Rentang dosis optimum yang didapatkan untuk sorgum genotipe KS dan SMM adalah 300 - 500 Gy.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis tujukan kepada Bapak Prof. Dr. Soeranto Human, M.Sc. yang telah membantu penulis baik materi maupun ilmunya. Terimakasih juga penulis ucapkan kepada yang membantu penulis dalam melakukan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] D.D.S. Santosa, S. Human, "Modified starch of sorghum mutant line Zh-30 for high fiber muffin products," *Atom Indonesia*, vol. 35, no. 1, pp. 1-9, 2009.
- [2] T. Koshiba, N. Yamamoto, Y. Tobimatsu, M. Yamamura, S. Suzuki, T. Hattori, M. Mukai, S. Noda, D. Shibata, M. Sakamoto, T. Umezawa, "MYB-mediated upregulation of lignin biosynthesis in *Oryza sativa* towards biomass refinery," *Plant Biotechnology*, vol. 34, pp. 7-15, 2017.
- [3] L. Mugiono, Harsanti, A. K. Dewi, "Perbaikan padi varietas Cisantana dengan mutasi induksi," *Jurnal Ilmiah Aplikasi Isotop dan Radiasi*, vol. 5, no. 2, 2009.
- [4] S. Human, "Pemanfaatan teknologi nuklir untuk pemuliaan sorgum," *Makalah Workshop on the Current Status and Challenges in Sorghum Development in Indonesia*, SEAMEO BIOTROP, 2012.
- [5] C. Herison, Rustikawati, S. H. Sutjahjo, S. I. Aisyah, "Induksi Mutasi melalui Iradiasi Sinar Gamma terhadap Benih untuk Meningkatkan Keragaman Populasi Dasar Jagung (*Zea mays* L.)," *Jurnal Akta Agrosia* vol. 11, no. 1, pp.57-62, 2008.

-
- [6] A. B. Talebi, A. B. Talebi, B. Shahrokhifar, "Ethyl Methane Sulphonate (EMS) induced Mutagenesis in Malaysian Rice (cv. MR2190) for Lethal dose Determination," *American Journal of Plant Sciences*, vol. 3, pp.1661-1665, 2012.
- [7] M. I. Surya, S. Human, "Pengaruh Iradiasi Sinar Gamma terhadap Pertumbuhan Sorgum Manis (*Sorghum bicolor* L.)," *Risalah Seminar Ilmiah Aplikasi Isotop dan Radiasi*, 2006.
- [8] A. B. Talebi, A. B. Talebi, "Radiosensitivity Study for Identifying the Lethal dose in MR219 (*Oryza sativa* L. Spp. *Indica* cv. MR219)," *International Journal of Agricultural Sciences, Research and Technology*, vol. 2, no. 2, pp.63-67, 2012.
- [9] A. R. Ambavane, S. V. Sawardekar, S. A. Sawantdesai, N. B. Gokhale, "Studies on Mutagenic Effectiveness and Efficiency of Gamma Rays and its Effect on Quantitative Traits in Finger Millet (*Eleusine corocana* L. Gaertn)," *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, vol. 8, pp.120-125, 2015.
- [10] D. S. Hanafiah, Trikoesoemaningtyas, S. Yahya, D. Wirnas, "Agronomic Improvement of Agromulyo Soybean Variety (*Glycine max* L. Merr) through Induced Mutation by Gamma Irradiation in M1 and M2 Generation," *Biosfera*, vol. 27, no. 3, pp.103-111, 2010.