

PENGARUH RADIASI SINAR GAMMA TERHADAP PERTUMBUHAN DAN PERUBAHAN FENOTIPE TUNAS IN VITRO LIDAH BUAYA (*ALOE VERA*)

M. Imelda, L. Sari, A. Wulansari and F. Erlyandari*

Pusat Penelitian Bioteknologi, LIPI
Jl.Raya Bogor Km 46, Cibinong 16911,Bogor

Abstract

Aloe vera (L.) Burm.f. of the Asphodelaceae, which probably originated in North Africa is a very short-stemmed succulent, perennial plant of 80-100 cm in height. Today, it is widely grown in the tropics worldwide. It has long been used as a traditional herbal medicine and as cosmetic materials since thousand of years BC in Egypt, China, Greece, etc. It can be used externally to treat various skin conditions and it was useful for curing diabetics, cancer, HIV, even for stress and drug addicts. The biologically active components found in the juice of aloe leaves are anthraquinones, acemannan, and prostaglandins. Chunks of aloe pulp are popular as beverages in Asia. Aloe has long been propagated by splitting its off-shoots, and this may account for its narrow genetic variations. In this research, genetic variations of A. vera and A. vera var. Chinensis, were induced by gamma irradiation. In vitro shoots of Aloe were irradiated with gamma ray at the dosage of 10-60 Gy, then propagated on Murashige and Skoog (MS) solid medium containing 1 mg/l BAP. The results showed that shootlets of A. vera var. Chinensis were still alive up to 40 Gy but the leaves became stiffer, while A. vera only tolerated irradiation up to 20 Gy. At 50-60 Gy, all cultures died after 2 months. Visual observation on irradiated in vitro shoots showed that new variants appeared at the dosage of 20 Gy, although in very low frequencies. Leaves became half green and half white in A. vera and white-green-white in A. vera var. Chinensis. Confirmation whether those variants were of genetic or morphological origin needs to be further investigated.

* Peneliti magang

Key Words *Aloe vera, A. vera var. Chinensis, radiasi sinar gamma, perubahan morfologi*

1. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Lidah buaya (*Aloe vera (L.) Burm.f.*) dari suku *Aloecaceae*, telah digunakan sebagai obat sejak ribuan tahun sebelum Masehi. Penggunaan lidah buaya sebagai obat tradisional telah lama dilakukan di Mesir, China, Yunani, Spanyol, Saudi Arabia dan di berbagai negara lainnya. Lidah buaya

segar mengandung air, mineral, protein, lemak, karbohidrat, enzim dan vitamin. Gel lidah buaya mengandung acemannan, glukomanan (polisakarida), bradikininase, anti-prostaglandin, anti-inflamatori dan anti bakteri. Pada saat ini sedang diteliti pengaruh antiviral dan imunomodulator lidah buaya untuk mengobati diabetes, herpes, kanker, dan HIV¹⁾. Penggunaan

lidah buaya sebagai obat diabetes secara tradisional telah banyak diterapkan^{2,3}). Bahan aktif yang dikandungnya antara lain adalah *aloin*, *barbaloin*, *isobarbaloin*, *aloenin*, *aloe-emodin*, *aloecin* yang memiliki efek farmakologi sebagai anti radang, anti pencahar, anti diabetes dan lain-lain.

Di Indonesia, lidah buaya umumnya dibudidayakan sebagai tanaman pekarangan atau tanaman hias pot namun di Kalimantan Barat, *A. vera* var. *Chinensis* sudah dibudidayakan secara besar-besaran untuk dijadikan minuman segar, teh, manisan, dodol dan lain-lain. Prospek pengembangan tanaman lidah buaya sangat cerah mengingat tanaman ini telah dimanfaatkan sebagai bahan baku obat di 23 negara dan telah tercantum dalam Daftar Tanaman Obat Prioritas WHO. Permintaan bahan baku lidah buaya untuk industri obat dan kosmetika serta untuk industri makanan dan minuman dalam dan luar negeri masih cukup tinggi dan belum terpenuhi⁴).

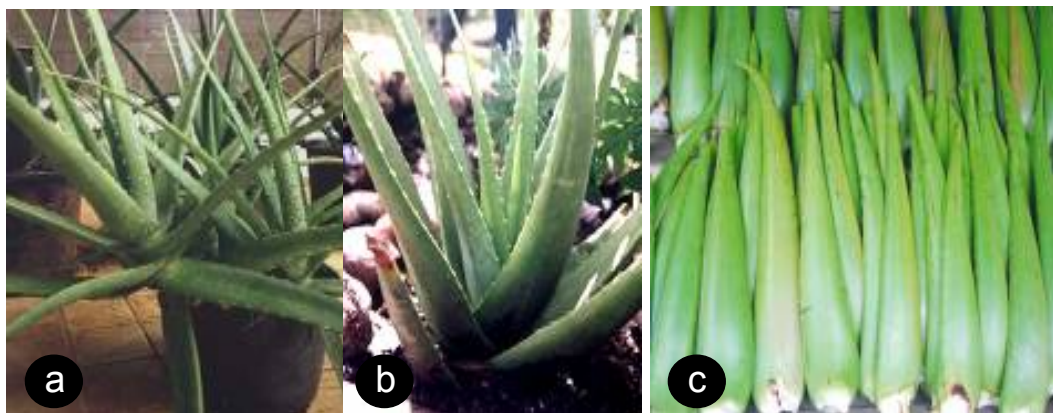
Perbanyakan vegetatif yang dilakukan secara terus-menerus dalam jangka waktu lama pada lidah buaya, mengakibatkan variasi genetiknya menjadi sangat sempit. Pemuliaan lidah buaya hampir tidak pernah dilakukan, sedangkan silangan alami sulit terjadi karena adanya sterilitas bunga jantan. Oleh sebab itu, induksi mutasi merupakan cara alternatif yang memberi

harapan bagi peningkatan mutu tanaman yang biasa diperbanyak secara vegetatif. Dengan cara tersebut, hanya sedikit sifat yang berubah sedangkan sebagian besar sifat lainnya tetap atau tidak berubah. Mutasi dapat dilakukan melalui perlakuan fisik atau kimia untuk perbaikan mutu genetik seperti meningkatkan produktivitas, ketahanan terhadap penyakit tertentu, umur panen yang lebih pendek, toleran terhadap pH tinggi⁵). Sinar gamma, sinar ultra violet ataupun sinar X merupakan mutagen fisik yang sering digunakan bagi peningkatan mutu tanaman⁶).

. Induksi mutasi yang dilakukan dengan sinar gamma dan diperkuat dengan variasi somaklonal yang mungkin muncul dalam proses perbanyakan melalui kultur jaringan, diharapkan dapat meningkatkan efisiensi munculnya keragaman genetik yang sangat minimal pada lidah buaya. Meningkatnya keragaman genetik lidah buaya tersebut sangat mendukung usaha pemuliaan dan konservasinya.

1.2. Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk memperluas keragaman genetik lidah buaya melalui mutagenesis *in vitro* yaitu gabungan antara teknik mutasi dan teknik *in vitro* atau teknik kultur jaringan.



Gambar 1 : Tanaman lidah buaya, a. *Aloe vera*; b. *A. vera* var *Chinensis*; c. Daun *A. vera* var *Chinensis*

2. BAHAN DAN METODE

2.1. Bahan Tanaman

Aloe vera (Gambar 1 a) dan *Aloe vera* var. *Chinensis* (Gambar 1 b) yang berasal dari Rumah Kaca Puslit Bioteknologi, LIPI, Cibinong, merupakan dua kultivar lidah buaya yang akan diteliti pada tahun ini. Tanaman yang tingginya $\pm 5-7$ cm, diambil tunas pucuknya dan digunakan sebagai bahan eksplan.

2.2. Media proliferasi

Untuk proliferasi tunas *in vitro* digunakan media Murashige & Skoog (MS)⁷⁾ yang mengandung gula 30 g/l serta agar Gelrite 2 g/l. Keasamannya diatur sampai mencapai pH 5,8 lalu diautoklaf pada suhu 121°C, tekanan 1 atm selama 15 menit. Setelah dingin dan disimpan 1-2 hari, media yang terkontaminasi dibuang sedangkan yang bersih dapat digunakan.

2.3. Proliferasi tunas *in vitro*

Proliferasi atau multiplikasi tunas *in vitro* dilakukan dengan cara menumbuhkan ujung tunas pada media MS yang mengandung *Benzyl Amino Purine* (BAP) 1 mg/l. Kultur tunas tersebut selanjutnya diinkubasikan dalam ruangan bersuhu 25°C yang diberi pencahayaan dari lampu TL selama 16 jam per hari.

2.4. Radiasi sinar gamma

Tunas *in vitro* 2 kultivar lidah buaya diradiasi dengan sinar gamma dengan dosis 10-60 gy (Tabel 1) bertempat di Badan Tenaga Atom Nasional (BATAN) di Jakarta.

Semua tunas dan kalus yang telah diradiasi langsung disubkultur ke media MS segar dengan komposisi serupa yaitu mengandung 1 mg/l BAP untuk tunas *in vitro*. Subkultur ke media segar dengan komposisi serupa dilakukan dengan interval 4 minggu

sekali. Untuk menginduksi pembentukan akarnya, tunas *in vitro* yang sudah cukup besar disubkultur ke media MS tanpa zat pengatur tumbuh

Tabel 1 : Kombinasi perlakuan dosis dan lama radiasi sinar gamma terhadap tunas *in vitro* dan kalus 2 kultivar lidah buaya

No	Dosis (gy)	Waktu (detik)
1	10	26
2	20	52
3	30	78
4	40	105
5	50	131
6	60	157

2.5. Pengamatan terhadap varian yang muncul

Tunas *in vitro* lidah buaya hasil radiasi setelah disubkultur 2-3 kali, diamati keadaan morfologi dan pertumbuhannya secara visual. Pengamatan dilakukan terhadap bentuk dan warna daun serta pertumbuhan tunasnya.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Proliferasi tunas *in vitro*

Perbanyakkan *in vitro Aloe vera* sudah berhasil dikembangkan^{8, 9, 10)}. Pada media MS yang mengandung 1 mg/l BAP dan 20 mg/l *Adenin*, jumlah rata-rata tunas bisa sampai 39,2 dalam waktu 10 minggu. Demikian pula dengan perbanyakkan *in vitro A. vera* var. *Chinensis*, tunas *in vitro* varietas ini juga dapat diperbanyak pada media MS yang diberi 1 mg/l BAP. Dalam waktu 1 bulan pengandaan tunas bisa mencapai 15 kali lipat. Pengakaran tunas berhasil baik dalam media MS tanpa hormon. BAP memang merupakan hormon sitokinin sintetik yang banyak berhasil dalam menginduksi pengandaan tunas pada banyak tanaman¹¹⁾.

Hashelmabadi dan Kaviani (2008), juga telah berhasil memperbanyak Aloe vera pada media MS yang diberi 0,5 mg/l BAP dan 0,5 mg/l NAA⁹⁾. Demikian pula Kalimuthu et al (2010), yang menggunakan media MS yang diberi 1,5 mg/l BAP dan 50 mg/l AS¹⁰⁾.

Hasil penelitian pada *A.vera* var. *Chinensis* tersebut sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Liao et al (2004) pada varietas yang sama¹²⁾. Tunas yang ditumbuhkan pada media MS setengah padat yang mengandung 2 mg BA, 0,3 mg NAA, 0,6 g PVP dan 30 g/l sukrosa, akan mengganda menjadi 15 kali dalam waktu 4 minggu. Pengakaran spontan terjadi pada media MS $\frac{1}{2}$ konsentrasi, namun presentase pembentukan akar meningkat dengan pemberian 0,2 mg/l NAA. Aklimatisasi planlet dari kondisi *in vitro* di laboratorium ke kondisi *ex vitro* di kamar kaca, tidak mengalami hambatan.

Penggandaan tunas *A. vera* lebih tinggi dibandingkan dengan *A. vera* var. *Chinensis*. Hal tersebut sesuai dengan kemampuan perbanyakannya di alam, lidah buaya kecil anaknya lebih banyak daripada lidah buaya besar.

minggu sekali. Pengamatan yang dilakukan 2 minggu setelah tunas tersebut diradiasi dengan sinar gamma menunjukkan bahwa pada dosis 10-40 gy tunas tumbuh dan berwarna hijau. Namun, pada dosis 50 gy tunas menjadi kuning kecoklatan dan pada dosis 60 gy tunas berubah menjadi kehitaman dan akhirnya mati (Tabel 2, Gambar 3, 4).

Tabel 2 : Pengaruh dosis iradiasi sinar gamma terhadap daya penggandaan dan kualitas tunas *in vitro* lidah buaya

No	Dosis radiasi (gy)	Daya penggandaan tunas		Warna tunas
		A.vera var Chinensis	A.vera	
1	10	3,9	7,4	hijau
2	20	4,1	2,6	hijau
3	30	0,4	-	hijau
4	40	1,6	-	hijau
5	50	-	-	coklat
6	60	-	-	hitam



Gambar 2 : a.Tunas majemuk yang muncul dari pangkal daun Aloe vera; b.Tunas *in vitro* *A. vera* 10 minggu setelah kultur; c. Planlet *A. vera* dalam media pengakaran (MS tanpa ZPT)

3.2. Radiasi sinar gamma

Pengamatan terhadap tunas *in vitro* lidah buaya, baik *A. vera* maupun *A. vera* var. *Chinensis* yang telah diradiasi dengan sinar gamma pada dosis 10-60 gy, dan telah disubkultur ke media MS yang mengandung 1 mg/l BAP, dilakukan dengan interval 2

Pengamatan yang dilakukan 4 bulan setelah radiasi sinar gamma menunjukkan bahwa pada umumnya penyinaran menurunkan daya proliferasi tunas, makin rendah dosis penyinaran proliferasinya makin tinggi (Tabel 2). *A. vera* var. *Chinensis* nampaknya lebih tahan terhadap radiasi dibandingkan dengan *A. vera*, namun daya



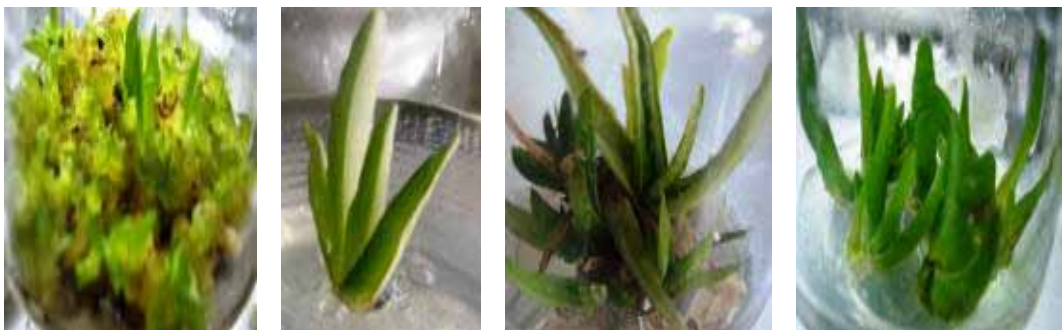
Gambar 3 : Tunas Aloe vera var Chinensis 12 minggu setelah radiasi sinar gamma dengan dosis: a. 10 gy, b. 20 gy, c. 30 gy; d. 40 gy, e. 50 gy dan f. 60 gy



Gambar 4 : Tunas Aloe vera 12 minggu setelah radiasi sinar gamma dengan dosis : a. 10 gy; b. 20 gy; c.30 gy; d. 40 gy; e. 50 gy dan f. 60 gy

multiplikasinya lebih rendah. Tunas A. vera var. Chinensis masih tumbuh sampai dosis 40 gy, namun A. vera hanya tahan sampai dosis 20 gy. Pada dosis 50-60 gy semua tunas menjadi kehitaman dan akhirnya mati (Tabel 2, Gambar 3,4). A. vera hasil radiasi 10 gy menghasilkan tunas yang berwarna hijau (70,9 %), putih kekuningan (17,8 %) dan hitam (11,3 %), namun pada A. vera var. Chinensis tidak ditemukan tunas yang abnormal (berwarna putih).

Pada dosis rendah (10gy) tampak bahwa penggandaan tunas menjadi sangat tinggi, sehingga jumlah tunas/bakal tunasnya sulit dihitung (Gambar 5 a, Tabel 3). Pada dosis 20 gy, ditemukan tunas yang daunnya setengah putih setengah hijau pada A. vera (Gambar 5 b) dan satu per tiga hijau pada A.vera var Chinensis (Gambar 5 c). Pada dosis yang lebih tinggi (40 gy) tampak tunas A.vera var Chinensis menjadi kaku (Gambar 5 d).



Gambar 5 : a. Tunas in vitro A. vera hasil radiasi 10 gy; b. Tunas A. vera berdaun setengah putih hasil radiasi 20 gy; c. A.vera var. Chinensis hasil radiasi 20 gy; d. A.vera var Chinensis hasil radiasi 40 gy

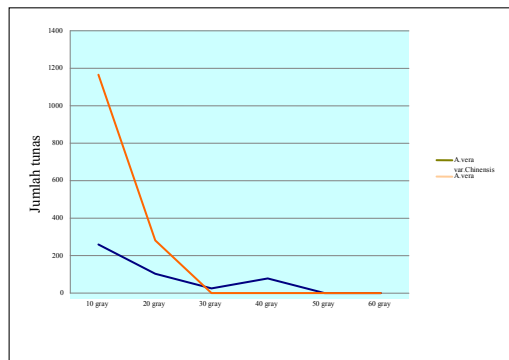
Tabel 3 : Proliferasi tunas *in vitro* A.vera var. Chinensis dan A.vera 9 bulan setelah iradiasi sinar gamma

Dosis radiasi (gy)	Jumlah tunas sebelum radiasi	Jumlah tunas setelah radiasi			
		A.vera var. Chinensis		A.vera	
		Hijau/kuning	hitam	Hijau/kuning	hitam
10	28	258	26	1166	-
20	37	102	2	282	-
30	36	25	-	-	7
40	28	77	-	-	3
50	25	-	-	-	5
60	26	-	-	-	5

Pada umur 9 bulan setelah radiasi sinar gamma, tampak bahwa pada dosis 10 gy tunas *in vitro* A.vera menunjukkan daya multiplikasi yang sangat tinggi, dari 28 tunas menjadi 1166 tunas. Demikian pula pada A.vera var. Chinensis, dari 28 tunas menjadi 258 tunas yang berwarna kuning atau hijau dan 26 tunas berwarna hitam. Semua tunas yang berwarna hitam akhirnya mati. Pada dosis 20 gray, multiplikasi tunas *in vitro* juga masih tinggi, dari 37 tunas menjadi 102 tunas pada A.vera var. Chinensis dan menjadi 282 tunas pada A.vera. Namun, pada dosis radiasi 30-40 gy banyak tunas yang mati walaupun masih ada yang hidup, sedangkan pada dosis 50 dan 60 gy semua tunas mati (Tabel 3, Gambar 6).

Uraian di atas menunjukkan bahwa dosis radiasi sinar gamma yang rendah (10 gy), dapat menstimulasi penggandaan dan pertumbuhan kultur *in vitro* lidah buaya. Selain itu, sinar gamma juga dapat mempengaruhi fenotipe atau morfologi tunas, daun serta kadar klorofil daun.

Dilaporkan oleh Mohan Jain dan Maluszynski (2004)¹³ bahwa kondisi serupa itu, yaitu meningkatnya jumlah tunas *in vitro* pada dosis penyinaran 10 gy, juga dijumpai pada kultur *in vitro* beberapa



Gambar 6 : Pengaruh radiasi sinar gamma terhadap jumlah tunas lidah buaya

tanaman seperti potongan hipokotil pigeon pea, tunas anggrek. Demikian pula pada *Curcuma alismatifolia*¹⁴, radiasi sinar gamma mempengaruhi pertumbuhan meliputi tinggi tanaman, jumlah tunas dan daun serta perubahan morfologi, pembungaan dan klorofil. Pada anggrek *Dendrobium kahaloe* Beauty, radiasi sinar gamma dengan dosis 32,5 gy, merubah tinggi tanaman, panjang tangkai perbungaan, ukuran bunga dan lain-lain¹⁵. Radiasi sinar gamma juga dilaporkan dapat memelihara potensi embriogenesis somatik tanaman kurma selama beberapa tahun tanpa kehilangan potensi regenerasinya¹³.

Keunggulan lain dari mutagenesis *in vitro* adalah mutagen dapat diberikan terhadap sejumlah besar bakal tunas/embriosomatik, penggandaan material tanaman mutan dapat dilakukan dengan cepat, seleksi mutan dapat dilakukan dalam kondisi *in vitro* serta tidak membutuhkan ruangan yang besar¹³.

KESIMPULAN DAN SARAN

4.1. Kesimpulan :

1. Mutagenesis yang diinduksi pada kultur *in vitro* lidah buaya dengan dosis radiasi 10-60 gy menunjukkan bahwa tunas A.vera var. Chinensis tetap hidup sampai dosis 40 gy, tunas

- A.vera hanya tahan sampai dosis 20 gy, sedangkan pada dosis 50-60 gy semua tunas mati.
2. Dosis radiasi sinar gamma yang rendah yaitu 10 gy, ternyata meningkatkan daya multiplikasi tunas *in vitro* A.vera maupun A.vera var.Chinensis.
 3. Dosis radiasi yang lebih tinggi yaitu 20gy, menghasilkan perubahan kadar klorofil dan dosis 40 gy menimbulkan kekakuan daun pada A.vera var. Chinensis.

4.2. Saran

Penelitian ini perlu dilanjutkan dengan pengujian kestabilan genetik mutan menggunakan marka molekuler seperti Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) ataupun Inter Simple Sequence Repeats (ISSR), untuk mengkonfirmasi apakah perubahan morfologi tersebut bersifat genetik.

DAFTAR PUSTAKA

1. Santosa, E. and L.K.Darusman. 2002. Kajian potensi dan pengembagnan produk lidah buaya (*Aloe vera*). Makalah dalam Pertemuan Nasional Pengembangan |Lidah Buaya, Pontianak 21-22 Juni 2002
2. Panggabean, F.I. 2002. Lidah buaya sembuhkan bermacam penyakit berat. Harian Kompas, Juli.
3. Anonim. 2005. Sehat dengan lidah buaya. Suara Karya, 28 Februari 2005
4. Sumarno. 2002. Program Pengembangan lidah buaya di Indonesia. Makalah dalam Pertemuan Nasional Pengembangan Lidah Buaya, Pontianak 21-22 Juni.
5. Marino, G., S.Begheli, A.D.Rombola and L. Cabrini. 2000. In vitro performance at high culture pH and in vitro response to Fe-deficiency of leaf-derived quince BA 29 (*Cydonia oblonga*) somaclones regenerated at variable pH. Hort.Sci. Biotechnol.75 : 33-44
6. Predieri, S. and G. Edoardo. 2004. *In vitro* techniques and physical mutagens for the improvement of fruit crops. In : *In Vitro Application in Crop Improvement*, A. Mujib, Myong-Je Cho, S. Predieri, and S. Banerjee (Eds) , Oxford & IBH Publishing Co. Pvt. Ltd. New Delhi. p.19-34.
7. Murashige T and F Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15: 473-497.
8. Sari L dan M. Imelda, 2004. Pengaruh Benzyl Amino Purine (BAP) dan Adenin Sulfat (AS) terhadap multiplikasi tunas dan jumlah daun *in vitro* lidah buaya (*Aloe vera* (L) Burn.f). *Jurnal Stigma, an Agricultural Science Journal* XII(4): 413-416.
9. Hashelmabadi, D. and B. Kaviani. 2008. *Afr.J.Biotechnol.* 7 (12) : 1899-1902.
10. Kalimuthu, K., S. Vijayakumar, R.Senthilkumar and M.Surehkumar. 2010. Micropropagation of Aloe vera Linn.- a medicinal plant. *Int.J. of Biotechnol. and Biochem.* 6 (3) : 405-410.
11. George, E. F. and P. D. Sherrington. 1984. *Plant propagation by tissue culture*. Exegetics Limited, England, 690pp.
12. Liao, Zhihua; Min Chen, Feng Tan, Xiaofen Sun and Kexuan Tang, 2004. Micropropagation of endangered Chinese aloe. *Plant Cell Tiss.Organ Cult.* 76(1): 83-86.

13. Mohan Jain, S. and M. Maluszynski. 2004. Induced Mutations and Biotechnology in Improving Crops. In : In Vitro Application in Crop Improvement edited by A.Mujib, Myeong-Je Cho, S. Predieri and S. Banerjee. Oxford & IBHPublishing Co.Pvt.Ltd, New Delhi, p. 169-202
14. Abdullah, T.L., J. Endan and B.M.Nazir.2009. Changes in flower development, chlorophyll mutation and alteration in plant morphology of *Curcuma alismatifolia* by gamma irradiation. *Am.J.Applied Sci.*6(7): 1436-1439
15. Rahayu , S. (1985). The effect of gamma irradiation on *Dendrobium kohaloea Beauty*. Proceedings of Seminar on the Application of Nuclear Techniques in Agriculture , 9-10 July 1985 , Jakarta , Indonesia. p175-183. Published by PAIR BATAN (in Indonesian).