

**MORFOGENETIK BENIH JABON MERAH
(*Neolamarckia macrophylla* (Wall.) Bosser)
PROVENAN LUWU
HASIL UJI INDUKSI MUTAGEN SINAR GAMMA
UNTUK MENDUKUNG PEMULIAAN POHON**

*MORPHOGENETIC OF GAMMA-INDUCED MUTAGENIC
SEEDS OF JABON MERAH
(*Neolamarckia macrophylla* (Wall.) Bosser)
FROM LUWU PROVENANCE
TO SUPPORT TREE BREEDING*

Disusun dan Diajukan Oleh

NUR QALBI

M 012172008



**PROGRAM STUDI PASCASARJANA ILMU KEHUTANAN
FAKULTAS KEHUTANAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021**

**MORFOGENETIK BENIH JABON MERAH
(*Neolamarckia macrophylla* (Wall.) Bosser)
PROVENAN LUWU
HASIL UJI INDUKSI MUTAGEN SINAR GAMMA
UNTUK MENDUKUNG PEMULIAAN POHON**

Tesis

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Magister

Program Studi

Ilmu Kehutanan

Disusun dan diajukan oleh

NUR QALBI

Kepada

**PROGRAM STUDI PASCASARJANA ILMU KEHUTANAN
FAKULTAS KEHUTANAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021**

TESIS

**MORFOGENETIK BENIH JABON MERAH
(*Neolamarckia macrophylla* (Wall.) Bosser)
PROVENAN LUWU
HASIL UJI INDUKSI MUTAGEN SINAR GAMMA
UNTUK MENDUKUNG PEMULIAAN POHON**

Disusun dan diajukan oleh

NUR QALBI

NOMOR POKOK M012172008

Telah dipertahankan di hadapan panitia ujian yang dibentuk dalam rangka penyelesaian studi Program Magister Program Studi Ilmu Kehutanan Fakultas Kehutanan Universitas Hasanuddin pada tanggal 29 Januari 2021 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Pembimbing utama,

Pembimbing pendamping,



Prof. Dr. Ir. Muh Restu, MP
Nip. 19650904 199203 1 003

Dr. Siti Halimah Larekeng, SP, MP
Nip. 19820209 201504 2 002

**Ketua Program Studi S2
Ilmu Kehutanan,**

**Dekan Fakultas Kehutanan
Universitas Hasanuddin,**



Prof. Dr. Muh Dassir, M.Si
Nip. 19671005 199103 1 006

Dr. A. Mujetahid M, S.Hut, MP
Nip. 19690208 199702 1 002

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Nur Qalbi
Nomor mahasiswa : M 012172008
Program studi : Ilmu Kehutanan
Jenjang : S2

Menyatakan dengan ini bahwa tesis dengan judul Morfogenetik Benih Jabon Merah (*Neolamarckia macrophylla* (Wall.) Bosser) Provenan Luwu Hasil Uji Induksi Mutagen Sinar Gamma untuk Mendukung Pemuliaan Pohon adalah karya saya sendiri dan tidak melanggar hak cipta pihak lain. Apabila dikemudian hari tesis karya saya ini terbukti bahwa sebagian atau keseluruhannya adalah hasil karya orang lain yang saya gunakan dengan cara melanggar hak cipta pihak lain, maka saya bersedia menerima sanksi.

Makassar, Februari 2021

Yang Menyatakan,


Nur Qalbi

PRAKATA

Segala puji hanya bagi ALLAH SWT yang telah memberikan petunjuk, rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan tesis ini. Shalawat serta salam semoga tercurah kepada Rasulullah Muhammad SAW.

Penelitian ini dilatarbelakangi oleh studi literatur yang dilakukan oleh penulis dan menemukan bahwa jabon merah sebagai salah satu jenis komersil memiliki keragaman genetik pada level moderat. Peningkatan kualitas secara genetik dapat dilakukan dengan induksi mutagen untuk menstimulus terjadinya mutasi. Hal ini telah dilakukan pada beberapa tanaman pertanian dan kehutanan dan dapat meningkatkan hasil dan kualitas hasil dari jenis yang bersangkutan. Hasil dari penelitian ini harapannya dapat menjadi dasar untuk kegiatan pengembangan selanjutnya, khususnya pada jabon merah ke arah pemuliaan. Sebagai tindak lanjut dari penelitian ini, diperlukan penelitian lanjutan untuk menghasilkan jabon merah yang berkualitas dalam pemenuhan kebutuhan kayu dalam jangka panjang.

Dengan penuh kerendahan hati, penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah memberikan bantuan dan dukungan sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan tesis ini:

1. Komisi pembimbing Prof. Dr.Ir. Muh.Restu, MP dan Dr. Siti Halimah Larekeng, MP yang telah memberikan bimbingan dan arahan dalam melaksanakan penelitian dan penulisan tesis.
2. Komisi penguji Prof. Dr. Ir. Samuel A Paembonan, Syahidah, S.Hut, M.Si, Ph.D, Dr. Astuti, S.Hut, M.Si atas semua masukan yang telah diberikan kepada penulis dalam kesempurnaan penulisan tesis ini.
3. *Stakeholder* Laboratorium Pengujian Benih dan Laboratorium Kultur Jaringan BPTH Wil.II, Laboratorium Bioteknologi Universitas Hasanuddin dan Bidang Proses Radiasi Badan Tenaga Nuklir Nasional Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi (BATAN PAIR) atas bantuannya dalam pelaksanaan penelitian ini.
4. *Stakeholder* akademik Universitas Hasanuddin atas bantuannya dalam kelengkapan administrasi selama perkuliahan hingga pelaksanaan seminar dan ujian.

Akhir kata penulis berharap penelitian dan tesis ini dapat berguna bagi pengembangan kehutanan di Indonesia.

Makassar, Februari 2021

Nur Qalbi

ABSTRAK

NUR QALBI. *Morfogenetik Benih Jabon Merah (Neolamarckia macrophylla (Wall.)Bossler) Provenan Luwu Hasil Induksi Mutagen Sinar Gamma untuk Mendukung Pemuliaan Pohon* (dibimbing oleh Muh. Restu dan Siti Halimah Larekeng).

Jabon merah (*Neolamarckia macrophylla (Wall.)Bossler*) sebagai salah satu jenis potensial dalam pemenuhan kebutuhan kayu memiliki keragaman genetik pada level moderat. Induksi mutasi sinar gamma yang telah memberikan hasil yang positif pada beberapa jenis tanaman pertanian dan tanaman kehutanan perlu diujikan pada jabon merah untuk mendukung pemuliaan jenis yang bersangkutan. Penelitian ini bertujuan untuk: 1) menduga radiosensivitas (LD_{50}); 2) menganalisis karakter morfologi dan genetik serta 3) menganalisis stabilitas gen pada eksplan dari benih jabon merah terinduksi sinar gamma.

Penelitian dilaksanakan selama 13 bulan pada beberapa tempat penelitian. Pengunduhan buah jabon merah di Sumber Benih jabon merah Padang Sappa, Kab.Luwu, induksi mutasi di BATAN PAIR, ekstraksi hingga subkultur di Laboratorium Pengujian Benih dan Laboratorium Kultur Jaringan BPTH Wilayah II, serta pengujian genetika di Laboratorium Bioteknologi Fakultas Kehutanan, Universitas Hasanuddin. Penelitian ini dimulai dengan produksi benih jabon merah dari Sumber Benih pada kelas Tegakan Benih Teridentifikasi yang selanjutnya diinduksi dengan mutagen sinar gamma pada dosis 0 gray, 5 gray, 10 gray, 15 gray, 30 gray, 45 gray, 60 gray, 75 gray, 90 gray, 120 gray dan 240 gray. Benih terinduksi selanjutnya dibiakkan secara *in vitro* dengan inisiasi pada media MS0 dan subkultur berulang hingga subkultur 5 pada media MS0. Pada penelitian ini dilakukan penentuan nilai LD_{50} dengan *curve fit analysis*, analisis morfologi eksplan dengan SPSS, analisis genetika eksplan dengan penanda RAPD dan SSR/Mikrosatelit.

Hasil penelitian dan analisis data diperoleh luaran nilai LD_{50} sebesar 132 Gray dengan parameter jumlah eksplan hidup setelah pemindahan dari media inisiasi. Nilai jarak *euclidean* terbesar yang diperoleh pada subkultur 1 hingga subkultur 5 berkisar antara 3,521 – 10,873 dengan dosis yang berbeda pada setiap subkultur. Hasil uji F pada subkultur 2 hingga subkultur 5 secara umum menunjukkan adanya pengaruh yang signifikan pemberian induksi mutasi pada benih jabon merah terhadap tinggi dan jumlah daun eksplan. Hasil analisis DNA dengan 9 primer marka SSR/Mikrosatelit dan RAPD menunjukkan pada sebagian besar dosis induksi yang diberikan menghasilkan jumlah fragmen yang lebih banyak dibanding kontrol. Dari hasil uji secara genetik, eksplan yang disubkultur hingga subkultur 5 relatif stabil, sehingga eksplan relatif aman untuk disubkultur (perbanyak) sampai subkultur 5.

ABSTRACT

NUR QALBI. *Morphogenetic of Gamma-Induced Mutagenic Seeds of Jabon Merah (Neolamarckia macrophylla (Wall.) Bosser) from Luwu Provenance to Support Tree Breeding* (Under the supervision of Muh. Restu and Siti Halimah Larekeng).

Jabon merah (*Neolamarckia macrophylla (Wall.) Bosser*), is one of the potential tree species for meeting needs on wood since it provides genetic diversity at a moderate level. Gamma-induced mutagenic procedures has been demonstrating positive trends in agricultural crops and forest trees, thus it would be necessary to set a trial to support tree breeding of jabon merah. This study aims: 1) to estimate radio-sensitivity (LD50); 2) to analyze morphologic and genetic properties, and 3) to analyze gene stability of the explant of gamma-induced mutagenic seeds of jabon merah

The 13-months experiment took several places to perform, namely Jabon Merah seed center of Padang Sappa of Luwu regency (seed collection), the Center for Application of Technology of Isotope and Radiation of the National Nuclear Energy Agency/BATAN-PAIR (gamma-induction of seeds), the Seed Testing Laboratory and the Tissue Culture Laboratory of the BPTH Region II (extraction and subculture preparation), and the Biotechnology Laboratory of Forestry Faculty of Hasanuddin University (genetic testing). The research began with the selection of the identified seeds of jabon merah obtained from the seed center. The collected seeds were gamma-induced at doses of 0 gray, 5 gray, 10 gray, 15 gray, 30 gray, 45 gray, 60 gray, 75 gray, 90 gray, 120 gray and 240 gray. The induced seeds were then cultured *in vitro*. The subculture was started with an initialization on MS0 medium and repeatedly cultured up to subculture 5. Finally, the LD50 value was determined using curve fit analysis, explant morphological analysis with SPSS, genetic analysis of explants using RAPD markers and SSR/Microsatellite.

The analysis presented LD₅₀ value was 132 gray with the live explants number after subculturing from initiation media. The largest *euclidean* distance obtained in subculture 1 to subculture 5 ranged from 3,521 to 10,873 with different doses in each subculture. In general, the F test output in subculture 2 to 5 indicated a significant effect of gamma-induction on the height and number of leaves of the explants. The DNA analysis with 9 SSR/Microsatellite and RAPD marker primers showed that most of the induction doses produced more fragments than the control. Genetic testing visualized the explants that are subcultured up to subculture 5 are relatively stable, so that the explants are relatively safe for subculture (multiplication) to subculture 5.

DAFTAR ISI

	halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGAJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN TESIS	iv
PRAKATA	v
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB I PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	5
C. Tujuan	5
D. Manfaat Penelitian	6
E. Ruang Lingkup Penelitian	6

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Deskripsi dan Potensi Jabon Merah	7
B. Keragaman Genetik	9
C. Mutagen Iradiasi Sinar Gamma	11
D. Analisis Karakter Morfologi pada Tanaman	18
E. Penanda Genetik SSR/Mikrosatelit dan RAPD	19
F. Kerangka Pemikiran	23

BAB III METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat	26
B. Bahan dan Alat	28
a. Produksi biji jabon merah provenan Luwu	28
b. Induksi sinar gamma dan pembiakan <i>invitro</i>	29
c. Analisis morfologi dan analisis DNA	30
d. Data penelitian	32
C. Prosedur Penelitian	33
a. Penyiapan bahan tanaman	35
b. Analisis <i>lethal dose 50</i>	36
c. Analisis morfologi eksplan	38
d. Analisis genetik eksplan	39

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Kondisi Umum Kultur Jaringan Jabon Merah	46
B. Penentuan Dosis Optimum dengan Nilai LD ₅₀	50
a. Persentase eksplan hidup	50

b. Penentuan nilai LD ₅₀ dengan <i>curve fit analysis</i>	57
C. Analisis Morfologi Eksplan Terinduksi	60
a. Dinamika perubahan morfologi eksplan	61
b. Analisis <i>cluster</i> hasil pengamatan morfologi	76
c. Analisis ragam hasil pengamatan morfologi	89
D. Analisis Genetik Eksplan Terinduksi	98
a. Pendugaan keberhasilan mutasi	98
b. Stabilitas genetik eksplan	105
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	
A. Kesimpulan	109
B. Saran	110
DAFTAR PUSTAKA	111

DAFTAR TABEL

nomor	halaman
1. Alat dan bahan produksi benih jabon merah	28
2. Alat dan bahan pembiakan secara <i>invitro</i>	29
3. Alat dan bahan analisis DNA	30
4. Lama waktu penyinaran sinar gamma untuk setiap dosis	36
5. Komposisi bahan untuk reaksi PCR SSR/Mikrosatelit	41
6. Komposisi bahan untuk reaksi PCR RAPD	41
7. Primer yang digunakan untuk analisis DNA	42
8. Tahapan proses PCR	42
9. Suhu <i>annealing</i> yang digunakan pada masing-masing primer	43
10. Kondisi eksplan setelah pemindahan ke media MS0 baru	49
11. Persentase eksplan hidup dan mencoklat	51
12. Rekapitulasi hasil uji ANOVA pengaruh dosis radiasi sinar gamma terhadap respon pertumbuhan eksplan	90
13. Rekapitulasi hasil uji lanjut Duncan pengaruh dosis radiasi sinar gamma terhadap tinggi dan jumlah daun	93
14. Rekapitulasi jumlah fragmen yang dihasilkan di subkultur 1	103
15. Rekapitulasi jumlah fragmen yang dihasilkan di subkultur 5	103
16. Rekapitulasi fragmen stabil yang dihasilkan	107

DAFTAR GAMBAR

nomor	halaman
1. Kerangka pikir penelitian	25
2. Bagan prosedur penelitian	33
3. Bagan prosedur analisis DNA	34
4. Persentase eksplan hidup	52
5. Persentase eksplan mencoklat	53
6. Persentase eksplan mati	53
7. Kurva terbaik dari <i>curve fit analisis</i>	58
8. Rata - rata tinggi eksplan jabon merah pada subkultur 1	62
9. Rata - rata jumlah daun eksplan jabon merah subkultur 1	63
10. Rata - rata tinggi eksplan jabon merah pada subkultur 2	65
11. Rata - rata jumlah daun eksplan jabon merah subkultur 2	65
12. Rata - rata tinggi eksplan jabon merah pada subkultur 3	67
13. Rata - rata jumlah daun eksplan jabon merah subkultur 3	68
14. Rata - rata tinggi eksplan jabon merah pada subkultur 4	69
15. Rata - rata jumlah daun eksplan jabon merah subkultur 4	69
16. Rata - rata tinggi eksplan jabon merah pada subkultur 5	71
17. Rata - rata jumlah daun eksplan jabon merah subkultur 5	72
18. Dendogram hasil analisis hirarki pada subkultur 1	78
19. Dendogram hasil analisis hirarki pada subkultur 2	80
20. Dendogram hasil analisis hirarki pada subkultur 3	82

21.	Dendogram hasil analisis hirarki pada subkultur 4	84
22.	Dendogram hasil analisis hirarki pada subkultur 5	86
23.	Visualisasi fragmen DNA dengan primer SSR	99
24.	Visualisasi fragmen DNA dengan primer RAPD	101

DAFTAR LAMPIRAN

nomor		halaman
1.	Informasi lokasi pengambilan sampel benih jabon merah	120
2.	Jarak <i>euclidean</i> rata - rata hasil analisis hirarki	122
3.	Output detail analisis ragam dengan SPSS 16	127
4.	Dokumentasi penelitian	141

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Pemuliaan mutasi sebagai alternatif perbaikan mutu genetik tanaman dapat menjadi sumber keragaman genetik yang luas. Menurut Zanzibar dan Sudrajat (2015), pemuliaan mutasi sangat potensial terutama dalam membangkitkan keragaman baru yang meningkatkan heterozigisitas atau untuk mendapatkan tanaman dengan karakter-karakter yang lebih adaptif terhadap perubahan lingkungan dengan tingkat produktivitas yang tinggi. Iradiasi sinar gamma sebagai bentuk mutasi induksi telah banyak diujicobakan pada jenis tanaman pertanian dan kehutanan. Induksi sinar gamma dengan dosis tertentu pada tanaman pertanian seperti padi gogo (*Oryza sativa*.L) (Meliala, 2016); tanaman mata lele (*Lemna mirir*.L) (Ivanishvili *et al*, 2016); cabai merah (*Capsicum annum* L) (Handayani, 2017); tanaman kelor (*Moringa oleifera*) (Ramabulana, 2017); tanaman fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L) (Hanafi dan Akladious, 2018) serta pada tanaman kehutanan seperti suren (*Toona sureni*) (Zanzibar dan Witjaksono, 2011); bambang Lanang (*Michelia camphaca*) (Zanzibar dan Sudrajat, 2016); tembesu (*Fagraea fragrans*) (Zanzibar *et al.*, 2015); sengon (*Falcataria moluccana*) (Bramasto, 2016) dan pada jati (*Tectona grandis*) (A.Parlaongan, 2017)

telah memberikan hasil yang positif pada produktivitas jenis yang bersangkutan.

Jabon merah (*Neolamarckia macrophylla* (Wall.) Bosser) sebagai salah satu jenis penghasil kayu potensial memiliki sebaran alami yang cukup terbatas. Penyebaran alami jabon merah meliputi wilayah Indonesia bagian Tengah - Timur antara lain di wilayah Sulawesi, Maluku, Maluku Utara dan Papua (Setyaji *et.al.*, 2014). Dengan potensi pengembangan yang besar dan wilayah penyebaran yang terbatas, terdapat kemungkinan resiko penurunan variasi genetik yang kemudian dapat berpengaruh besar terhadap kelestarian jenis tersebut. Frankham (2005) mengemukakan bahwa hilangnya variasi genetik dan terjadinya *inbreeding* (persilangan dalam kerabat) berkontribusi besar terhadap resiko kepunahan. Jenis dengan keragaman genetik yang rendah berdampak pada berkurangnya kemampuan bertahan jenis tersebut terhadap perubahan lingkungan selama evolusi serta menyebabkan peningkatan kerentanan terhadap serangan penyakit, hama, parasit dan gulma (Frankham, 1995).

Beberapa penelitian terkait variasi genetik jabon merah telah dilakukan. Larekeng *et al.* (2018) menemukan bahwa keragaman genetik jabon merah provenan Sulawesi berada pada level moderat sehingga diperlukan kombinasi konservasi genetik secara *in situ* dan *ex situ*. Rinaldi (2018) menemukan bahwa nilai koefisien variasi genetik pada jabon merah asal Sulawesi dan Maluku di hutan penelitian Parung Panjang Bogor untuk karakter tinggi adalah 8,8% (sedang) dan untuk karakter

diameter 3,53% (rendah) yang menunjukkan bahwa secara genetik karakter tinggi masih terdapat keragaman yang moderat, sementara karakter diameter memiliki keragaman yang rendah atau cenderung seragam. Dari penelitian tersebut diperoleh informasi bahwa variasi genetik jabon merah provenan Sulawesi masih tergolong dalam kategori rendah hingga sedang.

Alternatif perbaikan genetik pada jabon merah adalah induksi mutagen sinar gamma dengan dosis tertentu. Penentuan dosis radiasi yang tepat dalam meningkatkan variasi genetik sangat ditentukan oleh radiosensivitas tanaman yang diukur dengan LD₅₀. Variasi gen yang baru terbentuk dari hasil mutasi sinar gamma dapat diukur dengan marka morfologi dan marka molekuler. Marka morfologi dapat dijadikan parameter pengamatan yang cepat dan mudah (Sari *et al.*, 2017) tetapi ekspresi karakter ini dipengaruhi oleh faktor lingkungan (Zulfahmi, 2013) sehingga relatif tidak stabil. Oleh karenanya, perlu didukung dengan pendekatan marka molekuler. Pendekatan marka molekuler memiliki kemampuan yang sangat tinggi dalam menangkap keragaman karakter antar individu (Azrai, 2005). Penanda yang dapat digunakan adalah penanda RAPD yang umum digunakan dalam penelitian terkait variasi genetik serta penanda mikrosatelit yang dapat menunjukkan *polymorphic* dan variabilitas alel yang lebih tinggi dan telah diujicobakan pada jabon merah (Restu *et al.*, 2016 ; Wuryaningsih, 2017).

Pembiakan dengan teknik *in vitro* pada jabon merah saat ini menjadi alternatif penyediaan bibit dalam jumlah banyak dan relatif lebih cepat. Penelitian pembiakan *in vitro* jabon merah juga telah dilakukan oleh Djumat (2014) dan Putriana *et al.* (2017) terkait pemberian hormon yang tepat selama periode *in vitro*. Hal tersebut berpotensi dalam mendukung penyediaan bibit yang berkualitas, dalam jumlah banyak dan dapat diproduksi sepanjang tahun. Hal yang harus tetap dijaga dalam pembiakan secara *in vitro* utamanya dalam perlakuan subkultur berulang adalah *true to type* atau sifat yang persis sama dengan induknya.

Penelitian ini mencakup stabilitas pewarisan karakter individu tanaman jabon merah yang telah terinduksi sinar gamma yang dianalisis pada eksplan yang ditumbuhkan secara *in vitro* hingga subkultur 5. Periode subkultur pada pembiakan tanaman secara *in vitro* dapat menyebabkan terjadinya perubahan genetik (Kristina dan Bermawie, 1999) sehingga dapat digunakan sebagai parameter dalam menguji kestabilan genetik. Data hasil analisis pewarisan karakter meliputi kondisi morfologi dan genetik eksplan jabon merah hingga subkultur 5 dapat digunakan sebagai dasar dalam penelitian selanjutnya dan pemuliaan tanaman jabon merah.

B. Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah:

1. Berapa dosis optimal radiasi sinar gamma berdasarkan nilai LD_{50} ?
2. Bagaimana karakter morfologi dan genetik yang dimiliki eksplan dari benih jabon merah terinduksi sinar gamma pada periode subkultur 1 hingga subkultur 5?
3. Apakah variasi genetik yang terbentuk pada eksplan dari benih jabon merah terinduksi sinar gamma bersifat stabil hingga subkultur 5?

C. Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Menduga radiosensivitas (LD_{50}) pada benih jabon merah hasil mutasi sinar gamma.
2. Menganalisis karakter morfologi dan genetik yang dimiliki eksplan dari benih jabon merah terinduksi sinar gamma pada periode subkultur 1 hingga subkultur 5.
3. Menganalisis stabilitas gen pada eksplan dari benih jabon merah terinduksi sinar gamma hingga subkultur 5.

D. Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan dari hasil penelitian ini adalah memberikan informasi tentang radiosensivitas (LD_{50}), variasi genetik dan stabilitas gen dari mutasi sinar gamma pada benih jabon merah.

E. Ruang Lingkup Penelitian

Ruang lingkup dari penelitian ini adalah:

1. Penentuan dosis optimal pemberian radiasi sinar gamma pada benih jabon merah Provenan Luwu berdasarkan radiosensivitas tanaman dengan pendekatan nilai LD_{50} .
2. Pengukuran karakter morfologi, variasi genetik dan stabilitas gen yang terbentuk pada eksplan dari benih jabon merah terinduksi sinar gamma.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Deskripsi dan Potensi Jabon Merah

Jabon merah (*Neolamarckian macrophylla* (Wall.) Bosser) memiliki sebaran alami di Maluku, sebagian Sulawesi dan Papua. Klasifikasi jabon merah menurut Mulyana *et al.* (2012):

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobonita (tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi	: Spermatophyta (menghasilkan biji)
Divisi	: Magnoliophyta (tumbuhan berbunga)
Kelas	: Dicotyledone (berkeping dua)
Sub Kelas	: Asteridae
Ordo	: Rubiales
Famili	: Rubiaceae
Genus	: Anthocephalus
Spesies	: <i>Neolamarckian macrophylla</i> (Wall.) Bosser.

Jabon merah merupakan salah satu jenis pohon yang memiliki kemampuan *self pruning* yang tinggi. Tinggi jabon merah dapat mencapai 40 – 45 meter dengan tinggi bebas cabang 30 meter (Mulyana *et al.*, 2012). Jabon merah berbuah setahun sekali pada musim berbunga

yakni pada bulan Januari - Juni (Mulyana *et al.*, 2012) dan umumnya buah jabon merah masak pada bulan Maret - April (Setyaji *et al.*, 2014).

Kayu jabon merah memiliki serat yang sangat panjang (2 108,07 μm), tebal dinding serat sangat tipis (4,63 μm), serat tergolong kualitas II untuk bahan baku *pulp* dan kertas. Sifat kimia dari jabon merah memiliki kadar selulosa yang tinggi (52,47%), kandungan pentosan rendah (15,23%), kandungan lignin sedang (26,81%) dan kandungan ekstraktif tinggi (6,12%). Kayu jabon merah memiliki berat jenis sedang (0,48), penyusutan sangat rendah dan tergolong dalam kayu kelas kuat III (Lempang, 2014).

Jabon merah tergolong dalam kelompok *fast growing species* yang potensial digunakan untuk pengembangan hutan tanaman. Jenis ini memiliki batang kayu yang lurus dan silindris, kemampuan pemangkasan alami yang tinggi serta dapat tumbuh pada di lahan terbuka/kritis. Jabon merah banyak digunakan sebagai bahan baku kayu lapis, bahan untuk pembuatan papan buah, peti dan sumpit serta limbah hasil pengolahan kayu jabon digunakan sebagai bahan baku dalam pembuatan papan partikel atau bubur kertas (Mulyana *et al.*, 2012). Lempang (2014) mengemukakan bahwa jabon merah memiliki serat yang panjang dan tebal, kandungan selulosa dan holoselulosa yang tinggi (selulosa= 52,47% dan holoselulosa= 67,70%) sehingga cocok digunakan sebagai bahan baku *pulp*.

Kayu jabon merah memiliki kerapatan sedang dengan dimensi sedang dan stabil, berat jenis kayu jabon merah 0,48 dan tergolong kayu kelas kuat III sehingga dapat digunakan sebagai kayu pertukangan dan papan lamina (Halawane *et al.*, 2011; Lempang, 2014). Yanti (2015) dalam penelitiannya menyimpulkan bahwa pada bibit jabon merah terdapat struktur tikoma pada epidermis dan resistensi nekrotik sehingga tahan terhadap serangan bakteri *B.theobromae* yang menyebabkan mati pucuk pada bibit. Mulyana *et al.* (2012) menyebutkan bahwa jumlah kebutuhan kayu jabon dari 22 perusahaan kayu lapis di Jawa Tengah mencapai 114 000 m³/bulan. Harga kayu jabon di seluruh wilayah di Indonesia berkisar antara Rp. 670 000,- – Rp. 750 000,- /m³.

B. Keragaman Genetik

Keragaman genetik merupakan konsep mengenai derajat keanekaragaman gen dalam satu spesies yang diukur dari variasi genetik (unit-unit kimia atau sifat-sifat warisan yang diturunkan dari suatu generasi ke generasi lainnya) yang terkandung dalam gen-gen individu organisme dari suatu jenis, sub jenis, varietas atau keturunan. Keragaman genetik dalam populasi satu jenis organisme dapat didefinisikan bahwa dalam populasi yang bersangkutan, tidak ada suatu individu yang penampilannya persis sama dengan individu lainnya yang berarti bahwa tiap sifat yang diamati memiliki kisaran bentuk, ukuran dan warna yang terekspresikan dari struktur DNA atau genotipe yang dimiliki oleh individu dalam populasi

tersebut. Keragaman genetik sangat penting bagi tanaman untuk beradaptasi terhadap perubahan lingkungan yang terjadi disekitarnya (Lande dan Shannom, 1996). Informasi keragaman genetik tanaman pada tingkat individu, spesies maupun populasi perlu diketahui, sebagai dasar pertimbangan dalam menyusun strategi konservasi, pemuliaan, pengelolaan dan pemanfaatan sumberdaya genetik tanaman secara berkelanjutan.

Penilaian keragaman genetik tanaman dapat dilakukan dengan penanda morfologi, biokimia dan molekuler DNA. Penilaian keragaman genetik tanaman secara morfologi dilakukan melalui uji progeni, uji provenan dan pengujian lainnya dengan mengamati penampilan fenotipik tanaman. Penentuan keragaman genetik tanaman secara konvensional ini membutuhkan waktu yang lama, relatif mahal, dipengaruhi oleh lingkungan dan keragaman yang diperoleh terbatas dan tidak konsisten. Penanda molekuler didefinisikan sebagai segmen DNA tertentu yang mewakili perbedaan pada tingkat genom. Penanda molekuler ini memiliki keuntungan dibandingkan dengan penanda morfologi, yaitu stabil dan dapat dideteksi dalam semua jaringan tanaman, serta tidak dipengaruhi oleh lingkungan (Zulfahmi, 2013).

C. Mutagen Iradiasi Sinar Gamma

a. Mutasi pada tanaman

Mutasi pada tanaman merupakan perubahan genetik yang terjadi dalam tanaman baik berupa mutasi gen, mutasi genom ataupun mutasi kromosom (Welsh, 1991):

1. Mutasi pada gen tanaman dapat terjadi dua arah yaitu dari gen dominan ke gen resesif atau gen resesif ke gen dominan. Apabila mutasi terjadi pada gen dominan heterozigot menjadi resesif homozigot, perubahannya dapat langsung diketahui. Namun bila terjadi mutasi dominan homozigot menjadi gen dominan heterozigot, perubahannya biasanya baru terlihat pada keturunannya.
2. Mutasi genom merupakan mutasi yang menyebabkan perubahan pada banyak gen sehingga berkaitan dengan sifat kuantitatif. Karena terjadi pada banyak gen, mutasi ini menimbulkan keragaman yang tinggi yang mengakibatkan terjadinya keragaman pada populasi. Adanya peningkatan keragaman dalam populasi dapat bernilai positif atau negatif.
3. Mutasi kromosom menunjukkan adanya perubahan pada benang kromosom yang berupa:

- 1) *Translocation* adalah mutasi yang terjadi pada kromosom sehingga terdapat bagian (segmen) kromosom pindah ke kromosom pasangannya.
- 2) *Inversion* adalah mutasi berupa perubahan letak dua atau lebih gen pada bagian kromosom.
- 3) *Deletion* adalah mutasi kromosom berupa lenyapnya bagian kromosom yang berisi beberapa gen.
- 4) *Duplication* yang merupakan penggandaan bagian ujung kromosom yang berisi beberapa gen.

Mutasi dapat terjadi pada semua bagian pada tanaman, namun lebih banyak terjadi pada bagian tanaman yang masih aktif membelah seperti tunas dan biji. Dalam prosesnya, mutasi terjadi karena adanya perubahan urutan (*sequence*) nukleotida DNA kromosom yang kemudian mengakibatkan terjadinya perubahan pada bentuk protein enzim. Perubahan yang umum terjadi adalah penggantian satu nukleotida dengan yang lain pada saat berlangsungnya replikasi DNA. Akan tetapi, bila kode genetik berlimpah yaitu bila terdapat beberapa kode yang mentriplikasikan nukleotida yang sama dengan asam amino maka tidak akan menyebabkan terjadinya perubahan protein. Mutasi juga terjadi dengan adanya penambahan atau hilangnya nukleotida sehingga mengubah informasi genetik yang terbaca mulai dari saat terjadinya perubahan sampai pada gen - gen yang terakhir (Welsh, 1991).

Mutasi dapat terjadi di alam dan dapat berupa mutasi buatan. Mutasi di alam berlangsung dalam proses yang cukup lama yang kemungkinan disebabkan oleh lingkungan yang sangat ekstrim. Mutasi buatan dimulai pada Tahun 1972 oleh Muller yang menggunakan radiasi sinar-x terhadap *Drosophilla* yang merupakan genus lalat buah. Dari hasil penelitiannya, ditemukan bahwa sinar-x menyebabkan terjadinya perubahan genetik yang berbeda dengan aslinya. Hingga saat ini dikembangkan mutasi buatan untuk program pemuliaan tanaman.

Mutasi dapat terjadi bila digunakan mutagen dengan dosis dan waktu tertentu. Mutagen merupakan substansi atau perlakuan yang dapat menyebabkan mutasi. Terdapat 3 kelompok mutagen (Poespodarsono, 1988):

1) Radiasi

Beberapa sumber radiasi yang digunakan antara lain sinar-x dari alat *rontgen*, sinar gamma dari *Cobalt 60*, sinar beta dari radio-isotop dan sinar neutron dari reaktor atom. Beberapa mutagen ini, mempunyai daya tembus yang sangat tinggi dan harus berhati-hati dalam penggunaannya karena dapat berakibat fatal bagi manusia. Radiasi dapat menyebabkan mutasi karena sel yang teradiasi dibebani tenaga kinetik yang tinggi sehingga dapat mempengaruhi atau mengubah reaksi kimia yang akhirnya menyebabkan perubahan susunan kromosom.

2) Non-Radiasi

Mutasi ini berupa sinar ultra-violet yang mempunyai kekuatan daya tembus lemah. Biasanya digunakan untuk mendapatkan mutasi pada mikroorganisme misalnya mutasi pada jamur untuk tujuan produksi antibiotik.

3) Kimia

Mutagen kimia mulai dikembangkan secara luas pada tahun 1960. Beberapa mutagen kimia yang banyak digunakan: *ethylenemethanesulfonate* (EMS), *nitrosomethyl urea* (NMU) dan *nitrosoguanidine* (NTG). Mutagen ini dapat merubah kemampuan berpasangan rantai DNA sehingga dapat merubah susunan genetik pada kromosom.

Radiasi sinar gamma merupakan radiasi ionisasi yang dapat menembus sel dan jaringan tanaman dengan mudah (Hartini, 2008). Iradiasi sinar gamma adalah satu bentuk mutagen (hal yang menyebabkan mutasi) pada tanaman. Sebagai salah satu mutagen, iradiasi sinar gamma dapat menyebabkan terjadinya mutasi gen, mutasi genom atau mutasi kromosom yang dapat mengubah struktur aslinya. Menurut Hartini (2008), jika terjadi perubahan pada DNA maka akan menyebabkan terjadinya perubahan kodon - kodon mRNA, dan akhirnya menyebabkan terjadinya perubahan asam amino tertentu pada protein yang disandikannya. Perubahan protein atau enzim akan menyebabkan perubahan metabolisme serta fenotipe organisme. Besar kecilnya jumlah

asam amino yang berubah akan menentukan besar kecilnya perubahan fenotipe pada organisme tersebut. Mutagen sinar gamma ini berpengaruh positif untuk pemuliaan tanaman karena menghasilkan keragaman genetik yang tinggi sehingga berguna bagi pemuliaan tanaman.

Pemanfaatan mutagen sinar gamma juga telah banyak dikembangkan di bidang pertanian seperti pada hasil penelitian Meliala *et al.* (2016) yang melakukan penelitian pada tanaman padi gogo (*Oryza sativa*.L) dan diperoleh bahwa terjadi perubahan fenotipik tanaman padi yang diradiasi sinar gamma pada dosis iradiasi 100 gray (D1), 150 gray (D2), 200 gray (D3) dan 250 gray (D4). Perubahan fenotipik terjadi pada semua dosis iradiasi, perubahan terjadi terhadap karakter tinggi tanaman, jumlah anakan produktif, panjang malai, luas daun, hasil, persentase gabah bernas dan juga kadar klorofil tanaman hingga keragaman genetik yang tinggi pada setiap perlakuan. Ivanishvili *et al.* (2016) menemukan bahwa dosis radiasi 100 - 200 gray dapat meningkatkan regenerasi populasi dari tanaman mata lele (*Lemna minor* L.). Pengaruh positif radiasi sinar gamma terhadap respon tanaman juga ditunjukkan oleh hasil penelitian Handayani (2017) yang menyimpulkan bahwa dosis iradiasi sinar gamma 400 gray merupakan dosis yang berpotensi menghasilkan tanaman mutan terbaik yang ditunjukkan oleh jumlah bunga terbanyak (585,00 bunga), bobot buah total terberat (278,14 g), dan rata - rata panjang buah sampel terpanjang (12,53 cm). Ramabulana *et al.* (2017) menemukan bahwa radiasi sinar gamma dengan dosis 2 kilogray pada

tanaman kelor (*Moringa oleifera*) dapat meningkatkan aktivitas sintesis senyawa metabolit sekunder *glucomoringin*. Kemudian Hanafy dan Akladious (2018) menemukan bahwa pemberian radiasi sinar gamma dengan dosis 25 – 200 gray pada tanaman fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) dapat meningkatkan jumlah polong dan jumlah benih.

Pengembangan iradiasi sinar gamma pada bidang kehutanan mulai dilakukan. Pada penelitian Bramasto *et al.* (2016) yang menggunakan mutagen iradiasi sinar gamma pada benih sengon (*Falcataria moluccana*) dengan dosis 5 gray, 10 gray, 15 gray, 30 gray, 45 gray, 60 gray, 75 gray, 90 gray, 105 gray dan 120 gray diperoleh hasil bahwa peningkatan Daya Berkecambah (DB) dan Kecepatan Tumbuh (KCT) mulai terlihat pada dosis 5 gray dan terus meningkat hingga dosis 90 gray, namun tidak disarankan untuk penggunaan dosis yang lebih tinggi. Daya Berkecambah benih pada dosis 60 gray, meningkat antara 13,5% – 50,9% dari kontrol. Penggunaan mutagen iradiasi sinar gamma juga dilakukan pada planlet jati klon Solomon oleh Palaongan (2017) yang menggunakan 5 taraf dosis iradiasi, yaitu 0 gray, 10 gray, 20 gray, 30 gray, dan 40 gray. Dari hasil penelitian yang telah dipublikasikan, menunjukkan bahwa pemberian dosis radiasi sinar gamma yang berbeda dapat memberikan respon yang berbeda pada benih jati klon Solomon. Pada dosis 7,8 gray – 24,5 gray yang diberikan menyebabkan jati klon Solomon masih bisa tetap hidup dan pada dosis 30 gray dan 40 gray menyebabkan perubahan morfologi pada bibit jati.

b. Penentuan dosis radiasi dengan LD₅₀

Mutasi dapat dikategorikan sebagai salah satu bentuk metode pemuliaan yang diukur dengan *lethal doses* dan dicirikan oleh adanya perbedaan dalam sensitivitas genotip berbeda dan jaringan tanaman terhadap mutagen berbeda serta genetik yang terbentuk setelah adanya perlakuan mutagenik berpengaruh terhadap alel - alel dan segregasi pada generasi berikutnya (Zanzibar dan Sudrajat, 2015). Iradiasi sinar gamma dalam dosis yang tinggi umumnya menghasilkan pengaruh inhibitor terhadap perkecambahan, menurunnya kadar auksin atau kerusakan kromosom, sedangkan radiasi dengan dosis rendah umumnya menghasilkan pengaruh stimulasi terhadap perkecambahan melalui peningkatan aktivitas enzim, perbaikan sel-sel respirasi, dan meningkatkan produksi struktur reproduksi (Zanzibar dan Sudrajat, 2015).

c. Implikasi mutasi sinar gamma terhadap keragaman genetik tanaman

Mutasi dapat digunakan sebagai suatu metode pemuliaan tanaman untuk meningkatkan keragaman genetik tanaman, untuk mendapatkan sifat baru sebagai sarana untuk perbaikan genetik tanaman, terutama pada tanaman yang selalu diperbanyak secara vegetatif yang secara relatif menyebabkan variasi genetiknya rendah serta untuk mendapatkan karakter baru yang tidak ditemukan pada gen sebelumnya.

Qosim *et al.* (2007) dalam penelitiannya terhadap kalus nodular manggis, menyebutkan bahwa induksi radiasi sinar gamma menghasilkan keragaman genetik dengan menggunakan teknik RAPD dengan keragaman genetik antara 60 - 91%. Sementara itu, Widiastuti *et al.* (2013) dalam penelitian dengan menggunakan biji manggis hasil iradiasi sinar gamma yang dianalisis dengan marka SSR, iradiasi sinar gamma berhasil meningkatkan keragaman genetik sebesar 5% dibanding kontrol.

D. Analisis Karakter Morfologi pada Tanaman

Karakterisasi morfologi merupakan pengamatan karakter pada fenotipe tanaman baik berdasarkan sifat kualitatif maupun kuantitatif. Fenotipe merupakan hasil interaksi antara genotipe dan lingkungan, fenotipe digunakan untuk mendeteksi adanya keragaman tanaman secara morfologi. Karakter kuantitatif merupakan pengamatan fenotipe pada tanaman berdasarkan ukuran atau jumlah sifat yang teramati sesuai dengan satuan yang ada (Fatmawati *et al.*, 2017). Fenotipe dari suatu organisme dapat dibatasi sebagai suatu ekspresi yang dapat diamati langsung di lapangan atau melalui suatu percobaan laboratorium sebelum dapat dilakukan pengamatan.

E. Penanda Genetik SSR/Mikrosatelit dan RAPD

Finkeldey (2005) menyatakan bahwa suatu penanda genetik adalah suatu satuan keturunan. Banyak jenis penanda telah diidentifikasi, namun hanya beberapa dari segi praktis banyak digunakan dalam genetika hutan. Menurut Finkeldey (2005), penanda genetik dapat dibedakan menjadi:

1. Polimorfisme morfologi

Penanda genetik ini sangat langka pada populasi alami dan hanya penting untuk tanaman hias. Pada tahun 1865, Mendel melakukan percobaan pada kacang ercis (*Pisum sativum*) dengan memanfaatkan perbedaan sifat-sifat morfologi seperti struktur permukaan pada biji (berkeriput dan halus). Dari hasil percobaan, Mendel menemukan bahwa setiap turunan yang dihasilkan oleh F1 akan memperlihatkan kelompok-kelompok dengan variasi karakter yang dominan atau resesif .

2. Sifat - sifat warna

Sifat-sifat warna tertentu pada beberapa pohon disebabkan oleh satu alel dominan pada lokus tunggal dan bersifat langka pada populasi alami. Mendel telah melakukan percobaan menggunakan polimorfisme warna bunga kacang polong. Mendel melakukan percobaan perkawinan dihibrid dengan dua sifat beda yang digunakan yaitu bentuk biji dan warna biji pada kacang ercis dan perkawinan trihibrid dengan tiga sifat beda yaitu warna bunga, bentuk biji dan warna biji.

3. Produksi metabolik sekunder

Kandungan produksi metabolik sekunder tertentu yang merupakan hasil dari aliran metabolik kompleks seringkali dikendalikan hanya oleh satu atau sejumlah kecil lokus gen. Penelitian dengan penanda genetik ini memerlukan banyak tenaga dan biaya, sementara studi penurunan sifat untuk penanda ini sulit dilakukan atau bahkan tidak mungkin dilakukan, jumlah lokus polimorfik rendah dan heterozigisitas tidak dapat diukur disebabkan oleh dominasi dari alel-alel tertentu.

4. Isoenzim

Isoenzim atau isozim adalah enzim-enzim yang mengkatalisa reaksi metabolisme biokimia yang sama. Isoenzim pada jenis pohon hutan tropis telah dipelajari secara mendalam sejak awal tahun 70-an pada abad lalu dan sampai sekarang masih merupakan gen penanda terpenting untuk jenis pohon hutan. Polimorfisme isozim sejauh ini adalah alat yang terpenting dan paling banyak digunakan dalam analisis berbagai aspek dan sistem genetik pohon hutan tropis.

5. Penanda DNA

Akhir-akhir ini penelitian menggunakan DNA secara langsung telah banyak berkembang. Keuntungan dari penanda DNA adalah kemungkinan bekerja dengan jumlah penanda yang tidak terbatas. Tinggi atau rendahnya variasi dari penanda-penanda spesifik dapat dipilih berdasar pada tujuan dari studi. Penanda DNA dapat dibedakan menjadi RFLPs (*Restriction Fragment Length Polymorphisms*), RAPD (*Random*

Amplified Polymorphic DNA), mikrosatelit dan AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphisms*). Pengembangan jenis-jenis penanda molekuler baru berdasarkan pada PCR mengalami kemajuan yang pesat. Di masa mendatang, kepentingan penanda-penanda DNA juga akan meningkat untuk penelitian genetik pada tumbuhan hutan tropis. Penanda molekuler berbasis pada teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR) telah menghasilkan metode yang lebih obyektif untuk analisis keragaman DNA.

Mikrosatelit adalah sekuen DNA yang berulang, dimana satu motif mengandung satu sampai enam pasang basa yang diulang secara tandem dalam sejumlah waktu. Jika ulangan tersebut cukup panjang dan tidak terpotong - potong (*uninterrupted*), mereka sangat baik digunakan sebagai penanda genetik karena tingkat polimorfisme mereka yang tinggi. Mikrosatelit sering disebut sebagai *Simple Sequence Repeats* (SSRs), *Short Tandem Repeat* (STR), *Variable Number Tandem Repeat* (VNTR) dan *Simple Sequence Length Polymorphism* (SSLP) (Zulfahmi, 2013). Mikrosatelit mempunyai karakteristik sebagai berikut: tingkat polimorfisme yang tinggi, bersifat kodominan dan diwariskan mengikuti hukum mendel. Mikrosatelit telah diaplikasikan untuk: i) Identifikasi forensik, bertujuan untuk mengkaitkan sampel darah, sperma, jaringan rambut atau daging dari kasus kriminal; ii) Diagnosis dan identifikasi penyakit, seperti deteksi kanker; iii) Studi populasi genetika, untuk mengamati variasi dan membuat kesimpulan tentang struktur populasi, hanyutan genetik (*genetic drift*), dan *genetic bottlenecks*; iv) Konservasi biologi, untuk mengamati perubahan

dalam populasi, pengaruh fragmentasi dan interaksi populasi yang berbeda serta untuk identifikasi populasi yang baru terbentuk (Zulfahmi, 2013).

Finkeldey (2005) menyatakan bahwa mikrosatelit telah diidentifikasi pada ADN plastid (ADNcp dan ADNmt) dan juga pada ADN inti. Mikrosatelit terutama berguna untuk studi aliran gen dan sistem perkawinan dari suatu jenis, karena seringkali mikrosatelit menunjukkan variasi yang luas.

Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) merupakan penanda yang bersifat dominan, menggunakan primer - primer pendek (biasanya 10 bp) dari suatu sekuensi yang dipilih secara bebas dan mengamplifikasikan bagian dari ADN total yang tidak diketahui. Amplifikasi dari potongan-potongan tergantung pada ada atau tidaknya sekuensi komplementer terhadap primer pendek. Fragmen-fragmen ADN biasanya secara langsung dipisahkan pada sel agarose (Finkeldey, 2005).

Primer RAPD bersifat random dengan ukuran panjang biasanya 10 nukleotida. Jumlah produk amplifikasi PCR berhubungan langsung dengan jumlah dan orientasi sekuensi yang komplementer terhadap primer di dalam genom tanaman. Keunggulan dari teknik analisis menggunakan marka RAPD di antaranya adalah: (1) kuantitas DNA yang dibutuhkan sedikit, (2) hemat biaya, (3) mudah dipelajari, dan (4) primer yang diperlukan sudah banyak dikomersialisasikan sehingga mudah diperoleh. Kelemahan teknik ini antara lain: (1) tingkat reproduksibilitas pola marka

dari laboratorium ke laboratorium berbeda dan antara hasil percobaan dalam laboratorium itu sendiri yang sama, (2) sangat sensitif terhadap variasi dalam konsentrasi DNA, dan (3) memerlukan konsentrasi primer dan kondisi siklus suhu yang optimal pada saat pengujian (Azrai, 2005).

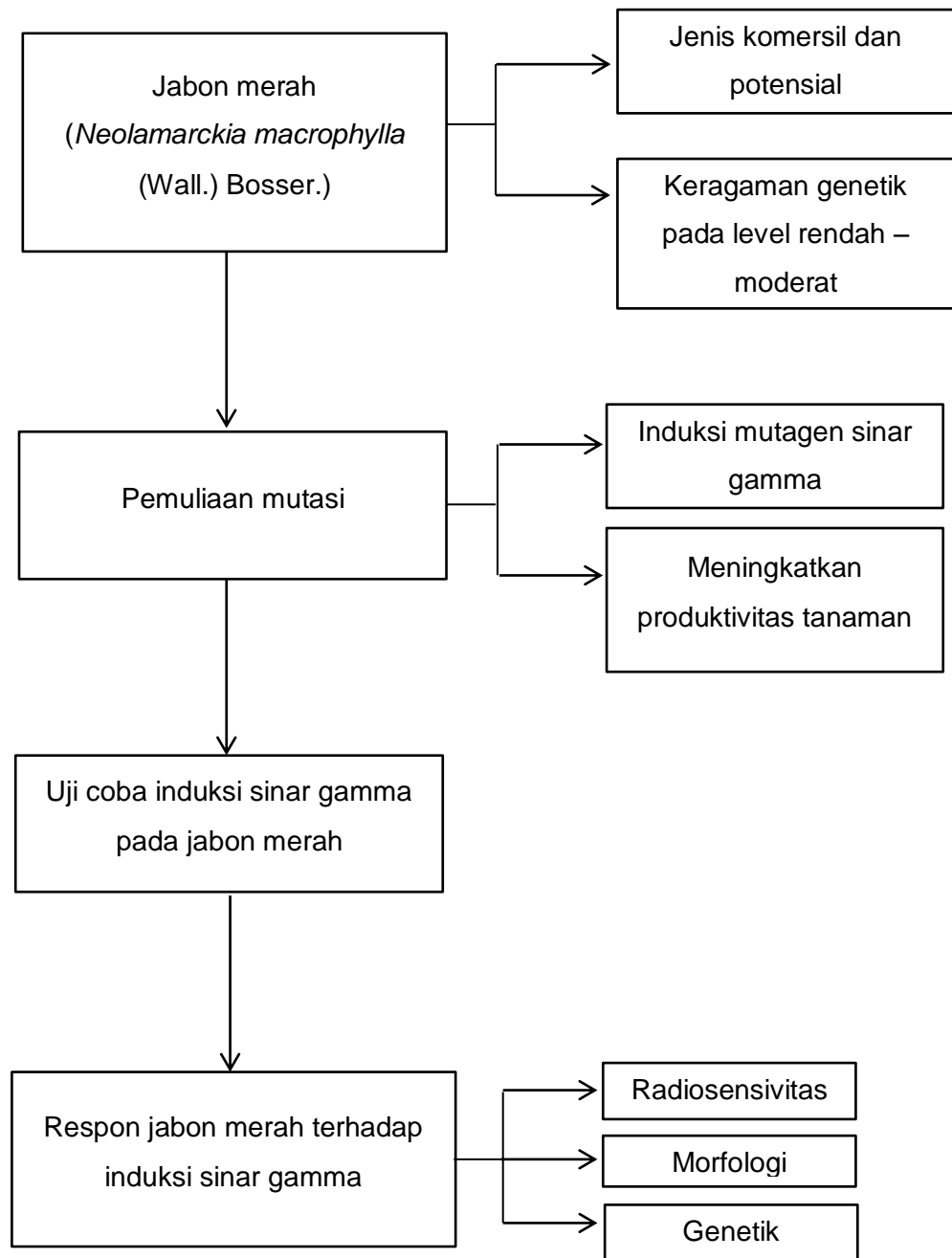
F. Kerangka Pikir Penelitian

Jabon merah (*Neolamarckia macrophylla* (Wall.) Bosser.) merupakan salah satu jenis penghasil kayu komersil yang potensial dikembangkan. Karakteristik kayu jabon merah yang tergolong dalam kelas kuat III, kelas serat kualitas II dengan kandungan kimia yang sesuai untuk bahan baku kayu lapis, *pulp* dan kertas. Dari aspek silvikultur, jabon merah tergolong dalam kelompok *fast growing species*, memiliki kemampuan *self pruning* yang tinggi dan memiliki struktur tikoma sehingga tahan terhadap bakteri *B.theobromae* penyebab mati pucuk pada bibit. Akan tetapi, jabon merah memiliki keragaman genetik untuk karakter tinggi dan diameter pada level rendah – moderat. Hal ini selanjutnya dapat menyebabkan terjadinya penurunan kualitas genetik yang selanjutnya berpengaruh terhadap fenotipe jabon merah dan menyebabkan meningkatnya kerentanan terhadap serangan hama dan penyakit.

Pemuliaan mutasi berupa penggunaan mutagen untuk tanaman merupakan salah satu alternatif dalam meningkatkan keragaman genetik tanaman, sehingga dapat dimanfaatkan sebagai bahan dasar dalam pemuliaan tanaman yang bersangkutan. Mutasi secara alami dapat terjadi

pada tanaman, tetapi berlangsung dalam periode yang sangat lama dan terjadi spontan seperti bila berada dalam kondisi ekstrim. Perkembangan saat ini, mutagen telah diinduksikan pada tanaman dengan dosis tertentu untuk perbaikan genetik dan pemuliaan tanaman. Pada beberapa jenis tanaman pertanian dan kehutanan, pemuliaan mutasi telah banyak diuji cobakan dan pada umumnya menunjukkan hasil yang positif dengan dosis yang berbeda untuk setiap tanaman yang berbeda. Pada beberapa penelitian tersebut, umumnya menggunakan mutagen sinar gamma karena memiliki energi dan daya tembus yang lebih tinggi dibanding mutagen lainnya.

Pemuliaan mutasi dengan induksi mutagen sinar gamma pada jabon merah dianggap perlu untuk diujicobakan yang selanjutnya dapat dijadikan dasar dalam pemuliaan pohon jabon merah. Radiosensivitas terhadap induksi ditentukan dengan pendekatan nilai LD50 untuk menentukan dosis optimum radiasi yang dapat diberikan. Penanda yang digunakan dalam mengukur respon terhadap radiasi adalah penanda morfologi untuk melihat secara cepat respon tanaman terhadap induksi mutagen sinar gamma dan penanda DNA untuk memastikan kondisi fragmen DNA setelah dilakukan induksi radiasi sinar gamma. Kerangka pikir pelaksanaan penelitian digambarkan dengan bagan pada gambar 1.



Gambar 1. Kerangka pikir penelitian

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan selama 13 bulan yaitu bulan April tahun 2019 sampai dengan bulan Mei tahun 2020. Produksi benih jabon merah dilaksanakan pada April 2019; induksi mutagen sinar gamma dilaksanakan pada Mei 2019; pembiakan secara *invitro* dilaksanakan pada Juni 2019 – Mei 2020 serta analisis DNA dilaksanakan pada Mei 2020.

Penelitian dilaksanakan pada empat tempat yaitu Sumber Benih jabon merah, Badan Tenaga Nuklir Indonesia, Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi (BATAN PAIR), Laboratorium Pengujian Benih dan Laboratorium kultur jaringan BPTH Wil.II serta Laboratorium Bioteknologi Fakultas Kehutanan Universitas Hasanuddin. Pengambilan bahan tanaman berupa buah jabon merah dari Sumber Benih jabon merah kelas Tegakan Benih Teridentifikasi di Padang Sappa, Kabupaten Luwu. Buah diambil pada pohon plus dengan fenotipe yang lebih bagus dibanding pohon disekitarnya pada koordinat 120° 12' 42,019" BT dan 3° 15' 21,006" LS. Data lokasi dan keterangan pohon plus untuk pengambilan sampel buah jabon merah sesuai lampiran 1.

Penyinaran sinar gamma pada benih jabon merah dilaksanakan di Badan Tenaga Nuklir Indonesia, Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi