

Variasi Genetik Anggrek Alam *Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume Hasil Iradiasi Sinar Gamma

Genetic Variation of Natural Orchid Phalaenopsis amabilis *(L.) Blume Produce Gamma Ray Irradiation*

Rahayu Sulistianingsih^{*1}, Aziz Purwantoro² dan Woerjono
Mangoendidjojo², Endang Semiarti^{*3}

¹Fak. Pertanian UPN "Veteran" Yogyakarta,

²Fak. Pertanian UGM Yogyakarta

³Fak. Biologi UGM Yogyakarta

*Corresponding author: endsemi@ugm.ac.id dan r.sulistya@gmail.com

Diterima 22 September 2011; Disetujui 16 Februari 2012

ABSTRAK

Variasi Genetik Anggrek Alam *Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume Hasil Iradiasi Sinar Gamma. Untuk mendapatkan kultivar baru anggrek alam *Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume telah dilaksanakan iradiasi sinar gamma Co-60. Hasil iradiasi menunjukkan keragaman fenotip, sehingga perlu dilakukan penelitian secara biologi molekuler untuk mengetahui apakah keragaman fenotip tersebut memang disebabkan karena adanya perbedaan genotip pada tanaman-tanaman hasil iradiasi tersebut. Dalam penelitian ini dilakukan analisis keragaman genetic antar individu dalam populasi tanaman hasil iradiasi dengan menggunakan teknik RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*). Bahan tanaman berupa hasil iradiasi sinar gamma 0, 15, 20, 25, 20+20 dan 40 Gray. Masing-masing diisolasi DNA genom dari tanaman tersebut dan diamplifikasi dengan 22 primer yang ditentukan secara random. Hasil PCR (*Polymease Chain Reaction*) dianalisis dengan elektrophoresis dengan 1.5 % agarose. Analisis DNA dilakukan dengan teknik RAPD menggunakan 8 primer terseleksi dari 22 primer yang digunakan analisis polimorfis dan keragaman molekuler dianalisis dengan metode Nei's gene diversity dengan program GenAlEx 6.1. Hasil penelitian menunjukkan Keragaman genetic dapat dianalisis pada awal pertumbuhan tanaman anggrek bulan alam *Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume hasil iradiasi sinar gamma Co-60 dengan menggunakan teknik RAPD dan dosis iradiasi 15 dan 40 Gy memberikan variabilitas genetik tinggi dibandingkan tanpa perlakuan

Kata kunci : Variasi Genetik, Iradiasi, Anggrek Alam

ABSTRACT

Genetic Genetic Variation of Natural Orchid *Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume Produce Gamma Ray Irradiation. New cultivars of *Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume were obtained through gamma-rays Co-60 irradiation. The result showed phenotypic variation which justifies a molecular biology observation to investigate whether the variation was caused by the change on cultivar's genotypic traits. A study to describe the genetic variability among individuals of the irradiated cultivars was then conducted using RAPD Technique. The materials used were cultivars obtained by 0, 15, 20, 25, 20+20 and 40 Gray irradiations. DNA genome of each plant was isolated and was amplified with 22 primers randomly. The PCR analysis was done with 1.5 % agarose. The DNA analysis used 8 selected primers out of 22. Polymorphism and molecular diversity were analyzed with Nei's gene diversity method through GenAlex 6.1 program. The study showed that genetic diversity might be detected at the early growth stage of the gamma ray Co-60 irradiated cultivars using RAPD, and irradiation dose of 15 and 40 Gray gave high genetic diversity compared to control.

Keywords : Genetic diversity, Irradiation, natural orchid

PENDAHULUAN

Anggrek telah dikenal manusia sejak zaman dahulu, terbukti ditemukannya istilah anggrek dalam buku Cina kuno. Pertama disebut dalam buku Shih Ching (*The Book of Song*) yang ditulis 2500- 3000 tahun yang lalu [1]. Anggrek juga dikenal sebagai bunga *elite* karena keanggunannya dengan bentuk bunga yang indah, warna dan keelokannya secara utuh menjadi ciri khas yang membedakan dengan bunga yang lain [2]. Hal ini dapat dibuktikan dengan dipergunakannya anggrek sebagai bunga bangsa diberbagai negara sehingga tidak mengherankan jika anggrek menjadi komoditi andalan dalam bisnis bunga potong maupun tanaman hias [3], *Phalaenopsis* adalah jenis anggrek yang paling banyak diperdagangkan lebih dari 75% dari semua jenis anggrek [4].

Variasi yang ada pada anggrek merupakan suatu keunggulan tanaman tersebut yang memungkinkan sebagai material pemuliaan. Variasi yang ada anggrek terletak pada bentuk daun, bunga, ukuran dan warna kuntum bunga serta tipe pertumbuhan batang [5]. Pemuliaan tanaman anggrek mempunyai sasaran peningkatan keragaman genetik pada bentuk dan warna yang unik, disenangi konsumen, frekuensi berbunga tinggi dan tahan terhadap hama penyakit serta cekaman lingkungan [6]. Untuk mengetahui keragaman dapat dilakukan dengan menggunakan penanda sebagai alat untuk melakukan karakterisasi genetic [7; 8]. Pengumpulan sumber keragaman genetik dapat dilakukan dengan hibridisasi, mutagenesis dan transformasi. Semua metode pemuliaan ini menghasilkan berbagai keragaman genotipe dan fenotipe. Varietas unggul dapat dirakit melalui beberapa cara, antara lain melalui mutasi induksi untuk mendapatkan mutan yang diinginkan [9]. Perubahan mendadak secara alami, jarang terjadi pada material genetik yang mengakibatkan suatu perubahan permanen dalam gen. Radioaktifitas yang

dikombinasikan dengan temperatur sangat rendah atau tinggi, adanya bahan-kimia benih dan nutrisi tumbuhan dapat menyebabkan terjadinya perubahan secara spontan. Perubahan yang diturunkan mendadak ini didalam tumbuhan disebut mutasi dan digolongkan seperti genetik somatik, chromosomal atau ekstra-chromosomal [10, 11].

Perluasan genetik yang dilakukan Piluek & Lamseejan [12] pada beberapa jenis anggrek *Dendrobium*, *Grammatophyllum*, *Rhycostylis* dan *Phalaenopsis* dengan menggunakan sinar gamma dengan dosis 0; 20; 40; 60 dan 80 Gy yang diradiasi pada protokorm menunjukkan pertumbuhan yang semakin menurun pada dosis 40 dan 60 Gy dan mati pada dosis 80 Gy. Soedjono & Suskandari [13] menyatakan dosis iradiasi sinar gamma yang efektif terhadap bibit tanaman adalah 20-25 Gy dan dosis 35 Gy mampu mempercepat pertumbuhan bibit dan protokorm ataupun planlet. Dosis 50 Gy belum memberikan kerusakan fisiologis sel protokorm anggrek *Dendrobium*.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilakukan di tiga tempat sesuai dengan tahapan kegiatan yaitu, iradiasi buah anggrek dengan sinar gamma dilaksanakan di Pusat Penelitian dan Pengembangan Teknologi Isotop dan Radiasi Badan Tenaga Nuklir Nasional (P3TIR BATAN) Pasar Jum'at Jakarta. Buah anggrek hasil pembuahan sendiri diiradiasi dengan berbagai dosis sinar gamma Co-60 di PATIR BATAN Jakarta. Iradiasi sinar gamma dengan dosis 0, 15, 20, 25, 40 dan 20+20 Gray sebagai perlakuan. Penanaman buah yang sudah diradiasi di laboratorium Kultur Jaringan Tumbuhan Fakultas Biologi dan Pengamatan molekuler di laksanakan di Laboratorium Genetika dan Pemuliaaan Tanaman Fakultas Pertanian UGM, Penelitian dilaksanakan antara bulan Juni 2007 sampai Maret 2010.

Pelaksanaan penelitian, buah anggrek bulan yang sudah diradiasi ditabur pada media NP yang ditambahkan tomat. Subkultur dilaksanakan setiap 3 bulan sekali untuk memacu pertumbuhan planlet dan membuang planlet yang terkontaminasi. Pengamatan pertumbuhan planlet secara kuantitatif dengan parameter (1) Jumlah daun, (2) Panjang daun ke 1,2 dan 3; (3) Lebar daun ke 1,2 dan 3; (4) Jumlah akar dan (5) Diameter akar dan kualitatif dilaksanakan pada planlet umur dua (2) tahun dan siap diaklimatisasi di rumah kaca. Pengamatan molekuler dilaksanakan dengan mengekstraksi DNA hasil iradiasi yang tumbuh dari buah anggrek alam *Ph amabilis* menggunakan daun segar planlet anggrek terpilih dengan metode CTAB (Doyle & Doyle, 1990) yang telah dimodifikasi (Subandiyah, 2003). Sampel daun segar sebanyak 0.1 gram. Hasil ekstraksi dipurifikasi menggunakan *GeneClean@III Kit* (MP Biomedical). Amplifikasi dilakukan dengan reaksi PCR (*Polymerase Chain Reaction*) menggunakan alat *Gene Amp PCR System 9700*, bertujuan menggandakan sekuen berdasarkan primer yang digunakan. Reaksi PCR dilakukan pada total volume 20 µl untuk setiap tabung PCR dengan menggunakan PCR mix *FastStart PCR Master* (Roche), terdiri atas Taq DNA polymerase, MgCl₂, Buffer reaksi dan dNTPs sebanyak 10 µl, 1 µl primer (*Sigma- Proligo*), 2 µl DNA sampel dan 7 µl akuades steril.

Amplifikasi dilakukan dengan pemanasan pertama dilakukan pada suhu 95°C selama 1 menit dengan siklus 45 kali dengan suhu dan waktu selama siklus sebagai berikut: denaturasi pada 95°C selama 45 menit, annealing pada suhu 37°C selama 1 menit, Elongasi awal pada suhu 72°C selama 1 menit 30 detik, elongasi akhir 72°C selama 7 menit.

DNA hasil PCR kemudian dielektroforesis menggunakan agarose 1.5 % (b/v) yang telah dipanaskan dan ditambahkan dengan buffer TBE 1x dan dicetak dalam cetakan. DNA (*BioRad- mini sub cell GT*) ditambahkan loading dye untuk pewarna sebanyak 2 µl/ 10 µl dan untuk

marka digunakan 100 bp microzone dengan tegangan 100 volt selama 45 menit kemudian direndam dengan Ethium bromide selama 30 menit. kemudian dibilas dengan aquades Hasil elektroforesis divisualisasi dengan sinar UV dari *UV trans illuminator* dan dilakukan pemotretan menggunakan kamera digital olympus.

Analisis hasil karakter morfologi menggunakan SAS (*Statistical Analyzes System*), dengan uji lanjut Duncan pada taraf 5%. Karakter kualitatif yang diamati adalah tipe ujung daun, bentuk daun, bentuk tepi daun, bentuk akar. Karakter molekuler dengan melihat munculnya pita DNA pada gel agarose yang dielektroporesis dari hasil PCR pada primer yang diujikan. Data diperoleh di skoring yaitu ada (1) atau tidak ada (0) pita dari setiap individu pada ukuran tertentu untuk setiap primer. Dari data tersebut dapat diketahui jumlah dan persentase lokus polimorfik. Nilai keragaman genetic (h) untuk setiap perlakuan dihitung berdasarkan *Nei 's gene diversity* (1973) dilakukan dengan program *Gen ALEx 6* [14].

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil analisis karakter morfologi planlet anggrek *Phalaenopsis amabilis* (L.) Blume hasil iradiasi sinar gamma menggunakan Co-60 ditampilkan pada Tabel 1.

Perlakuan iradiasi sinar gamma pada berbagai dosis memberikan pertumbuhan planlet anggrek bulan alam *P. amabilis* berbeda. jumlah daun kontrol lebih panjang dibandingkan perlakuan yang lain tetapi tidak berbeda nyata dengan perlakuan 20 + 20 Gray.

Pengamatan karakter kualitatif pertumbuhan bentuk daun: 1) lanset, 2) bulat, 3) trompet, 4) asimetris, 5) tepi daun rata, 6) bergelombang, 7) keriting, 8) akar halus, 9) akar keriting, 10) akar gembung dan 11) akar kisut merupakan data biner, 0 bila tidak ada dan 1 bila muncul, dianalisis menggunakan program *Gen ALEx 6* [14].

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

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

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

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

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

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

Hasil analisis keragaman genetik berdasarkan karakter morfologi ditampilkan pada Tabel 2.

Lokus yang polimorfis hanya 18.18 % pada kontrol dan meningkat sampai 100 % pada dosis 40 Gray, Jumlah alel yang berbeda sebesar 0.545 pada kontrol meningkat menjadi 2 pada perlakuan iradiasi 40 Gy. Keragaman genetik pada kontrol sebesar 0.058. dibandingkan perlakuan iradiasi tertinggi pada perlakuan 40 Gray sebesar 0.389. Hal ini menunjukkan adanya perubahan karakter yang diakibatkan oleh iradiasi.

Karakterisasi genetik yang didasarkan pada penanda fenotip biasanya dipengaruhi oleh lingkungan makro dan mikro serta

umur suatu individu. Kesulitan lain akan terjadi apabila karakter kuantitatif yang diatur oleh banyak gen tersebut tereksresi pada akhir pertumbuhan, seperti karakter hasil [6]. Oleh karena itu karakter fenotip harus didukung oleh karakterisasi melalui penanda molekuler, karena analisis DNA sebagai material genetik tidak dipengaruhi oleh kondisi lingkungan [15].

Pengamatan karakter molekuler dilakukan untuk mengetahui adanya mutasi pada perlakuan yang diiradiasi dengan sinar Gamma Co-60 menggunakan teknik RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) dengan 22 primer yang dicobakan dan digunakan 8 primer yang sudah teramplifikasi, ditampilkan pada Tabel 3.

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

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

Hasil pengamatan primer yang teramplifikasi dari delapan primer sebesar 84,48 %. OPA 10 menunjukkan semua lokus polimorfik, OPB 1, OPB5 dan OPB7 tetap dapat digunakan untuk penanda molekuler pada tingkat awal adanya perbedaan pola pita hasil iradiasi. Hasil analisis untuk karakter molekuler menggunakan data biner 0 untuk tidak muncul pola pita dan 1 untuk pola pita yang muncul pada band tertentu dan dianalisis dengan program *Gen ALEx 6* [14] ditampilkan pada Tabel 4.

Berdasarkan Tabel 4 ada peningkatan persentase polimorfis pada perlakuan yang dilakukan iradiasi pada kontrol 16,67% meningkat menjadi 58,33 % pada perlakuan 15 Gy dan 56,25% pada perlakuan 40 Gy. Menurut Kartikaningrum *et al.*, [6] Jumlah pita DNA Polimorfis dalam analisis keragaman genetic menentukan tingkat keragaman dalam suatu populasi, sehingga banyaknya pita DNA yang polimorfis akan menggambarkan keadaan suatu genom dan memperkecil bias yang disebabkan oleh

Tabel 4. Analisis Keragaman Genetik planlet angrek bulan alam *P. amabilis* L.(Blume) hasil iradiasi sinar Gamma Co-60 (24 BST) berdasarkan *Nei 's gene diversity* (1973)

Pop		N	Na	Ne	I	h	uh	P (%)
kontrol	Mean	4.000	0.354	1.100	0.094	0.063	0.083	16.67%
	SE	0.000	0.109	0.033	0.031	0.020	0.027	
Prlk 15 Gy	Mean	4.000	1.167	1.433	0.355	0.245	0.326	58.33%
	SE	0.000	0.144	0.058	0.044	0.031	0.041	
Prlk 20 Gy	Mean	4.000	1.104	1.375	0.321	0.219	0.292	54.17%
	SE	0.000	0.144	0.053	0.043	0.030	0.040	
Prlk 25 Gy	Mean	4.000	0.854	1.333	0.262	0.182	0.243	41.67%
	SE	0.000	0.143	0.061	0.046	0.032	0.043	
Prlk 40 Gy	Mean	4.000	1.146	1.379	0.330	0.224	0.299	56.25%
	SE	0.000	0.143	0.052	0.043	0.029	0.039	
Prlk 20 + 20 Gy	Mean	4.000	0.625	1.221	0.187	0.128	0.170	31.25%
	SE	0.000	0.135	0.050	0.041	0.028	0.037	
Total	Mean	4.000	0.875	1.307	0.258	0.177	0.236	43.06%
	SE	0.000	0.058	0.022	0.018	0.012	0.016	6.75%

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

tidak terwakilinya bagian-bagian genom. Penanda molekuler yang digunakan dapat menunjukkan perubahan yang terjadi pada material genetik. Hasil menunjukkan ada perubahan karakter baik secara fenotipe maupun molekuler pada perlakuan yang di iradiasi sinar gamma.

Analisis ketidaksamaan genetik berkisar antara 0.065- 0.202 dengan yang tertinggi 0.202 antara populasi 25 Gy dengan 40 Gy. Nilai ketidaksamaan ini menunjukkan perubahan yang terjadi memang tidak besar tetapi sudah dapat dibedakan.

genetik antar populasinya (11%). Hal ini menunjukkan adanya perubahan akibat iradiasi yang diberikan, namun perbedaan dosis iradiasi tidak mempengaruhi keragaman yang muncul. Pemutusan DNA akibat radiasi menyebabkan perubahan asam amino dan protein yang dibentuk tanaman, yang akhirnya akan menyebabkan mutasi, seperti telah dilakukan oleh Thammasiri [16] pada *Cattleya* dan Piluck & Lamseejan [12] pada *Dendrobium*

Hasil pengamatan elektrophoresis menunjukkan adanya keragaman pada pita DNA yang terbentuk dari masing- masing

Tabel 5. Nilai ketidaksamaan genetik dalam populasi (diagonal) dan antar populasi(bawah diagonal) mutan anggrek bulan berdasarkan *Nei's Gene Diversity*(1973)

<i>kontrol</i>	<i>Prlk 15 Gy</i>	<i>Prlk 20 Gy</i>	<i>Prlk 25 Gy</i>	<i>Prlk 40 Gy</i>	<i>Prlk 20+20 Gy</i>	
0.000						kontrol
0.129	0.000					Prlk 15 Gy
0.108	0.100	0.000				Prlk 20 Gy
0.151	0.137	0.067	0.000			Prlk 25 Gy
0.125	0.142	0.155	0.202	0.000		Prlk 40 Gy
0.104	0.093	0.065	0.102	0.142	0.000	Prlk 20+20 Gy

Untuk mengetahui distribusi keragaman genetic didalam dan antar populasi dilakukan analisis AMOVA. Berdasarkan analisis tersebut variasi total menunjukkan besarnya distribusi keragaman genetic di dalam populasi sebesar 89 % sedangkan 11% keragaman terletak diantara populasi. Analisis AMOVA berdasarkan *Gen ALEx 6* [14] ditampilkan pada Tabel 6.

perlakuan, ditampilkan pada gambar 1, 2 dan 3. Penyebaran genetic planlet hasil iradiasi sinar gamma ditampilkan pada gambar 4 Biplot berikut ini. keragamanan genetic menunjukkan penyebaran pada perlakuan yang diiradiasi. Kontrol terkonsentrasi pada satu titik, hal ini menunjukkan bahwa keragaman genetik tanaman induk sangat rendah, sedangkan perlakuan yang diiradiasi menggunakan

Tabel 6. Hasil analisis Variasi Molekuler (AMOVA) mutan anggrek alam Bulan (*Phalaenopsis amabilis* L.(Blume) berdasarkan *Nei's Gene Diversity*(1973)

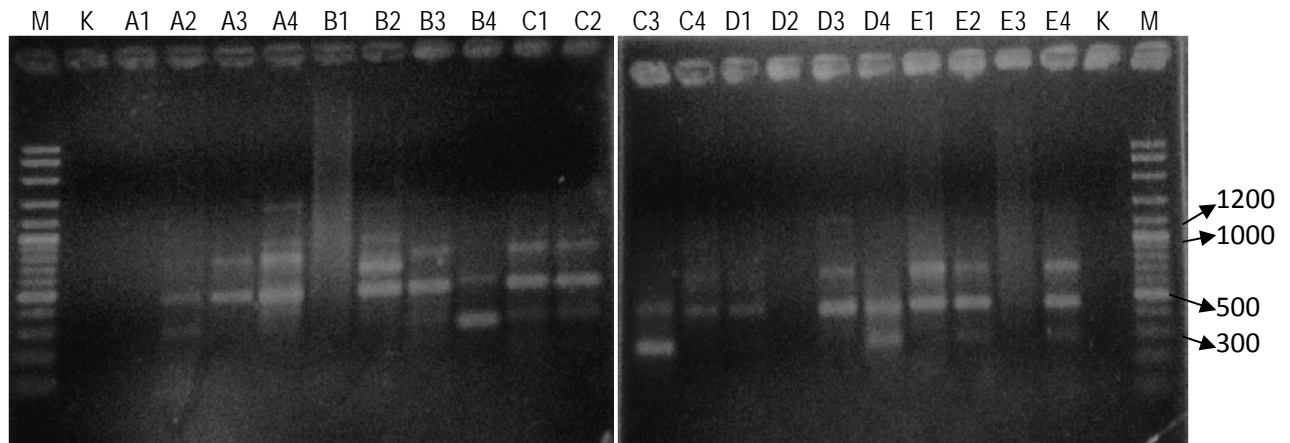
Sumber variasi	Derajat bebas	Jumlah kuadrat	Kuadrat rerata	Est. Var.	% variasi total
Antar populasi	5	14.673	2.935	0.245	11%
Dalam populasi	18	35.211	1.956	1.956	89%
Total	23	49.884		2.201	100%

Nilai distribusi keragaman genetik dalam populasi mutan Anggrek bulan Alam lebih besar (89%) daripada nilai keragaman

sinar Gamma dengan sumber Co-60 menunjukkan perubahan genetik. Keragaman dalam populasi masing masing

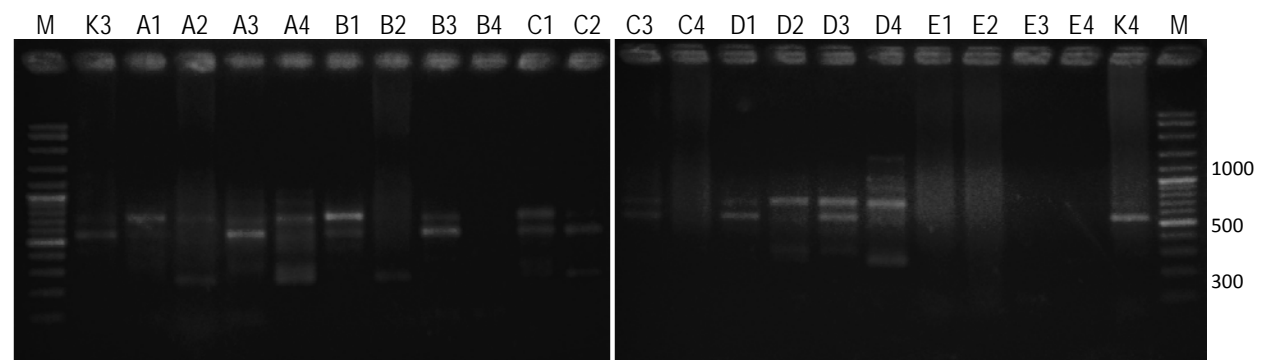
perlakuan menunjukkan iradiasi dapat merubah dan meningkatkan keragaman genetik. Keragaman yang besar pada populasi merupakan kunci sukses dalam

pemuliaan tanaman. Keragaman yang besar akan dapat digunakan sebagai material pemuliaan tanaman anggrek *P. amabilis*.



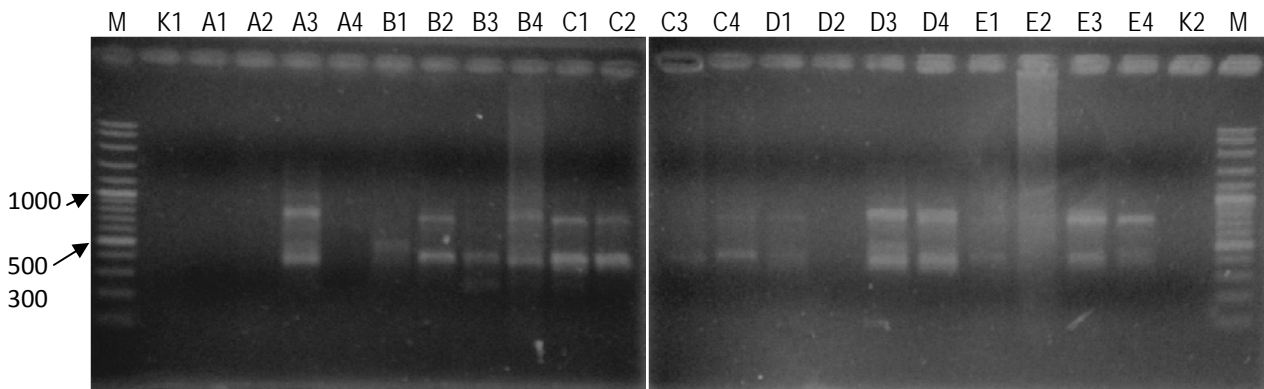
Gambar 1. Hasil amplifikasi DNA Anggrek Bulan Alam *P. amabilis* (L) Blume yang diiradiasi dengan sinar gamma Co-60 pada berbagai dosis (0, 15, 20, 25, 40 dan 20+20 Gy) dengan primer OPA2.

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



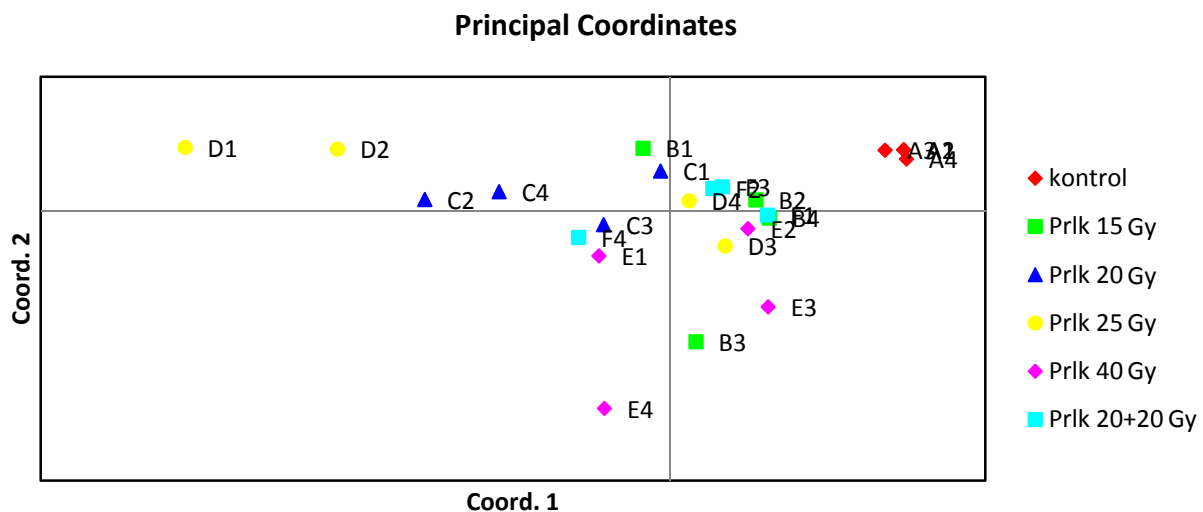
Gambar 2. Hasil amplifikasi DNA Anggrek Bulan Alam *P. amabilis* (L) Blume yang diiradiasi dengan sinar gamma Co-60 pada berbagai dosis (0, 15, 20, 25, 40 dan 20+20 Gy) dengan primer OPB5

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



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

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



Gambar 4. Biplot PCA (Principel Component Analysis) keragaman genetik berdasarkan karkater molekuler.

KESIMPULAN

Keragaman genetik anggrek Bulan Alam *Phalaenopsis amabilis*.dapat ditingkatkan dengan iradiasi sinar gamma

Penggunaan penanda molekuler dengan teknik RAPD dapat digunakan untuk menganalisis keragaman genetik pada awal pertumbuhan tanaman anggrek bulan alam *Phalaenopsis amambilis*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada LPPM UGM yang memberikan Hibah Penelitian untuk Mahasiswa Program Doktor (DIPA) Tahun Anggaran 2009 dalam pendanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. ARDITTI, J., *Fundamental of Orchid Biology*, John Willey & Sons, Canada (1992).
2. HAMENGGU BUWONO X, HAMENGGU BUWONO, S.S. 2002, Anggrek dan Citra Indonesia dalam Perspektif Budaya, *Pross. Sem. Nas. Anggrek*, 26 Oktober 2002, 1-3 (2002)
3. SOERYOWINOTO, S.M., *Merawat Anggrek*, Kanisius, Yogyakarta, 1-28 (2003).
4. GRIESBACH, R.J., Development of *Phalaenopsis* Orchid for The Mass Market, P.458-465, In: J. Janick and A. Whipkey (eds), *Trends in New Crops and New Uses*, ASHS Press. Alexandria, VA. <http://www.hort.purdue.edu/newcrop/ncnu02/v5-458.html>. Diakses tgl 12 Oktober 2010 (2002).
5. AMBARWATI, E., A. PURWANTORO dan F.SETYANINGSIH, Keragaman Genetik Anggrek *Dendrobium* spesies Berdasarkan Karakter morfologi, *Agrivet*, (10) 10-22 (2006).
6. KARTIKANINGRUM S.N. HERMIATI, A. BAIHAKI, M.H. KARMANA dan N.T. MATHIUS, *Isolasi DNA Anggrek dan Seleksi Primer Melalui Teknik Random Amplified Polymorphic DNA*, *Pross. Sem. Nas Anggrek*, Yogyakarta, 26 Oktober 2002 (2002).
7. ISHAK, Identifikasi Keragaman DNA genom Mutan Padi Atomita-2 dan tetuanya menggunakan RAPD Marker, *Zuriat*, 9 (2), 91-99 (1998).
8. AZRAI, M., Pemanfaatan markah molekuler dalam Proses Seleksi Pemuliaan Tanaman, *J. Agro-Biogen* 1 (1), 26-37 (2005).
9. AISYAH, S.I., *Mutasi Induksi Fisik Dan Pengujian Stabilitas Mutan Yang Diper-banyak Secara Vegetatif Pada Anyelir (*Dianthus caryophyllus* Linn.)*, Sekolah Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor, Disertasi (2006) (unpubliesh).
10. MEDINA III, F.; AMANO E., and TANO, S., *Mutation Breeding Manual*. FNCA (Forum For Nuclear Cooperation in Asia), 11-25, 84-87. (2004).
11. ZONNEVELD, B.J.M., Mutation, Recombination, Sports and Chimera. The American Hosta Society, Article, <http://www.plantmutation.htm>. Diakses tanggal 20 Mei 2005 (2005).
12. PILUCK, C. and S. LAMSEEJAN, *Orchid Improvement through Mutation induction by Gamma rays*, Workshop on Induced Mutation Technique for Genetic Diversity and economic Crop Improvement.-II, 4 (2002).
13. SOEDJONO, S. dan K. SUSKANDARI, Pengaruh Waktu Perendaman dan Konsentrasi Colchicine Terhadap Pertumbuhan Protokorm Anggrek *Dendrobium* Jayakarta, *Jurnal Hortikultura*. Vol 6 (Maret 1996): 242-248 (1996).
14. PEAKALL R. and P.E. SMOUSE, Gen A1Ex 6: Genetic Analysis in Excel. Population Genetic software for Teaching and Research. Australian Antional University, Canberra,

-
- Australia,
<http://www.anu.edu.au/BoZo/GenAlEx/>. Diakses Tgl. 03 Januari 2008 (2005).
15. ARTHEIM N. and H. ERLICH, Polymerase Chain Reaction Strategy, *Annu. Rev. Biochem*, 61: 131-156 (1992).
16. THAMMASIRI, K. *Effect of Gamma Irradiation on Protocorm- Like Bodies of Cat-tleya Alliance*. <http://www.delfinadearaujo.com/woc/part1.htm> (2005).
-