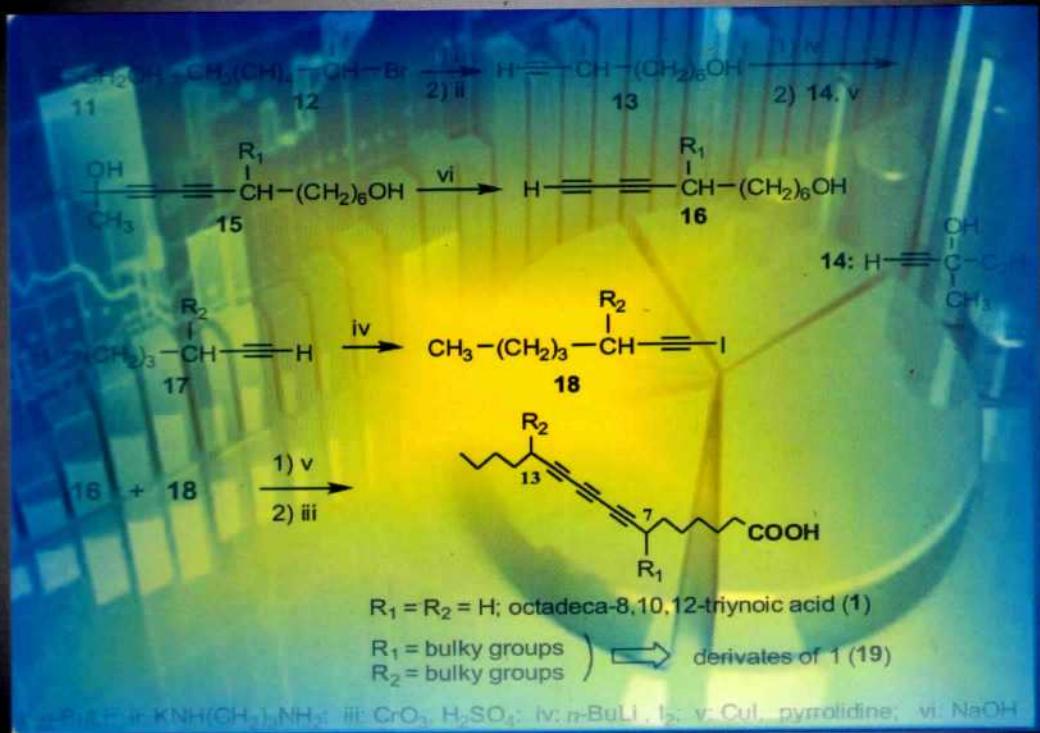


# Berita Biologi

Jurnal Ilmu-ilmu Hayati



**B**erita Biologi merupakan Jurnal Ilmiah ilmu-ilmu hayati yang dikelola oleh Pusat Penelitian Biologi - Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIP1), untuk menerbitkan hasil karya-penelitian (original research) dan karya-pengembangan, tinjauan kembali (review) dan ulasan topik khusus dalam bidang biologi. Disediakan pula ruang untuk menguraikan seluk-beluk peralatan laboratorium yang spesifik dan dipakai secara umum, standard dan secara internasional. Juga uraian tentang metode-metode berstandar baku dalam bidang biologi, baik laboratorium, lapangan maupun pengolahan koleksi biodiversitas. Kesempatan menulis terbuka untuk umum meliputi para peneliti lembaga riset, pengajar perguruan tinggi maupun pekarya-tesis sarjana semua strata. Makalah harus dipersiapkan dengan berpedoman pada ketentuan-ketentuan penulisan yang tercantum dalam setiap nomor.

Diterbitkan 3 kali dalam setahun yakni bulan April, Agustus dan Desember. Setiap volume terdiri dari 6 nomor.

### **Surat Keputusan Ketua LIPI**

Nomor: 1326/E/2000, Tanggal 9 Juni 2000

### **Dewan Pengurus**

#### **Pemimpin Redaksi**

B Paul Naiola

#### **Anggota Redaksi**

Andria Agusta, Dwi Astuti, Hari Sutrisno, Iwan Saskiawan

Kusumadewi Sri Yulita, Marlina Ardiyani, Tukirin Partomihardjo

#### **Desain dan Komputerisasi**

Muhamad Ruslan, Yosman

#### **Sekretaris Redaksi/Korespondensi Umum**

(berlangganan, surat-menyerat dan kearsipan)

Enok, Ruswenti, Budiarjo

Pusat Penelitian Biologi—LIPI

Kompleks Cibinong Science Centre (CSC-LIPI)

Jln Raya Jakarta-Bogor Km 46,

Cibinong 16911, Bogor - Indonesia

Telepon (021) 8765066 - 8765067

Faksimili (021) 8765059

e-mail: berita.biologi@mail.lipi.go.id

ksama\_p2biologi@yahoo.com

herbogor@indo.net.id

Keterangan gambar cover depan: *Aluryang dipercaya sebagai pathway sintesa kimia asam oktadeka-8,10,12-triunoat, yang memiliki aktivitas antiproliferasi terhadap empat jenis galur sel kanker manusia, sesuai makalah di halaman 343 - H Winarno - Center for the Application of Isotopes and Radiation Technology - Badan Tenaga Atom Nasional.*



# Berita Biologi

Jurnal Ilmu-ilmu Hayati

**ISSN 0126-1754**

Volume 9, Nomor 4, April 2009

Terakreditasi A  
SK Kepala LIPI  
Nomor 14/Akred-LIPI/P2MBI/9/2006

**Diterbitkan oleh  
Pusat Penelitian Bioiogi - LIPI**

## Ketentuan-ketentuan untuk Penulisan dalam Jurnal Berita Biologi

1. Karangan ilmiah asli, *hasil penelitian* dan belum pernah diterbitkan atau tidak sedang dikirim ke media lain. Makalah yang sedang dalam proses penilaian dan penyuntingan, tidak diperkenankan untuk ditarik kembali, sebelum ada keputusan resmi dari Dewan Redaksi.
  2. Bahasa Indonesia. Bahasa Inggris dan asing lainnya, dipertimbangkan.
  3. Masalah yang diliput, diharapkan aspek "baru" dalam bidang-bidang
    - Biologi dasar (*pure biology*), meliputi turunan-turunannya (mikrobiologi, fisiologi, ekologi, genetika, morfologi, sistematik/ taksonomi dsbnya).
    - Ilmu serumpun dengan biologi: pertanian, kehutanan, peternakan, perikanan air tawar dan biologi kelautan, agrobiologi, limnologi, agrobioklimatologi, kesehatan, kimia, lingkungan, agroforestri.
    - Aspek/pendekatan *biologi* harus tampak jelas.
  4. Deskripsi masalah: harus jelas adanya tantangan ilmiah (*scientific challenge*).
  5. Metode pendekatan masalah: standar, sesuai bidang masing-masing.
  6. Hasil: hasil temuan harus jelas dan terarah.
  7. Kerangka karangan: standar.
- Abstrak* dalam bahasa Inggris, maksimum 200 kata, spasi tunggal, isi singkat, padat yang pada dasarnya menjelaskan masalah dan hasil temuan. Kata kunci 5-7 buah. *Hasil dipisahkan dari Pembahasan.*
8. Pola penulisan makalah: spasi ganda (kecuali abstrak), pada kertas berukuran A4 (70 gram), maksimum 15 halaman termasuk gambar/foto. Gambar dan foto harus bermutu tinggi; penomoran gambar dipisahkan dari foto. Jika gambar manual tidak dapat dihindari, harus dibuat pada kertas kalkir dengan tinta cina, berukuran kartu pos. Pencantuman Lampiran seperlunya.
  9. Cara penulisan sumber pustaka: tuliskan nama jurnal, buku, prosiding atau sumber lainnya secara lengkap. Nama inisial pengarang(-pengarang) tidak perlu diberi tanda titik pemisah.
    - a. Jurnal
 

**Premachandra GS, H Saneko, K Fujita and S Ogata. 1992.** Leaf water relations, osmotic adjustment, cell membrane stability, epicuticular wax load and growth as affected by increasing water deficits in sorghum. *Journal of Experimental Botany* 43, 1559-1576.
    - b. Buku
 

**Kramer PJ. 1983.** *Plant Water Relationship*, 76. Academic, New York.
    - c. Prosiding atau hasil Simposium/Seminar/Lokakarya dan sebagainya:
 

**Hamzah MS dan SA Yusuf. 1995.** Pengamatan beberapa aspek biologi sotong buluh (*Sepioteuthis lessoniana*) di sekitar perairan pantai Wokam bagian barat, Kepulauan Aru, Maluku Tenggara. *Prosiding Seminar Nasional Biologi XI*, Ujung Pandang 20-21 Juli 1993. M Hasan, A Mattimu, JG Nelwan dan M Litaay (Penyunting), 769-777. Perhimpunan Biologi Indonesia.
    - d. Makalah sebagai bagian dari buku
 

**Leegood RC and DA Walker. 1993.** Chloroplast and Protoplast. In: DO Hall, JMO Scurlock, HR Bohlar Nordenkampf, RC Leegood and SP Long (Eds.). *Photosynthesis and Production in a Changing Environment*, 268-282. Champman and Hall. London.
  10. Kirimkan 2 (dua) eksemplar makalah ke Redaksi (alamat pada cover depan-dalam) yang ditulis dengan program Microsoft Word 2000 ke atas. Satu eksemplar tanpa nama dan alamat penulis (-penulis)nya. Sertakan juga copy file dalam CD (bukan disket), untuk kebutuhan Referee/Mitra bestari. Kirimkan juga filenya melalui alamat elektronik (e-mail) resmi Berita Biologi: berita.biologi@mail.lipi.go.id dan di-Cc-kan kepada: ksama\_p2biologi@yahoo.com, herbogor@indo.net.id
  11. Sertakan alamat Penulis (termasuk elektronik) yang jelas, juga meliputi nomor telepon (termasuk HP) yang dengan mudah dan cepat dihubungi.

## Anggota Referee / Mitra Bestari

### Mikrobiologi

Dr Bambang Sunarko (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)  
Prof Dr Feliatra (*Universitas Riau*)  
Dr Heddy Julistiono (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)  
Dr I Nengah Sujaya (*Universitas Udayana*)  
Dr. Joko Sulistyo (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)  
Dr Joko Widodo (*Universitas Gajah Mada*)  
Dr Lisdar I Sudirman (*Institut Pertanian Bogor*)  
Dr Ocky Kama Radjasa (*Universitas Diponegoro*)

### Mikologi

Dr Dono Wahyuno (*BB Litbang Tanaman Rempah dan Obat-Deptan*)  
Dr Kartini Kramadibrata (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)

### Genetika

Prof Dr Alex Hartana (*Institut Pertanian Bogor*)  
Dr Warid Ali Qosim (*Universitas Padjadjaran*)  
Dr Yuyu Suryasari Poerba (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)

### Taksonomi

Dr Ary P Keim (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)  
Dr Daisy Wowor (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)  
Prof (Ris) Dr Johanis P Mogea (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)  
Dr Rosichon Ubaidillah (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)

### Biologi Molekuler

Dr Eni Sudarmonowati (*Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI*)  
Dr Endang Gati Lestari (*BB Litbang Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian-Deptan*)  
Dr Hendig Sunarno (*Badan Tenaga Atom Nasional*)  
Dr I Made Sudiana (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)  
Dr Nurlina Bermawie (*BB Litbang Tanaman Rempah dan Obat-Deptan*)  
Dr Yusnita Said (*Universitas Lampung*)

### Bioteknologi

Dr Andi Utama (*Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI*)  
Dr Nyoman Mantik Astawa (*Universitas Udayana*)

### Veteriner

Prof Dr Fadjar Satrija (*FKH-IPB*)

### Biologi Peternakan

Prof (Ris) Dr Subandryo (*Pusat Penelitian Ternak-Deptan*)

### Ekologi

Dr Didik Widyatmoko (*Pusat Konservasi Tumbuhan-LIPI*)  
Dr Dewi Malia Prawiradilaga (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)  
Dr Frans Wospakrik (*Universitas Papua*)  
Dr Herman Daryono (*Pusat Penelitian Hutan-Dephut*)  
Dr Istomo (*Institut Pertanian Bogor*)  
Dr Michael L Riwu Kaho (*Universitas Nusa Cendana*)  
Dr Sih Kahono (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)

### Biokimia

Prof Dr Adek Zamrud Adnan (*Universitas Andalas*)  
Dr Deasy Natalia (*Institut Teknologi Bandung*)  
Dr Elfahmi (*Institut Teknologi Bandung*)  
Dr Herto Dwi Ariesyadi (*Institut Teknologi Bandung*)  
Dr Tri Murningsih (*Pusat Penelitian Biologi -LIPI*)

### Fisiologi

Prof Dr Bambang Sapto Purwoko (*Institut Pertanian Bogor*)  
Dr Gono Semiadi (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)  
Dr Irawati (*Pusat Konservasi Tumbuhan-LIPI*)  
Dr Nuril Hidayati (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)  
Dr Wartika Rosa Farida (*Pusat Penelitian Biologi-LIPI*)

### Biostatistik

Ir Fahren Bukhari, MSc (*Institut Pertanian Bogor*)

### Biologi Perairan Darat/Limnologi

Dr Cynthia Henny (*Pusat Penelitian Limnologi-LIPI*)  
Dr Fauzan Ali (*Pusat Penelitian Limnologi-LIPI*)  
Dr Rudhy Gustiano (*Balai Riset Perikanan Budidaya Air Tawar-DKP*)

### Biologi Tanah

Dr Rasti Saraswati (*BB Sumberdaya Lahan Pertanian-Deptan*)

### Biodiversitas dan Iklim

Dr Rizaldi Boer (*Institut Pertanian Bogor*)  
Dr Tania June (*Institut Pertanian Bogor*)

### Biologi Kelautan

Prof Dr Chair Rani (*Universitas Hasanuddin*)  
Dr Magdalena Litaay (*Universitas Hasanuddin*)  
Prof (Ris) Dr Ngurah Nyoman Wiadnyana (*Pusat Riset Perikanan Tangkap-DKP*)  
Dr Nyoto Santoso (*Lembaga Pengkajian dan Pengembangan Mangrove*)

Berita Biologi menyampaikan terima kasih  
kepada para Mitra Bestari/Penilai (Referee) nomor ini  
9(4)-April 2009

Prof. Dr. Adek Zamrud Adnan - *Universitas Andalas*

Dr. Ary P Keim - *Pusat Penelitian Biologi-LIPI*

Dr. Chaerani - *BB Litbang Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian*

Dr. Elfahmi - *Institut Teknologi Bandung*

Dr. Heddy Julistiono - *Pusat Penelitian Biologi-LIPI*

Dr. Ingrid S Surono, MSc - *SEAMEO Tropmed RCCN - Universitas Indonesia*

Dr. Irawati - *Pusat Konservasi Tumbuhan-LIPI*

Nyoto Santoso, MSc - *Lembaga Pengkajian dan Pengembangan Mangrove*

Dr. Sih Kahono - *Pusat Penelitian Biologi-LIPI*

Dr. Tjandra Chrismadha - *Pusat Penelitian Limnologi-LIPI*

Dr. Ir. Warid Ali Qosim, MSc. - *Universitas Padjajaran*

Dr. Yusnita Said - *Universitas Lampung*

Referee/Mitra Bestari Undangan

Ir. Heryanto MSc - *Pusat Penelitian Biologi-LIPI*

Drs. Mustarim Siluba - *Pusat Penelitian Biologi-LIPI*(Purnabhakti)

Hari Nugroho, SSi. - *Pusat Penelitian Biologi-LIPI*

## DAFTAR ISI

### MAKALAH HASIL RISET (ORIGINAL PAPERS)

- ANTIPROLIFERATIVE ACTIVITY OF OCTADECA-8,10,12-TRIYNOIC ACID AGAINST HUMAN CANCER CELL LINES  
[Antiproliferasi Asam Oktadeka-8,10,12-trunoat Terhadap Galur Sel Kanker Manusia]  
*Hendig Winarno*.....343
- KEANEKARAGAMAN DAN SEBARAN SERANGGA DI KAWASAN PULAU-PULAU KECIL TAMAN NASIONAL KARIMUN JAWA  
[Diversity and Distribution of Insects in Small Islands of Karimunjawa National Park]  
*Erniwati*.....349
- STRUKTUR DAN KEKAYAAN JENIS TUMBUHAN MANGROVE PASCA-TSUNAMI DI PULAU NIAS  
[Structure and Species richness of Mangroves Plant Post-Tsunami in Nias island]  
*Onrizal dan Cecep Kusmana*.....359
- PENGARUH EKSTRAK AIR DAN ETANOL *Alpinia* spp. TERHADAP AKTIVITAS DAN KAPASITAS FAGOSITOSIS SEL MAKROFAG YANG DIINDUKSI BAKTERI *Staphylococcus epidennidis* SECARA IN-VITRO  
[The Effect of Water and EtOH extracts of *Alpinia* spp. to *in-vitro* Phagocytosis Activity and Capacity Macrophage Cells Induced by *Staphylococcus epidermidis*]  
*Dewi Wulansari, Praptiwi dan Chairul*.....365
- KOMUNITAS CACING TANAH PADA BEBERAPA PENGGUNAAN LAHAN GAMBUT DI KALIMANTAN TENGAH  
[Earthworms Community on Several Land uses of Peat Land in Central Kalimantan]  
*Eni Maftu'ah dan Maulia Aries Susanti*.....371
- KEANEKARAGAMAN FAUNA IKAN EKOSISTEM MANGROVE DI KAWASAN TAMAN NASIONAL UJUNG KULON, PANDEGLANG-BANTEN  
[Biodiversity of Fish Fauna Mangrove Ecosystem at Ujung Kulon National Park, Pandeglang-Banten]  
*Gema Wahyudewantoro*.....379
- (-)-(2R,3S)-DIHIDROKUERSETIN, SUATU PRODUK BIOTRANSFORMASI (-)-EPIKATEKIN OLEH JAMUR ENDOFIT *Diaporthe* sp. E  
[(-)-(2R,3S)-Dihydroquercetin, a Biotransformation Product from (-)-Epicatechin by the Endophytic Fungus *Diaporthe* sp. E]  
*Andria Agusta*.....387
- PENGARUH PENINGKATAN KONSENTRASI AMONIUM TERHADAP PERKEMBANGAN *Meloidogyne javanica* PADA KULTUR AKAR TOMAT  
[Effect of Increasing Ammonium Concentrations on Development of *Meloidogyne javanica* in Tomato Root Culture]  
*Sudirman*.....393
- PERSEBARAN DAN POLA KEPADATAN MOLUSKA DI HUTAN BAKAU  
[Distribution and Pattern of Species Abundance of Mangrove Molluscs]  
*Arie Budiman*.....403

INDUKSI KERAGAMAN SOMAKLONAL DENGAN IRADIASI SINAR GAMMA DAN SELEKSI IN VITRO KALUS PISANG RAJABULU MENGGUNAKAN ASAM FUSARAT, SERTA REGENERASI DAN AKLIMATISASI PLANTLET [Gamma Irradiation for Somaclonal Variation Induction and <i>in vitro</i> Selection Using Fusaric Acid in Pisang Rajabulu calli Along with Regeneration and Plantlet Acclimatization] <i>Endang G Lestari, R Purnamaningsih, I Mariska dan Sri Hutami</i> .....	411
PENGARUH MUTAGEN ETIL METAN SULFONAT (EMS) TERHADAP PERTUMBUHAN KULTUR IN VITRO ILES-ILES ( <i>Amorphophallus muelleri</i> Blume) [Effects of Ethyl Methane Sulphonate {EMS} on Growth of lies-lies ( <i>Amorphophallus muelleri</i> Blume) <i>in vitro</i> Cultures] <i>Yuyu S Poerba, Aryani Leksonowati dan Diyah Martanti</i> .....	419
KANDUNGAN SELENIUM DALAM HERBA TERSELEKSIDI DAERAH VULKANIS DAN AKTIVITAS GLUTATION PEROXIDASE SERTA PENGARUHNYA TERHADAP PENYUSUTAN SEL MODEL <i>Saccharomyces cerevisiae</i> JB3505 [Selenium Content in Selected Herbs from Volcanic Area and its Functional Gluthathione Peroxidase and Cell Shrinkage Effect on <i>Saccharomyces cerevisiae</i> JB3505] <i>Sri Hartin Rahaju</i> .....	427
EKSTRAK DAUN MINDI ( <i>Melia azedarach</i> ) SEBAGAI BIOINSEKTISIDA UNTUK PENGENDALIAN INFENSI <i>Chrysomya bezziana</i> PADA DOMBA [Methanolic Extract of Mindi Leaf ( <i>Melia azedarach</i> ) as a Bioinsecticide for Controlling <i>Chrysomya</i> <i>bezziana</i> Infection in Sheep] <i>Yulvian Sani</i> .....	433
KEANEKARGAMAN FLORA ANGGREK (ORCHIDACEAE) DI Cagar Alam GUNUNG SIMPANG, JAWA BARAT (Floristic Study on the Orchids (Orchidaceae) in Gunung Simpang Nature Reserve, West Java] <i>Diah Sulistiarini</i> .....	447
PALMS DIVERSITY, COMPOSITION, DENSITY AND ITS UTILIZATION IN THE GUNUNG HALIMUN SALAK NATIONAL PARK, WEST JAVA-INDONESIA WITH SPECIAL REFERENCE TO THE KASEPUHAN CIPTAGELAR [Diversitas Palm, Komposisi, Densitas dan Pemanfaatannya di Taman Nasional Gunung Halimun- Salak dengan Referensi Khusus pada Kasepuhan Ciptagelar] <i>Wardah</i> <i>and</i> <i>JP</i> <i>Mogea</i> .....	453

PENGARUH MUTAGEN ETIL METAN SULFONAT (EMS)  
TERHADAP PERTUMBUHAN KULTUR IN VITRO ILES-ILES  
(*Amorphophallus muelleri* Blume)<sup>1</sup>

[Effects of Ethyl Methane Sulphonate {EMS} on Growth of Its-lies  
(*Amorphophallus muelleri* Blume) *in vitro* Cultures]

Yuyu S Poerba<sup>2,3\*</sup>, Aryani Leksonowati dan Diyah Martanti

Pusat Penelitian Biologi - LIPI  
Jl. Raya Jakarta-Bogor Km 46 Cibinong Bogor 16911  
\*e-mail: yyspoerba@yahoo.com

**ABSTRACT**

*Amorphophallus muelleri* Blume (Araceae) is one of 27 *Amorphophallus* species occur wild in Indonesia (Sumatera, Java, Flores and Timor). The species is valued for its glucoman content for use in food industry (heathy diet food), paper industry, pharmacy and cosmetics. The cultivation of *A. muelleri* is hampered by limited genetic quality of seed. The species is triploid ( $2n=3x=39$ ), the seed is developed apomictically, and pollen production is low. The species is only propagated vegetatively. This may explain that the species is difficult to breed conventionally and genetic variability in the existing landraces cultivars is rather limited. Induced mutation using ethyl methan sulfonate is one of techniques to increase genetic variation. The present research is aimed to determine Lethal Dosage (LD) 50% and 75% of EMS and to study effects of EMS on growth of *A. muelleri* *in vitro* cultures for use in induced mutation program. Results of the experiment showed that LD-50 and LD-75 was observed at 0.875% EMS and 0.5% EMS, respectively. Number of shoot, and percentage of rooting culture were decreasing as EMS level concentration increases.

Kata kunci: *Amorphophallus muelleri*, induksi mutasi, kultur jaringan, EMS

**PENDAHULUAN MUTASI**

Iles-iles (*Amorphophallus muelleri* Blume) adalah satu dari 27 species *Amorphophallus* di Indonesia dan dari 170 species yang dikenal di dunia. *A. muelleri* merupakan tanaman sumber karbohidrat alternatif mengandung glukomanan tertinggi diantara species *Amorphophallus* lainnya di Indonesia (Jansen et al., 1996, Sumarwoto, 2004). Sebagian besar iles-iles Indonesia dieksport ke Jepang, yang membutuhkan iles-iles sedikitnya 3000 ton/tahun. Kebutuhan tersebut belum terpenuhi sehingga prospek pengembangan dan peluang ekspor iles-iles ini masih cukup tinggi (Anonimus, 2001). *A. muelleri* secara alami merupakan tanaman tahunan dan memiliki kemampuan beregenerasi melalui organ vegetatif, yaitu umbi atau potongan umbi, bulbil, dan secara generatif yaitu dengan biji. Tanaman ini merupakan tanaman triploid ( $2n=3x=39$ ) dengan kromosom dasar  $x = 13$  (Jansen et al., 1996). Walaupun tanaman ini dapat bereproduksi melalui biji, tetapi biji yang dihasilkan adalah apomiksis, sehingga tanaman ini tidak mengalami rekombinasi genetik. Selain itu tepungsari (pollen)-nya sedikit dan kadang-kadang fertil. Dengan demikian perbaikan genetik tanaman ini tidak efektif dilakukan dengan teknik hibridisasi. Salah satu alternatif dalam

perbaikan genetik tanaman ini, yaitu dengan induksi mutasi pada kultur *in vitro* iles-iles.

Kombinasi pemuliaan mutasi dan kultur *in vitro* (*in vitro* mutagenesis) telah terbukti membuat induksi dan seleksi mutasi somaklonal lebih efektif dan efisien (Maluszynski, 1990; Ahloowalia, 1995). Metoda ini memberikan beberapa keuntungan: (a) bahan tanaman dapat diperbanyak secara cepat untuk mendapatkan populasi yang cukup besar sebelum perlakuan; (b) meningkatnya frekuensi variasi somaklonal, (c) meningkatnya recovery sel-sel yang bermutasi dengan berkurangnya kompetisi somatik akibat dari modifikasi kondisi kultur, khususnya penggunaan zat pengatur tumbuh sitokin dalam media, (d) meningkatnya efisiensi karena mempercepat produksi mutant sebagai akibat dari meningkatnya kecepatan perbanyakan dan jumlah generasi yang lebih besar per unit waktu dan tempat (Ahloowalia, 1995).

Salah satu faktor penentu keberhasilan mutagenesis secara *In vitro* adalah keberhasilan teknik perbanyakan tanaman secara *in vitro*. Imelda et al. (2007; 2008) telah melaporkan keberhasilan perbanyakan iles-iles secara *in vitro*, baik melalui proliferasi tunas yang berasal dari mata tunas bulbil maupun dari petiola, dengan daya multiplikasi yang

tinggi (satu eksplan dapat menghasilkan >20 tunas), sehingga dengan demikian aplikasi mutagen secara *in vitro* pada iles-iles sangat mungkin untuk dilakukan. Karena induksi mutasi merupakan kejadian pada individu sel, sifat acak dari induksi mutasi dapat berakibat munculnya kimera pada tanaman hasil mutasi. Oleh karenanya, penggunaan bahan berupa tunas sebagai jaringan target masih memungkinkan terjadinya kimera yang perlu diatas dengan 4-5 subkultur. Penelitian ini bertujuan untuk menetapkan lethal-dose 50% (LD-50%) dan LD-75% pada *A. muelleri* dan mempelajari respons pertumbuhan kultur *in vitro* *A. muelleri* terhadap Ethyl Median Sulfonate (EMS) pada subkultur pertama setelah perlakuan mutagen. Hasil penelitian ini diharapkan akan bermanfaat sebagai pedoman pada aplikasi EMS secara *in vitro* dalam rangka mutagenesis iles-iles untuk memperluas keragaman genetik dan meningkatkan kualitasnya, khususnya kandungan glukomanan dalam umbi yang meningkat.

## BAHAN DAN METODE

Bahan penelitian yangdigunakan adalah kultur petiola *A. muelleri* yang ditanam dalam media perbanyakan tanaman sesuai dengan protokol yang telah dikembangkan (Imelda et al., 2007). Media perbanyakan tanaman yang digunakan adalah media dasar MS (Murashige dan Skoog, 1962), dengan sukrosa 30 g/l, 100 mg/l myoinositol, 4 mg/l thiamine HCl dan diberi zat pengatur tumbuh sitokinin thidiazuron (TDZ) 0,2 mg/l dan BA 0,5 g/l dalam media padat (gelrite 3 g/l), dengan pH medium sebelum ditambah gelrite 5,7-5,8. Medium disterilkan dalam otoklaf selama 20 menit dengan tekanan 15 psi pada suhu 121°C. Setelah 6 minggu, kultur kemudian diperlakukan dengan berbagai dosis mutagen EMS, sebagai berikut:

1. Percobaan I : konsentrasi EMS (0, 0,5, 1, 2 dan 4) % perendaman selama 60 menit
2. Percobaan II: konsentrasi EMS (0,0,3,0,6,0,9 dan 1,2)% perendaman selama 30 menit
3. Percobaan III: konsentrasi EMS (0, 0,3, 0,6, 0,9 dan 1,2)% perendaman selama 90 menit

Setelah eksplan direndam dalam larutan EMS kemudian dibilas dengan medium MS cair yang mengandung 1 mg/l BAP sebanyak 3 kali untuk menghilangkan sis-sisa EMS, kemudian ditanam dalam medium MS padat yang mengandung 1 mg/l BAP selama 8-10 minggu dan selanjutnya ditransfer ke media MS tanpa zat pengatur tumbuh (MS0). Tiap perlakuan terdiri dari 10 botol (ulangan), tiap botol terdiri dari 3 eksplan. Biak tersebut diinkubasi dalam ruang terang dengan intensitas cahaya sekitar 1000 lux selama 16 jam per hari, suhu ruangan tersebut diatur pada 27°C. Pengamatan dilakukan setiap 4 minggu dengan parameter pengamatan meliputi persentase hidup, jumlah tunas dan tinggi tunas.

## HASIL

### Percobaan I

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi EMS yang digunakan maka persentase hidup semakin kecil, bahkan pada konsentrasi 2% dan 4% tidak ada satupun eksplan yang hidup. Hingga umur dua bulan, kultur *A. muelleri* yang diperlakukan dengan konsentrasi EMS 0,5%, mampu bertahan hidup dan beregenerasi sebanyak 33,33% (Tabel 1, Gambar I), sedangkan pada konsentrasi EMS 1 %, kalus tidak menghasilkan tunas, dan akhirnya mati. Jumlah tunas dan tinggi tunas kultur *A. muelleri* yang bertahan hidup menunjukkan penurunan masing-masing hingga 62,7% dan 84,6% dibandingkan dengan kontrolnya. Semakin tinggi konsentrasi EMS maka semakin rendah kemampuan eksplan untuk bertahan hidup dan beregenerasi. Pada konsentrasi 0,5%, kultur *in vitro* *A. muelleri* yang bertahan hidup hanya 33,33%, sedangkan pada konsentrasi EMS diatas 0,5% semua kultur mengalami kematian. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi yang digunakan terlalu tinggi untuk *A. muelleri*.

Selanjutnya, kulturyang masih bertahan hidup setelah perlakuan EMS (0,5%) disubkultur (S1). Semua kultur SI masih bertahan hidup dan menghasilkan tunas, bahkan jumlah tunas serta tinggi tunas melebihi kontrolnya (Tabel 2).

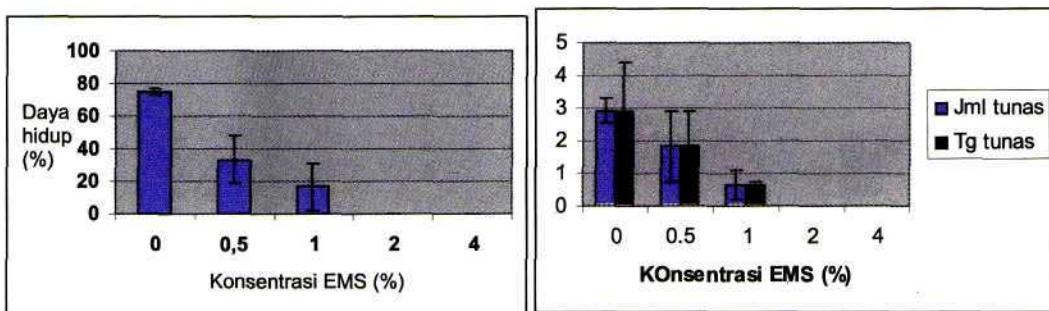
### Percobaan II

Berdasarkan hasil percobaan 1 ternyata konsentrasi EMS di atas 0,5% menyebabkan kematian

**Tabel 1.** Pengaruh etil metan sulfonat (EMS) terhadap kultur *A. muelleri* Blume pada umur 2 bulan setelah perlakuan

Perlakuan	% Hidup	Jumlah tunas	Tinggi tunas (cm)	Keterangan
EO	75 ±2,0	2,92 ±0,38	2,28 ±1,77	Tunas
E0,5	33,33 ±14,43	1,83 ±1,28	1,93 ±1,07	Tunas dan kalus
E1	16,67 ±14,43	0,67 ±0,95	0,07 ±0,06	Kalus
E2	0 ±0	0 ±0	0 ±0	Coklat kehitaman
E4	0 ±0	0 ±0	0 ±0	Coklat keabuan

**Keterangan:** EO = kontrol, E0,5 = perendaman dengan 0,5% EMS, E1 = perendaman dengan 1% EMS; E2 = perendaman dengan 2% EMS, dan E4 = perendaman dengan 4% EMS

**Gambar 1.** Pengaruh etil metan sulfonat (EMS) terhadap kultur *Amorphophallus muelleri* Blume pada umur 2 bulan setelah perlakuan: daya hidup (kiri), jumlah tunas dan tinggi tunas (kanan)**Tabel2.** Hasil subkultur(SI) *A. muelleri* Blume umur 8 minggu

Konsentrasi EMS	Jumlah hidup (%)	Jumlah tunas	Tinggi tunas (cm)	Jumlah akar (%)
0%	100 ±0	3 ±0,58	5,38 ±2,77	87,5 ±25
0,50%	100 ±0	4,33 ±4,07	7,47 ±7,87	83,33 ±28,87

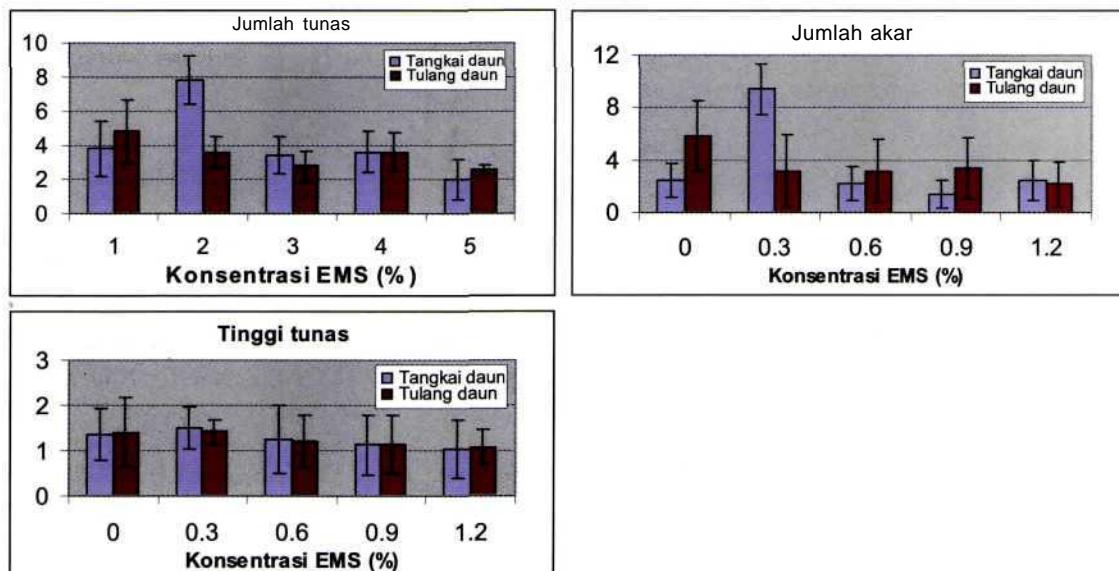
kultur. Pada percobaan II ini, konsentrasi EMS diturunkan dengan waktu perendaman lebih singkat yaitu 30 menit. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa hingga minggu ke-empat eksplan yang diperlakukan dengan EMS membentuk kalus di salah satu atau kedua ujung eksplan, tanpa ada tunas yang terbentuk. Mulai minggu ke-5 hingga minggu ke-6, muncul tonjongan-tonjolan bakal tunas berwarna putih dengan ukuran kira-kira 0,1 cm, setelah 6 minggu perlakuan, semua kultur masih tumbuh dan menghasilkan bakal tunas. Pada umur 2 bulan setelah perlakuan, semua kultur menghasilkan tunas >0,5 cm. Rata-rata tunas (>0,5 cm) terbanyak yaitu 7,8 buah diperoleh pada perlakuan dengan konsentrasi 0,3% EMS dengan eksplan tangkai daun, demikian juga rata-rata jumlah akar terbanyak diperoleh pada perlakuan 0,3% EMS dengan eksplan tangkai daun (Tabel 3). Daya multiplikasi tunas dan pertumbuhan tunas serta jumlah akar pada genotipe

hasil mutasi masih cukup baik, tertinggi pada perlakuan EMS 0,3%, namun kemudian cenderung menurun sejalan dengan meningkatnya konsentrasi EMS (Tabel 3, Gambar 2). Hingga 13 minggu bulan setelah perlakuan, kultur *A. muelleri* masih bertahan hidup semuanya (100%) kecuali pada perlakuan konsentrasi EMS 0,9% dan 1,2%; sebagian terkena kontaminasi sehingga kultur yang masih hidup masing-masing 80% dan 73,33%.

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa daya multiplikasi tunas iles-iles menjadi lebih rendah karena pengaruh perlakuan EMS. Terlihat adanya kecederungan semakin tinggi konsentrasi EMS maka semakin rendah kemampuan eksplan untuk beregenerasi. Hal yang sama juga terjadi pada parameter jumlah tunas dan tinggi tunas serta dan persentase kultur yang menghasilkan akar. Namun demikian daya hidup kultur *in vitro* *A. muelleri* hingga

**Tabel 3.** Pengaruh berbagai konsentrasi etil metan sulfonat terhadap pertumbuhan tunas *Amorphophallus muelleri* Blume 2 bulan setelah perlakuan EMS (SO)

Perlakuan	Tangkai daun			Tulang daun		
	Jumlah tunas (>0,5 cm)	Tinggi tunas (cm)	Jumlah akar	Jumlah tunas	Tinggi tunas (cm)	Jumlah akar
0% EMS	3,8 ±1,63	1,36 ± 0,58	2,4 ±1,29	4,8 ±1,89	1,41±0,78	5,8 ±2,66
0,3% EMS	7,8± 1,42	1,25 ± 0,46	9,4 ± 1,91	3,6 ± 0,94	1,23 ± 0,26	3,2 ± 2,77
0,6% EMS	3,4±1,10	1,14 ± 0,75	2,2 ±1,28	2,8 ± 0,89	1,15 ± 0,57	3,2 ± 2,42
0,9% EMS	3,6 ±1,21	1,03 ±0,66	1,4 ±1,05	3,6 ±1,41	1,42 ±0,64	3,4 ± 2,36
1,2% EMS	2,0 ±1,19	1,51 ±1,64	2,4 ±1,51	2,6 ± 0,24	1,08 ± 0,37	2,2 ±1,68



**Gambar 2.** Pengaruh berbagai konsentrasi etil metan sulfonat terhadap pertumbuhan tunas *Amorphophallus muelleri* Blume 2 bulan setelah perlakuan EMS (SO)

umur 3 bulan masih tinggi (100%). Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi rendah dengan lamanya perlakuan EMS belum dapat mempergarahi secara signifikan kemampuan hidup kultur A. muelleri. Penampilan kultur *in vitro* A. muelleri 13 minggu setelah perlakuan EMS terlihat pada Foto 1.

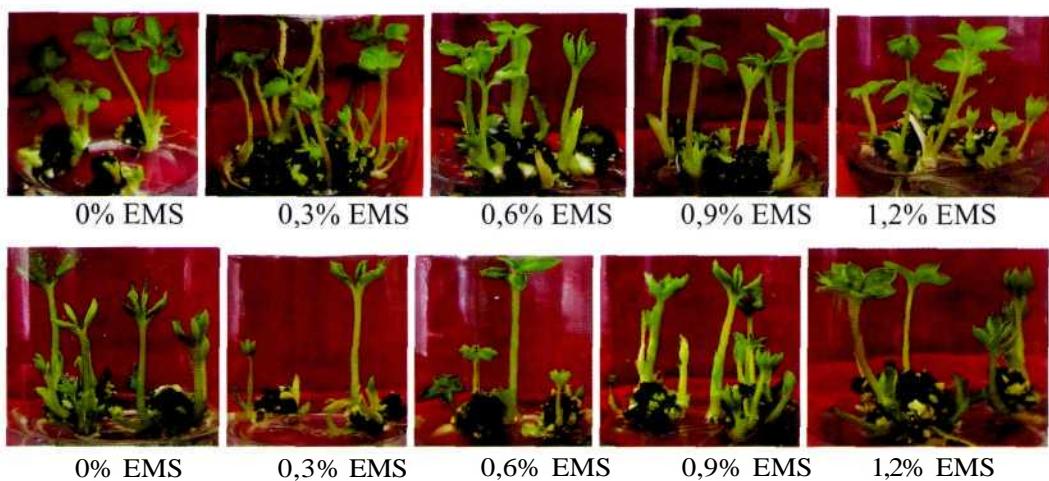
### Percobaan III

Hasil percobaan II menunjukkan bahwa perlakuan EMS dengan berbagai konsentrasi rendah dengan waktu perendaman 30 menit belum mengakibatkan kematian tanaman hingga 50% (LD-50%), sehingga nilai LD-50% pada iles-iles belum dapat ditentukan. Olehkarenanya percobaan dilanjutkan dengan menguji berbagai konsentrasi dengan waktu perendaman yang lebih panjang. Pada percobaan III ini dilakukan dengan konsentrasi EMS yang sama (0, 0,3, 0,6, 0,9, dan 1,2%), tetapi dengan waktu perendaman yang lebih panjang yaitu 1,5 jam.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa persentase hidup tanaman setelah berumur 2 bulan mengalami penurunan hingga 20% (Tabel 4, Gambar 3). Berdasarkan analisis regresi, nilai LD-50 dicapai pada konsentrasi EMS 0,857%, sedangkan LD-75% pada konsentrasi EMS 0,5% (Gambar 3). Pertumbuhan tunas dan akar cenderung menurun sejalan dengan meningkatnya konsentrasi (Tabel 5, Gambar 4).

### PEMBAHASAN

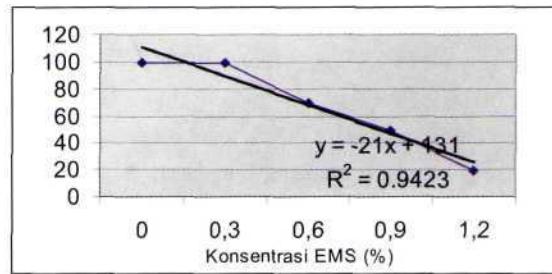
Dari ketiga percobaan diatas terlihat bahwa adanya kecenderungan semakin tinggi konsentrasi mutagen EMS semakin menurun pertumbuhan tunas dan akar serta dan daya multiplikasinya. Peningkatan konsentrasi EMS cenderung menghambat pertumbuhan eksplan iles-iles. Kondisi ini dimungkinkan karena adanya perubahan totipotensi sel yang mengarah pada penurunan kemampuan



**Foto 1.** Kultur tangkai daun *Amorphophallus muelleri* Blume pada berbagai konsentrasi EMS 13 minggu setelah perlakuan, dengan eksplan tulang daun (atas) dan tangkai daun (bawah)

**Tabel 4.** Kemampuan bertahan hidup kultur *A. muelleri* Blume setelah perlakuan etil metan sulfonat 2 bulan setelah kultur

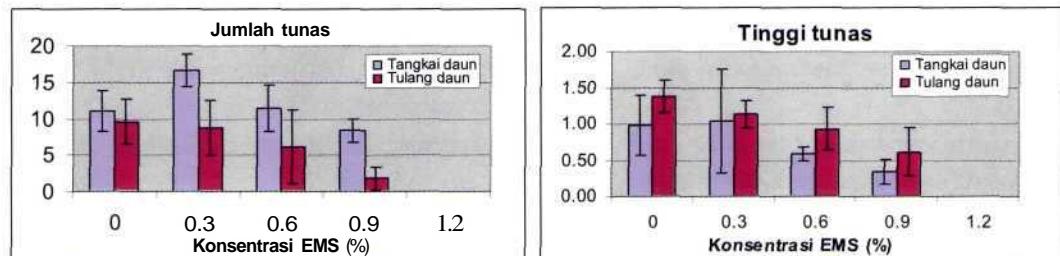
Konsentrasi EMS (%)	Percentase Hidup
0	100
0,3	100
0,6	70
0,9	50
1,2	20



**Gambar 3.** Pengaruh etil metan sulfonat terhadap survival kultur in vitro *A. muelleri* Blume

**Tabel 5.** Respon kultur in vitro *A. muelleri* Blume terhadap berbagai konsentrasi Ethyl Methan Sulfonat

Perlakuan	Tangkai daun			Tulang daun		
	Jumlah tunas (>0,5 cm)	Tinggi tunas (cm)	Jumlah akar	Jumlah tunas	Tinggi tunas (cm)	Jumlah akar
0% EMS	4,20 ± 0,84	0,98 ± 0,42	0	11,0 ± 3,16	1,38±0,22	2,0 ± 0
0,3% EMS	4,40±1,26	1,04 ± 0,72	0	16,6 ± 6,31	1,14 ± 0,19	0,2 ± 0
0,6% EMS	5,40 ± 3,17	0,59 ± 0,10	0	11,4 ± 6,01	0,93 ± 0,30	1,2 ± 0
0,9% EMS	3,33 ± 0,58	0,34 ± 0,17	0	8,4 ± 5,59	0,61 ± 0,33	1,6 ± 0
1,2% EMS	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0	4,6 ± 5,6	0,83 ± 0,43	0



**Gambar 5.** Respon kultur in vitro *A. muelleri* Blume terhadap berbagai konsentrasi Ethyl Methan Sulfonat

sekumpulan sel pada daerah meristem akibat perubahan susunan basa nitrogen khromosom. EMS tergolong

sebagai agen mutasi karena kemampuannya mengalkilasi gugus oksigen dan nitrogen reaktif pada

basa purin dan pirimidin yang dapat menyebabkan perubahan pada struktur basa-basa tersebut yang berakibat terbentuknya rekombinasi pita DNA (Dodson and Masker, 1986,. Adanya rekombinasi pada pita bam DNA tersebut menyebabkan perubahan pada struktur genetik organisme. Di lain pihak Durand (1990) melaporkan bahwa EMS merupakan agen mutasi yang bersifat toksik terhadap kultur *in vitro*. Secara umum nilai peubah daya tumbuh, jumlah tunas, tinggi tunas, dan persentase kultur yang berakar menurun secara linier dengan meningkatnya konsentrasi EMS. Karena itu hingga pada konsentrasi tertentu EMS akan memberi penghambatan total terhadap pertumbuhan kultur *in vitro* iles-iles. Selain itu, EMS banyak dilaporan mengakibatkan pertumbuhan kultur *in vitro* juga menurun secara linier seiring dengan meningkatnya konsentrasi EMS (.Maluszynski, 1990; Masrizal et al., 1991; Susilo et al., 1999).

Hasil penelitian ini menunjukkan terjadinya fenomena menarik berupa efek rangsangan tumbuh oleh EMS. Pada konsentrasi rendah (0,3% pada Percobaan II dengan eksplan tangkai daun), EMS mampu memacu peningkatan nilai jumlah tunas dan jumlah akar. Fenomena ini juga dilaporkan terjadi pada lily, dimana konsentrasi rendah EMS memacu peningkatan jumlah tunas dan karakter pertumbuhan lainnya (Priyono dan Susilo, 2002). Adanya fenomena ini memungkinkan penggunaan EMS pada konsentrasi tertentu sebagai perangsang tumbuh sekaligus dengan fungsinya sebagai agen mutasi. Fenomena serupa terjadi pada penggunaan 2,4D yang mana pada konsentrasi tinggi berfungsi sebagai herbisida yang dapat mematikan sel tanaman, namun pada konsentrasi rendah dapat berfungsi sebagai auksin yang dapat medorong pembelahan sel tanaman (Bhojwani dan Razdan, 1983).

Proses pembentukan dan tunas adventif iles-iles ternyata masih dapat terjadi pada media kultur yang diperlakukan dengan EMS. Proses regenerasi yang terjadi pada media tersebut ternyata sama dengan media kontrol, yaitu media perbanyakan iles-iles (Imelda et al., 2007). Pada media tersebut proses regenerasi terjadi melalui proliferasi tunas, dan perakaran.

Hasil penelitian ini menunjukkan adanya kecenderungan bahwa lama waktu perendaman eksplan dalam EMS juga berpengaruh terhadap peubah-peubah yang diteliti. Pada percobaan III semua konsentrasi EMS yang diuji (Percobaan III) menghasilkan jumlah tunas yang cenderung meningkat dibandingkan kontrolnya. Hal ini diduga karena waktu perendaman yang lebih lama dengan konsentrasi EMS yang relatif rendah (<1,2%) memberi pengaruh nyata yang lebih baik terhadap pertumbuhan tunas kultur *in vitro* iles-iles. Proses difusi senyawa EMS ke dalam jaringan iles-iles diduga memerlukan lebih lama untuk memberikan efek rangsangan tumbuh oleh EMS. Oleh sebab itu diduga efek maksimal dari konsentrasi EMS tersebut terjadi pada iles-iles yang dilakukan perendaman selama minimal 90 menit.

Fenomena menarik lainnya adalah eksplan tulang daun ternyata lebih responsif dalam pertumbuhan tunas dan akar, terutama pada perendaman EMS 90 menit. Hal ini menunjukkan adanya auksin endogen yang diproduksi daun yang membantu dalam mestimulasi pertumbuhan sel. Perubahan morfologinya tampak pada daunnya yaitu ada yang keriting, albino atau belang hijau putih. Demikian juga induksi mutasi dengan EMS pada konsentrasi dibawah 1,2%, kultur tangkai daun *A. muelleri* masih bertahan hidup dan menghasilkan tunas dan bakal tunas serta akar.

## KESIMPULAN DAN SARAN

LD-50% dan LD-75% dicapai masing-masing pada konsentrasi EMS 0,875 dan konsentrasi 0,5%. Induksi mutasi dengan EMS pada kultur *in vitro* *A. muelleri* menyebabkan pertumbuhan kultur terhambat. Jumlah tunas dan jumlah akar serta tinggi tunas cenderung menurun sejalan dengan konsentrasi EMS. Konsentrasi EMS hingga 1,2% memungkinkan kultur *in vitro* *A. muelleri* masih bertahan hidup dan menghasilkan tunas dan bakal tunas serta akar, dan diharapkan mutasi yang terjadi dapat meningkatkan keragaman genetik *A. muelleri*. Untuk mengetahui keragaman genetik hasil induksi mutasi serta pengaruh induksi mutasi terhadap penampilan fenotifik *A. muelleri* di lapangan perlu diteliti lebih lanjut.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini merupakan bagian dari Program Riset Unggulan Kompetitif Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (L1PI), Subprogram "Domestikasi Keanekaragaman Hayati Indonesia" Tahun Anggaran 2006-2008, yang diterima oleh Yuyu Suryasari Poerba sebagai Peneliti Utama.

## DAFTARPUSTAKA

- Ahloowalia B.** 1995. In vitro Mutagenesis for the Improvement of Vegetatively Propagated Plants. In: Induced Mutations and Molecular Techniques for Crop Improvement. 531-541. Proceedings of International Symposium on the Use of Induced Mutations and Molecular Techniques for Crop Improvement. Staff of the IAEA (Editor). Internatioal Atomic Energy Agency. Vienna.
- Anonimus 2001.** Tanaman iles-iles bernilai ckspor tinggi. Suara Merdeka. Kamis. 22 Nopember 2001.
- Bhojwani SS and MK Razdan.** 1983. Plant Tissue Culture Theory and Practice. Elsevier Scientific Publishing. Amsterdam.
- Dodson LA and WE Masker.** 1986. Survival and mutagenesis of bacteriophage T7 damaged by methylmethane sulfonate and ethylmethane sulfonate. Mutation Research 162. 137-144.
- Ijurand JL.** 1990. Mutagenesis: EMS Treatment of Cell Suspensions of *Nicotiana sylvestris*". In: Plant Cell and Tissue Culture: Methods in Molecular Biology. 431-441. JW Pollard and JM Walker (Eds.). Humana Press. Clifton, New Jersey.
- Imelda M. A Wulansari dan Yuyu S. Poerba.** 2007. Mikropropagasi tanaman iles-iles (*Amorphophallus muelleri* Blume). Berita Biologi 8. 271-278.
- Imelda M. A Wulansari dan Yuyu S. Poerba.** 2008. Regenerasi tunas dari kultur tangkai daun iles-iles (*Amorphophallus muellerii* Blume). Biodiversitas 9, 174-177.
- Jansen PCM, C van der Wilk and WLA Hetterscheid.** 1996. *Amorphophallus* Blume ex Decaisne. In: Plant Resource of South East Asia No 9. 46-50. Plant Yielding non-seed carbohydrates. M Flach and F Rumawas (Eds.). Prosea, Bogor, Indonesia.
- Maluszynski, M.** 1990. Induced Mutation an Integrating Tool. In: Gene Manipulation in Plant Improvement. IJ Perry Gustafson (Eds.). Plenum Press. New York and London.
- Masrizal R, I. Simonson and PS Baenziger.** 1991. Response of different wheat tissue to increasing doses of Ethylmethaneulfonate. Plant Cell Tissue and Organ Culture 26. 141-146.
- Murashige T and F Skoog.** 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiology Plantarum 5, 473-497.
- Priyono dan AW Susilo.** 2002. Respons regenerasi in vitro eksplant sisik mikro kerk lily (*Lilium longiflorum*) terhadap ethyl methane sulfonate (EMS). Jurnal Ilmu Dasar 3(2). 74-79.
- Sumarwoto.** 2004. Beberapa Aspek Agronomi Iles-iles (*Amorphophallus muelleri* Blume). Disertasi Doktor. Sekolah Pasca Sarjana. Institut Pertanian Bogor.
- Susilo AW, SK IHamno, S Purbaningsih and S Mawardi.** 1999. Mutagenesis banana shoot tip by using ethylmethanesulfonate. Proceeding of the 11<sup>th</sup> Australian Plant Breeding Conference. Adelaide, 19-23 April 1999).